

# Influência do fármaco Ezetimibe na viabilidade de protozoários de *Echinococcus granulosus* em cultivo *in vitro*

Autora: Andressa Dias Leão Orientador: Arnaldo Zaha

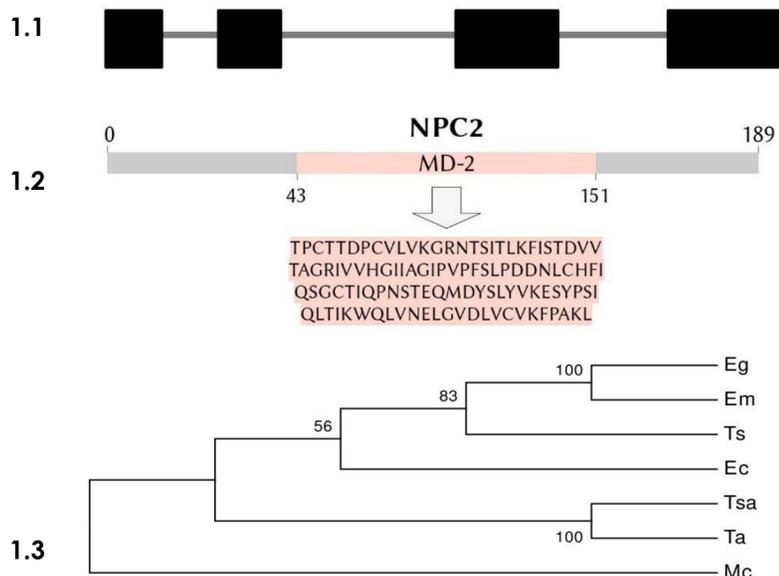
## Introdução

O gênero *Echinococcus* engloba os helmintos classificados como endoparasitas obrigatórios, os agentes causadores da hidatidose, zoonose causada pelo cisto hidático (estágio larval do parasito), doença considerada um problema de saúde pública e da pecuária no Brasil. Apesar de apresentarem vias metabólicas reduzidas, genes que codificam proteínas responsáveis pela absorção dos nutrientes estão presentes no parasito. O colesterol, especificamente, poderia ser transportado por duas proteínas: Niemann Pick C1 (NPC1) e Niemann Pick C2 (NPC2). A similaridade identificada entre essas proteínas de *Echinococcus granulosus* face às humanas e sua possível participação na absorção de colesterol, abre caminho para a investigação da ação de medicamentos, como o Ezetimibe, que poderia inibir a absorção do colesterol do hospedeiro, gerando danos ao parasito [1].

## Metodologia

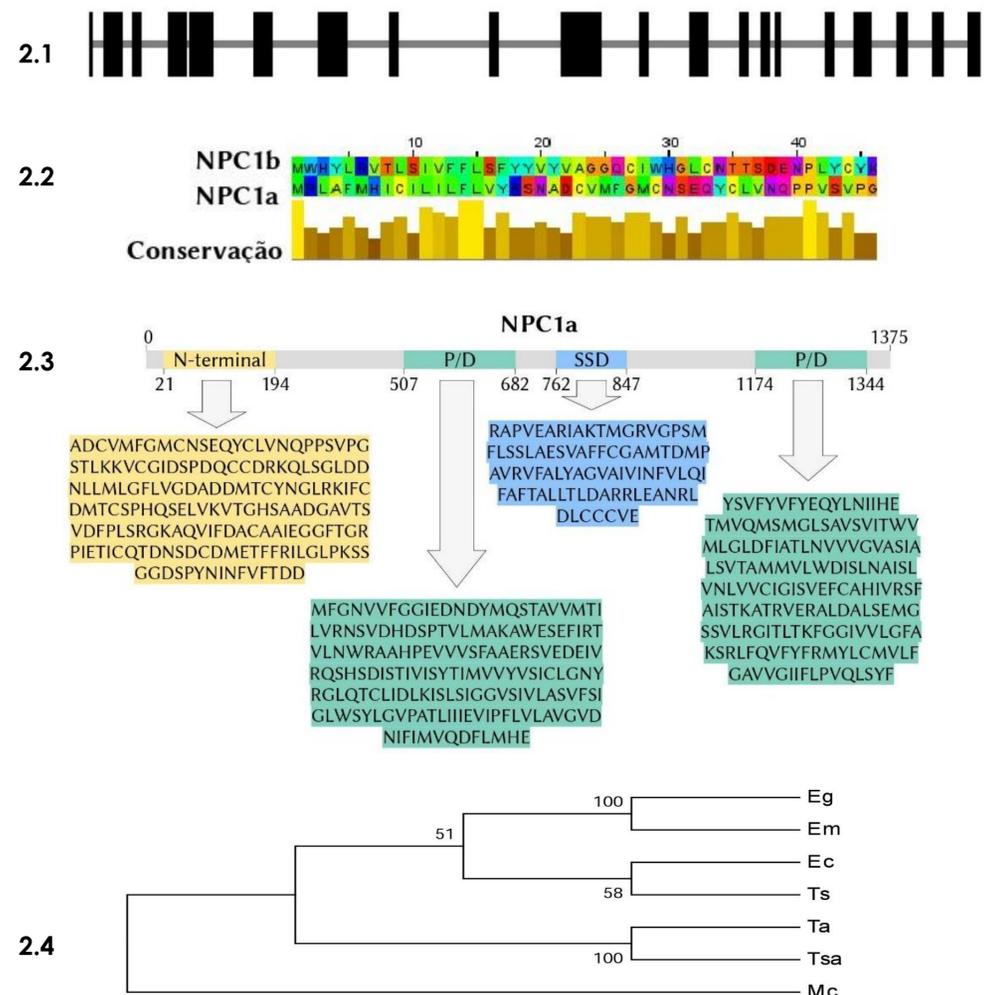
Nessa etapa, o trabalho concentrou-se em análises *in silico*, visando analisar os seguintes aspectos: **(i)** as estruturas dos genes (EgrG\_000682900, EgrG\_001107700 e EgrG\_001107950), **(ii)** as estruturas das proteínas NPC1 e NPC2 e, ainda, **(iii)** a semelhança entre as sequências de aminoácidos (AA) dessas proteínas em relação às sequências das proteínas de outros organismos pertencentes à família *Taeniidae*. Para isso, foram utilizadas as ferramentas do *WormBase Parasite*, para a obtenção de dados relacionados às estruturas, do *Mafft*, para a realização dos alinhamentos, e do *Mega7*, para a construção das árvores filogenéticas.

