



Ataque do Radical Livre Hidroxila ao DNA Utilizando Simulações de Dinâmica Molecular

Palavras-Chave: [DNA], [DFT], [Abstração de hidrogênio]

Autores:

João Guilherme Rivera Santiago [IFGW]

Prof. Dr. Mario Bernal (orientador) [IFGW]

INTRODUÇÃO:

Desde a descoberta dos Raios X por Wilhem Roentgen em 1895, rapidamente iniciou o uso da radiação ionizante como utilidade clínica para tratamento de câncer por exemplo. Entretanto, mesmo com a radioterapia do câncer sendo usada há mais de um século, um total entendimento dos mecanismos envolvidos ao dano induzido no DNA ainda não foi alcançado, principalmente quando tratamos de partículas carregadas pesadas, como prótons.

Ao tratar um feixe de radiação ionizante, o dano ao DNA poderá se dar de duas formas. O dano direto ocorre com o impacto do próton e dos seus elétrons secundários no DNA, o mecanismo físico. Já o dano indireto está associado ao mecanismo químico, que se dá principalmente, pelos radicais livres criados pela radiólise da água presente no meio, induzida pela radiação, e que podem potencialmente causar danos.

Vale ressaltar a grande importância que esses radicais livres podem apresentar para entendimento do dano no DNA em tecidos biológicos. Algo que fica claro quando lembramos que cerca de 70% do nosso corpo é composto por água, mostrando que será um processo relativamente recorrente, principalmente no caso de radiações de baixo LET, onde as ionizações no meio ocorrem de forma mais dispersa e uniforme, podendo os danos indiretos representar até 65% dos danos ao DNA. Em especial, podemos destacar o radical OH^\bullet , um dos principais agentes, pela sua alta reatividade.

Dessa forma, o presente trabalho procurou o estudar o dano indireto causado por radicais hidroxila livres ao interagir com o DNA. Estes tendem a realizar uma abstração de hidrogênio, que desencadeia uma série de reações capazes de levar a dissociação dos pares de base que compõe o DNA, constituindo uma quebra na fita. Para tal estudo foi utilizado a dinâmica molecular quântica da TD-DFT, a partir de simulações com o código Octopus.

METODOLOGIA:

A base dessa pesquisa foi a realização de simulações ab initio, utilizando Time Dependent-Density Functional (TD-DFT), que permite reproduzir a dinâmica de um sistema eletrônico complexo. Na DFT é considerado um sistema de elétrons não interagentes, mais calculado o potencial efetivo em que cada elétron esta sujeito de tal forma que a densidade eletrônica do sistema, imite a que teríamos no sistema interagente real. Dessa forma, a partir da resolução do sistema auto consistente de equações é encontrado a densidade e potencial de Kohn-Sham, que

apesar de não levarem às funções de onda físicas que resolvem exatamente a equação Schrödinger, possibilitam uma ótima aproximação, com o custo computacional bem menor, dado o desacoplamento das equações.

Dessa forma, o objetivo e metodologia do trabalho foi, a partir do Octopus com a TD-DFT, realizando primeiro o cálculo do ground state do sistema, e então da dinâmica temporal, reproduzir uma abstração de hidrogênio em uma molécula de DNA. Nosso sistema foi composto por um único par de nucleotídeos, constituído de 71 átomos, de forma que o custo computacional das simulações não fosse proibitivo. Como podemos ver na imagem abaixo, no centro se encontram as bases nitrogenadas, no caso guanina e citosina, que são ligadas por três ligações de hidrogênio. Mais nas extremidades vemos tanto pentose associada a cada base, a desoxirribose, como o grupamento fosfato, cujo os oxigênios fariam a ligação fosfodiéster com possíveis outros pares de base, que foram mantidos fixos, de forma simular uma certa resistência de movimento nesse sentido.

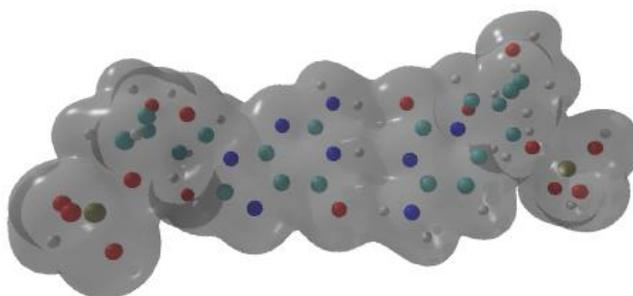


Figura 1 – Configuração do sistema com DNA utilizado.

Vale notar que até a abordagem desse sistema, uma série de outros mais simples foram estudados primeiramente, como será destacado os principais na próxima sessão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

De forma a entender os mecanismos associados na abstração de hidrogênio, partimos de um caso simples, composto pelo radical OH^\bullet , e o hidrogênio, com objetivo de procurar entender como ocorreria a interação entre eles. Nesse sistema colocamos a hidroxila e o hidrogênio sobre um mesmo eixo, e procuramos analisar a força inicial no hidrogênio nessa direção em função da distância de separação. Vale notar que a força nas outras componentes, ao menos no instante inicial é desprezível.

