UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Trabalho de biologia molecular**

**A síntese proteica elevada na micróglia causa aberrações sinápticas e comportamentais semelhantes ao autismo**

LETÍCIA SANTOS CAVALCANTE, 10758860

MARIANA CAMATA KRABBE, 10884152

SÃO PAULO

2020

**1. INTRODUÇÃO**

O autismo é uma doença que afeta o sistema nervoso e é caracterizada por problemas na comunicação e socialização, além de alguns comportamentos usualmente incomuns e de forma repetida. Se identificado precocemente, geralmente aos 2 anos de idade, seu tratamento possui maior êxito.

         A doença possui diversas variações de sintomas e pode ser classificada em espectros. Alguns fatores de risco incluem: parentes autistas, como irmãos e avós, baixo peso no nascimento, entre outros. A maior parte desses fatores mostrou-se genético. No entanto, sabe-se que é uma doença multifatorial.

         A causa do autismo ainda é muito estudada e complexa. Não existe um consenso a respeito, mas acredita-se que taxas elevadas de tradução de algumas proteínas que possuem ação em sinapses estejam relacionadas com a doença. É possível estudar as bases moleculares e genéticas da doença através de ensaios com genes e alguns marcadores biológicos, mas ainda é necessário muito desenvolvimento científico nesse sentido.

**2. DESCRIÇÃO DO PROBLEMA**

 A desregulação (elevadas taxas de tradução) na síntese de algumas proteínas já foi comprovadamente associada a alguns casos de autismo. Mutações que inativam os genes associados às proteínas PTEN, TSC1, TSC2 e neurofibromatosis tipo 1 têm sido estudadas e mostram uma possível relação com a doença. Um outro fator importante como possível causador da síndrome seria o silenciamento do gene FMR1, que causa a síndrome do cromossomo X frágil.

 Foi realizado um ensaio no qual havia uma elevada tradução microglial. Em estudos com ratos machos e fêmeas com aumento da expressão do gene eIF4E (que está relacionado com proteínas do recrutamento de ribossomos para início da tradução) em astrócitos, não houve modificações comportamentais. No entanto, em estudo semelhante com aumento da expressão do mesmo gene, porém em células da microglia, os resultados mostraram que elevadas taxas de tradução dessas proteínas levavam a quadros envolvendo deficiências comportamentais semelhantes a do autismo em machos.

 Para identificar o motivo dessa deficiência, foram realizados acompanhamentos, e exames mostraram um aumento significativo no tamanho de células da microglia. Isso se deve ao aumento da síntese de algumas proteínas no córtex pré frontal medial, no hipocampo e no striatum. A modificação no tamanho das células nessas regiões leva a alterações funcionais e morfológicas, o que acarreta também em alterações sinápticas significativas. As três regiões afetadas possuem relação com deficiências comportamentais associadas ao autismo.

 Assim, no tópico seguinte, a maioria dos temas da Biologia Molecular que possuem relação com o estudo serão abordados de forma a esclarecer os processos do DNA (e RNA) que levam à formação de proteínas e foram importantes ao serem levados em conta na pesquisa em questão.

**3. FERRAMENTAS E CONTEÚDOS DE BIOLOGIA MOLECULAR NECESSÁRIOS PARA A RESOLUÇÃO DO PROBLEMA**

O produto da transcrição é um pré mRNA, que deverá passar por um processamento em que é adicionado o Cap, a cauda poliA e retirada de íntrons - o splicing. O Cap é adicionado na extremidade 5’ e é composto por uma guanina com um grupamento metil associado; já a cauda poliA, adicionada à extremidade 3’, é composta por algumas centenas de nucleotídeos adenina. Tanto o Cap quanto a cauda poliA possuem a função de proteger o mRNA de degradação por nucleases e, além disso, auxiliam em seu transporte para o citoplasma para que sejam traduzidos nos ribossomos.

