ANÁLISE IN SILICO DE POLIMORFISMO NO GENE *NOTCH3* E SUA POSSÍVEL ASSOCIAÇÃO À IMUNODEPRESSÃO PÓS-ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL

Giovanna Siqueira de Queiroz Vieira[1], Regiane Priscila Ratti[2] e Larissa Teodoro Rabi[2]

[1]Centro Nossa Senhora do Patrocínio, Itu, Brasil (giovannavieira5611@gmail.com)
[2]Centro Nossa Senhora do Patrocínio, Itu, Brasil

Resumo: O estudo avaliou variantes genéticas do gene *NOTCH3* associadas ao acidente vascular cerebral (AVC) e ao CADASIL por meio de análises in silico. Foram identificadas variantes potencialmente deletérias com impacto sobre a estabilidade estrutural da proteína NOTCH3. Os resultados sugerem possível relação entre determinados polimorfismos e mecanismos fisiopatológicos envolvidos no AVC, reforçando a relevância das ferramentas bioinformáticas na predição funcional de variantes genéticas.

Palavras-chave: acidente vascular cerebral; CADASIL; NOTCH3; polimorfismos genéticos, análise in silico.

INTRODUÇÃO

O acidente vascular cerebral (AVC) é uma condição neurológica aguda caracterizada pela interrupção súbita do fluxo sanguíneo cerebral, podendo ocorrer por oclusão arterial (AVC isquêmico) ou ruptura vascular (AVC hemorrágico), resultando em morte neuronal e comprometimento funcional. Em 2019, aproximadamente 12,2 milhões de novos casos de AVC foram registrados mundialmente, evidenciando sua elevada relevância clínica e epidemiológica (GBD 2019 Stroke Collaborators, 2021).

A fisiopatologia do AVC envolve excitotoxicidade, estresse oxidativo, neuroinflamação e disfunção mitocondrial, processos que contribuem para o agravamento do dano cerebral. Além disso, o AVC pode induzir imunodepressão secundária, aumentando a susceptibilidade a infecções e piorando o prognóstico clínico (Iadecola et al., 2020; Parmar et al., 2016).

Entre as doenças genéticas associadas ao AVC, destaca-se a arteriopatia cerebral autossômica dominante com infartos subcorticais e leucoencefalopatia (CADASIL), relacionada a mutações no gene *NOTCH3*. Esse gene codifica um receptor transmembrana essencial para a manutenção das células musculares lisas vasculares e da integridade dos pequenos vasos cerebrais (Hosseini-Alghaderi & Baron, 2020).

Mutações em NOTCH3, principalmente aquelas relacionadas à alteração de resíduos de cisteína nos domínios semelhantes ao fator de crescimento epidérmico (EGFr), favorecem agregação proteica, disfunção vascular e predisposição ao desenvolvimento de AVC e comprometimento neurológico (Lee et al., 2023; Gravesteijn et al., 2022).

Dessa forma, análises in silico tornam-se ferramentas importantes para avaliar o impacto estrutural e funcional dessas variantes genéticas. Assim, este estudo tem como objetivo investigar alterações morfofuncionais e de estabilidade proteica decorrentes de polimorfismos em NOTCH3 e suas possíveis associações com AVC, CADASIL e imunodepressão pós-AVC.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo caracteriza-se como uma pesquisa descritiva, exploratória e de abordagem in silico, com o objetivo de investigar polimorfismos genéticos no gene *NOTCH3* e seus possíveis impactos estruturais e funcionais relacionados ao acidente vascular cerebral (AVC), à CADASIL e à imunodepressão pós-AVC.

As variantes genéticas associadas ao gene *NOTCH3* foram obtidas nas bases de dados dbSNP e UniProt, utilizando informações referentes à proteína NOTCH3 humana (Q9UM47). Inicialmente, foram identificadas 24.863 variantes, sendo posteriormente aplicado um critério de frequência alélica mínima (MAF) para seleção das variantes de maior relevância populacional. Após refinamento dos dados, foram priorizadas variantes do tipo missense para as análises subsequentes.