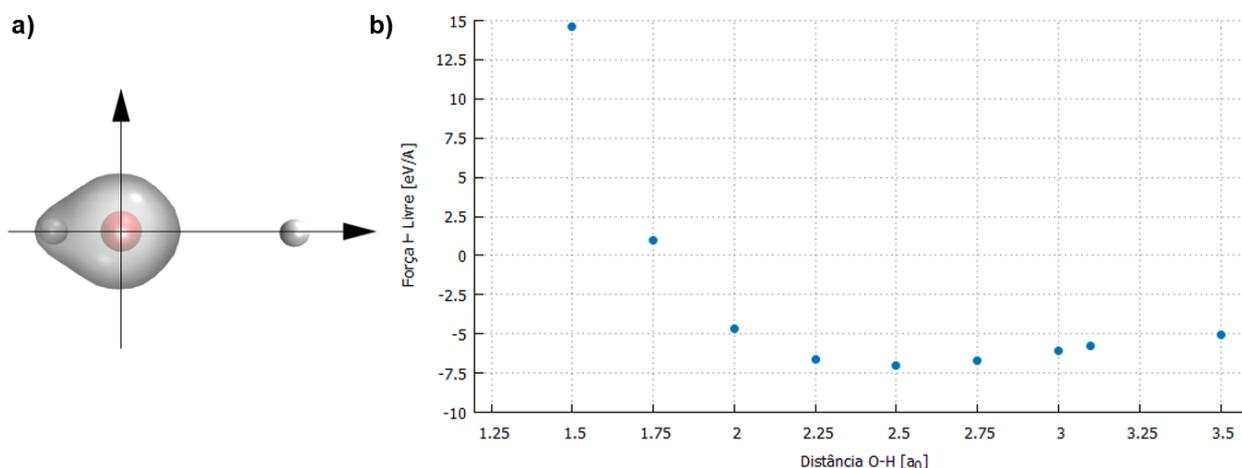


Figura 2 – a) Sistema $\text{OH}^\bullet - \text{H}$ e a orientação do sistema de coordenadas; b) Força inicial no hidrogênio, em função da distância até o oxigênio.

Pela forma que escolhemos o sistema de coordenadas, uma força de módulo negativo nesse eixo representa uma força atrativa no hidrogênio, enquanto uma força de módulo positivo, seria repulsiva. Assim, se olharmos o gráfico (figura 2-b), notamos uma forma que se assemelha ao comportamento de um potencial de Lennard-Jones, como esperaríamos de um sistema de duas moléculas. Em distâncias curtas vemos uma força repulsiva, que rapidamente diverge a mais infinito a medida que aproximamos as moléculas. Por outro lado, a medida que aumentamos a distância, notamos uma força atrativa, que cresce em módulo até um máximo, no caso em $2.5 a_0$, e então decai, se mantendo ainda negativa, mas tendendo a zero em distâncias muito longas.

Foram realizadas simulações da dinâmica desse sistema em variadas distâncias. Em especial, de forma a dar uma ideia do comportamento geral, em distâncias onde a força inicial é repulsiva, como em $1.75 a_0$, vimos o hidrogênio sendo repelido para fora do local, e já no caso de uma força atrativa, como em $2.5 a_0$, o hidrogênio foi de fato atraído pela hidroxila e o sistema ficou oscilando, a princípio de forma indefinida, uma vez que não há moléculas vizinhas para transferir energia, nem mecanismos de dexcitação, como fluorescência no Octopus.

Com isso, passamos a abordar o sistema com uma base nitrogenada, no caso a uracila. Apesar do sistema $\text{OH}^\bullet - \text{H}$ nos dar uma boa ideia de como interagem, é importante notar que o comportamento pode não ser exatamente o mesmo agora que temos uma molécula ligada no hidrogênio, principalmente pelo o efeito de muitos corpos. Em nossas simulações de dinâmica, vimos que pode ocorrer de posicionar a molécula de hidroxila há uma distância onde inicialmente há uma força atrativa no hidrogênio em sua direção, mas ele não conseguir vencer a barreira potencial, continuando ligado a molécula e a hidroxila ser repelida pelos demais átomos. Como também, de iniciarmos em uma distância onde a força é a princípio repulsiva, mas como o hidrogênio agora está ligado a uma molécula pesada, não é repelido para fora, e na volta da oscilação da molécula, consiga se ligar a hidroxila.