## Resultados



**1.1.** Estrutura representativa do gene EgrG\_000682900 que codifica a proteína NPC2. **1.2.** Estrutura representativa da proteína NPC2, formada por 189 resíduos de AA. **1.3.** Árvore filogenética construída pelo método *Neighbor-Joining*. A árvore consenso inferida a partir de 1.000 réplicas é utilizada para representar a relação evolutiva dos táxons analisados. A porcentagem de árvores replicadas nas quais os táxons associados agruparam-se no teste *bootstrap* (1.000 réplicas) é mostrada próxima aos ramos.

As distâncias evolutivas foram computadas utilizando o método de correção *Poisson*. A análise envolveu 7 sequências de aminoácidos e todas as posições contendo *gaps* e dados faltantes foram eliminadas. Havia um total de 120 posições no conjunto de dados final.



**2.1.** Estrutura representativa do gene EgrG\_001107700 que codifica a proteína NPC1a. **2.2.** Segmento, com 46 resíduos de AA, do alinhamento realizado (no programa JALVIEW) com as sequências da NPC1a e NPC1b demonstrando a semelhança entre as proteínas. **2.3.** Estrutura representativa da proteína NPC1a, formada por 1375 resíduos de AA. **2.4.** Árvore filogenética construída a partir dos mesmos parâmetros utilizados na confecção da árvore da proteína NPC2, diferindo apenas no número de posições no conjunto de dados final, que foram, no total, 420.

### Informações adicionais:

Éxons, representados como blocos pretos (■);  
Íntrons, representados como linhas cinzas (—);

Os blocos coloridos, representados em **1.2** e **2.2**, indicam os domínios, e suas respectivas posições, das proteínas NPC2 e NPC1a. Logo abaixo, encontram-se representados, na mesma cor, as sequências de AA de cada domínio. **P/D** = *Patched domain* **SSD** = *sterol-sensing domain*.

**Eg** = *Echinococcus granulosus*; **Em** = *Echinococcus multilocularis*; **Ec** = *Echinococcus canadensis*; **Ts** = *Taenia solium*; **Ta** = *Taenia asiatica*; **Tsa** = *Taenia saginata*; **Mc** = *Mesocestoides corti*.

## Conclusão

A partir da análise das sequências de AA das proteínas, observou-se a importante relação entre as estruturas de NPC1 e NPC2 e o transporte e absorção de colesterol no meio intracelular. A proteína NPC1, especificamente, apresenta um domínio SSD, responsável pela interação com o colesterol, e um domínio N-terminal, que atua de forma bidirecional na transferência do colesterol, entregando-o para a NPC2 e recebendo-o [2]. Além disso, foi possível identificar que os genes codificantes dessas proteínas são conservados entre as espécies pertencentes à família *Taeniidae* e gênero *Echinococcus* - o que permite deduzir que os dados obtidos poderiam ser válidos também para as outras espécies da família. O projeto tem como perspectivas dar continuidade às análises comparativas das sequências de NPC1 e NPC2, e realizar experimentos *in vitro* para testar os possíveis efeitos de Ezetimibe sobre protozoários de *E. granulosus*.