A análise funcional das variantes foi realizada utilizando a plataforma PredictSNP e os algoritmos SIFT, PolyPhen-1, PolyPhen-2, MAPP, PhD-SNP, SNAP, PANTHER e SNPAnalyzer. A estabilidade proteica foi avaliada por meio das ferramentas iStable,

MuPRO e I-Mutant. As análises estruturais e de dinâmica molecular foram conduzidas na plataforma DynaMut 2.0, utilizando como referência estrutural a proteína NOTCH3 disponibilizada pelo AlphaFold. Os dados obtidos foram organizados em planilhas digitais e interpretados com base na literatura científica consultada nas bases PubMed, Scielo e Biblioteca Virtual em Saúde.

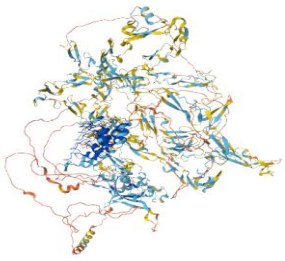
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio da base de dados dbSNP, foram identificadas inicialmente 24.863 variantes associadas ao gene *NOTCH3*. Após aplicação de critérios de frequência alélica mínima (MAF) e refinamento funcional, aproximadamente 290 variantes foram selecionadas, das quais 134 variantes missense foram consideradas viáveis para análises bioinformáticas mais aprofundadas.

As análises funcionais realizadas na plataforma PredictSNP identificaram 16 variantes classificadas como deletérias em mais de 50% das ferramentas utilizadas. Entre elas, destacou-se o polimorfismo rs1548555 (A>C/A>G), considerado potencialmente prejudicial em aproximadamente 83% das análises preditivas, sugerindo possível associação com alterações estruturais e funcionais relacionadas ao CADASIL, ao AVC e à imunodepressão pós-AVC.

As análises de estabilidade proteica realizadas pela plataforma MuPRO demonstraram tendência de redução da estabilidade molecular da proteína NOTCH3 em todas as variantes avaliadas. As variantes A1020P, A2223G, A1020S e A1020T apresentaram maior potencial desestabilizador. Resultados semelhantes foram observados na plataforma DynaMut 2.0, na qual todas as variantes analisadas apresentaram valores negativos de ΔΔG, indicando efeito desestabilizante sobre a conformação estrutural da proteína.

Os resultados sugerem que variantes específicas no gene *NOTCH3* podem influenciar significativamente a estabilidade conformacional e a dinâmica molecular da proteína, contribuindo potencialmente para mecanismos fisiopatológicos associados ao CADASIL e ao AVC. Além disso, os achados reforçam a importância das ferramentas bioinformáticas na triagem e priorização de variantes potencialmente patogênicas para futuras análises experimentais.



Fonte: AlphaFold

Figura 1. Proteína NOTCH3.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicam que variantes presentes no gene *NOTCH3* podem promover alterações estruturais e redução da estabilidade proteica, potencialmente relacionadas aos mecanismos fisiopatológicos do CADASIL e do acidente vascular cerebral (AVC). As análises in silico demonstraram relevância na identificação e priorização de variantes com possível impacto funcional, destacando a importância das ferramentas bioinformáticas como suporte para futuras investigações experimentais e clínicas envolvendo o gene *NOTCH3*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio (CEUNSP-Itu), especialmente ao Programa Institucional de Pesquisa do CEUNSP (PROPEX).

REFERÊNCIAS

GBD 2019 Stroke Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990-2019. *Lancet Neurology*, v. 20, n. 10, p. 795-820, 2021. DOI: 10.1016/S1474-4422(21)00252-0.

GRAVESTEIJN, G.; HACK, R. J.; MULDER, A. A., et al. NOTCH3 variant position is associated with NOTCH3 aggregation load in CADASIL vasculature. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 2022.

HOSSEINI-ALGHADERI, S.; BARON, M. Notch3 in development, health and disease. *Biomolecules*, v. 10, n. 3, p. 485, 23 mar. 2020.

IADECOLA, C.; BUCKWALTER, M. S.; ANRATHER, J. Immune responses to stroke: mechanisms, modulation, and therapeutic potential. *The Journal of Clinical Investigation*, 2020.

LEE, S. J.; et al. Structural changes in NOTCH3 induced by CADASIL mutations: Role of cysteine and non-cysteine alterations. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 299, n. 6, 2023.

PARMAR, K. N.; et al. A imunidade pós-AVC: da inflamação à infecção. Lisboa: Universidade de Lisboa, 2016. Trabalho de Mestrado Integrado em Medicina.