Os ribossomos são compostos por proteínas e rRNA e possuem duas subunidades que se juntam apenas para o processo de tradução. Elas possuem três sítios de ligação: A, P e E. O sítio A é onde ocorre a entrada do aminoacil-tRNA; o sítio P corresponde ao local em que ocorre a formação das ligações peptídicas entre os aminoácidos que formarão a proteína; e o sítio E é onde ocorre a saída do tRNA descarregado. A tradução pode ser subdividida em três fases: iniciação, elongação e terminação.

Os fatores de iniciação eucarióticos são muitos e possuem diversas funções, como: evitar o acoplamento precoce das duas subunidades ribossomais, bem como impedir a ligação prematura de tRNAs aos sítios de ligação dos ribossomos. Para que a tradução seja iniciada, deverá haver uma ligação entre o Cap e o fator de iniciação de tradução eIF4E; esse fator irá interagir com a proteína de andaime eIF4E, essencial para que o complexo de iniciação de tradução seja formado junto aos ribossomos. A proteína eIF4E faz parte do complexo eIF4F de iniciação de tradução eucarióticos.

O início da tradução é marcado pela ligação do mRNA e tRNA ao ribossomo. O códon de início é o AUG, correspondente à metionina. As duas subunidades ribossomais se encaixam sobre o mRNA e deslizam sobre ele, adicionando um aminoácido por vez - o ribossomo move-se um códon na direção 3’, fazendo com que o tRNA que estava no sítio A passe para o P, e o que estava no P passe para o E; dessa forma, o sítio de ligação A torna-se disponível para a entrada de um novo tRNA. Os códons de parada são UGA, UAA e UAG. Quando a proteína está concluída, as duas subunidades se separam.

A mensagem contida nos mRNA será lida pelos aminoacil-tRNAs, em trincas, a partir do pareamento códon e anti-códon. Os RNA transportadores possuem forma de um trevo; a extremidade 5’ é fosforilada e a extremidade 3’ é formada pela sequência CCA, que atua no reconhecimento de enzimas. O anti-códon está presente em tRNAs - três nucleotídeos - e, durante a síntese protéica, pareia com um códon complementar presente no mRNA.

As enzimas aminoacil tRNA sintetases são responsáveis pelo acoplamento correto entre nucleotídeos e tRNA, formando um aminoacil-tRNA. Dessa forma, é o tRNA quem vai transportar aminoácidos até o ribossomo.

As proteínas presentes nas células podem ter sua expressão regulada através da transcrição e/ou tradução. O início da transcrição eucariótica necessita de que a RNA polimerase seja ativada por proteínas acopladas ao DNA a milhares de pb de distância em sítios de ligação denominados enhancers. Como a transcrição não pode ser iniciada sem um fator de ativação ligado ao sítio enhancer - além dos fatores de transcrição basais -, diz-se que a frequência de início de transcrição é modulada por essas proteínas. Além disso, a expressão gênica também é regulada por proteínas ativadoras e repressoras e grau de condensação da cromatina.

Para que o DNA seja transcrito, é necessário que esteja exposto; para isso, as histonas presentes nos nucleossomos devem “afrouxar”; esse processo é denominado “remodelamento da cromatina”. Assim, a regulação gênica é feita aumentando ou diminuindo a afinidade das histonas pelo DNA a partir de metilação, fosforilação ou acetilação. As histonas são proteínas com carga positiva, tendo afinidade pela molécula de DNA que possui carga negativa. Dessa forma, os processos de acetilação e fosforilação favorecem a transcrição uma vez que diminuem a carga líquída positiva dessas proteínas, e, portanto, diminuem a afinidade histona-DNA. O contrário também acontece: a metilação do DNA aumenta a carga líquida positiva e, assim, aumenta a afinidade.

**4. REFERÊNCIAS**

Xu, Z., Kim, G.H., Tan, J. et al. **Elevated protein synthesis in microglia causes autism-like synaptic and behavioral aberrations**. Nat Commun 11, 1797 (2020). Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41467-020-15530-3. Acesso em 29 de maio de 2020.