Nas simulações com a uracila procuramos propiciar ao máximo para que a abstração ocorresse. Alinhamos a molécula de hidroxila, pra que incidisse sobre o mesmo eixo que se encontravam o hidrogênio alvo e o carbono a qual estava ligado, tendo uma velocidade térmica equivalente a 20°C . Dessa forma posicionando a hidroxila a uma distância de $1.5 a_0$ do hidrogênio alvo, onde conseguimos uma boa convergência do sistema, fomos capazes de reproduzir a abstração do hidrogênio.

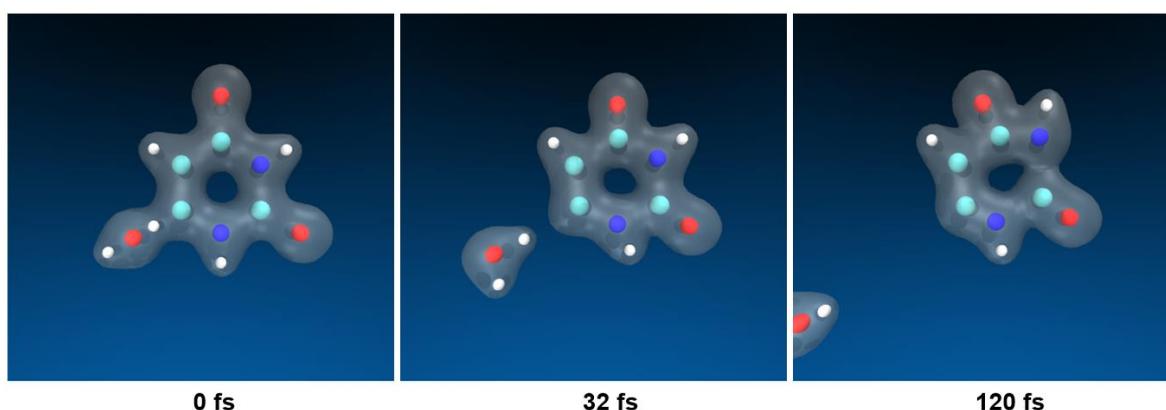


Figura 3 – Dinâmica da abstração na uracila.

Como podemos ver na figura 3, a hidroxila consegue capturar o hidrogênio, formando água que então se afasta, e a molécula de uracila, apesar de ficar relativamente instável não chega a se dissociar até o tempo que acompanhamos, o que está dentro do esperado, visto que as bases nitrogenadas são moléculas relativamente estáveis.

Retomando então, o modelo do sistema com DNA apresentado anteriormente, incidimos a hidroxila sobre um dos hidrogênios do carbono C'2, da desoxirribose associada a guanina, mantendo os parâmetros próximos ao do caso da abstração na uracila citados, como o alinhamento, velocidade térmica equivalente a 20°C para hidroxila, e partindo de uma distância em torno de 1.5 a_0 do alvo. Conseguimos obter assim a abstração no DNA, como é mostrado em alguns frames da dinâmica abaixo:

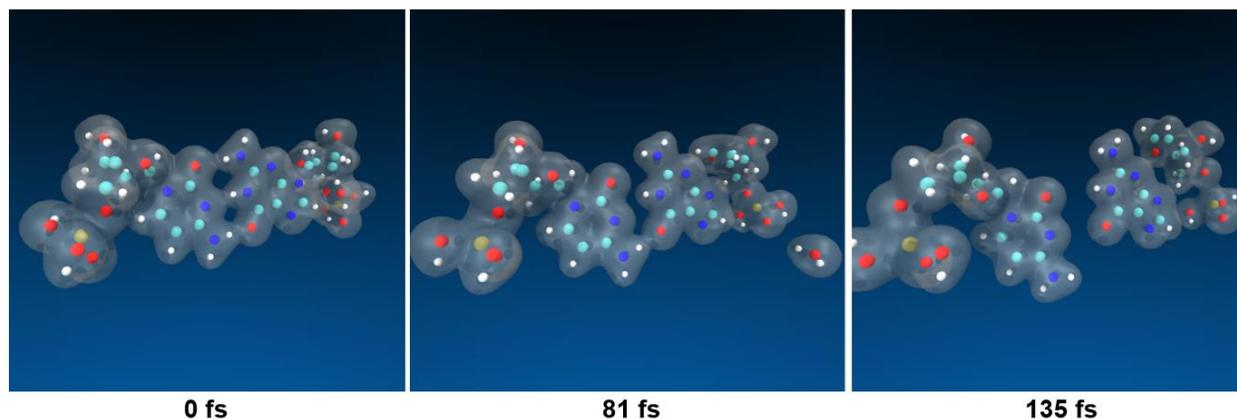


Figura 4 – Dinâmica da abstração no DNA.

Vemos de forma semelhante ao caso da uracila, que a hidroxila captura o hidrogênio, formando água que se afasta. Enquanto isso, as ligações de hidrogênio entre as bases, as mais fracas, se quebram, causando a dissociação do par de base.

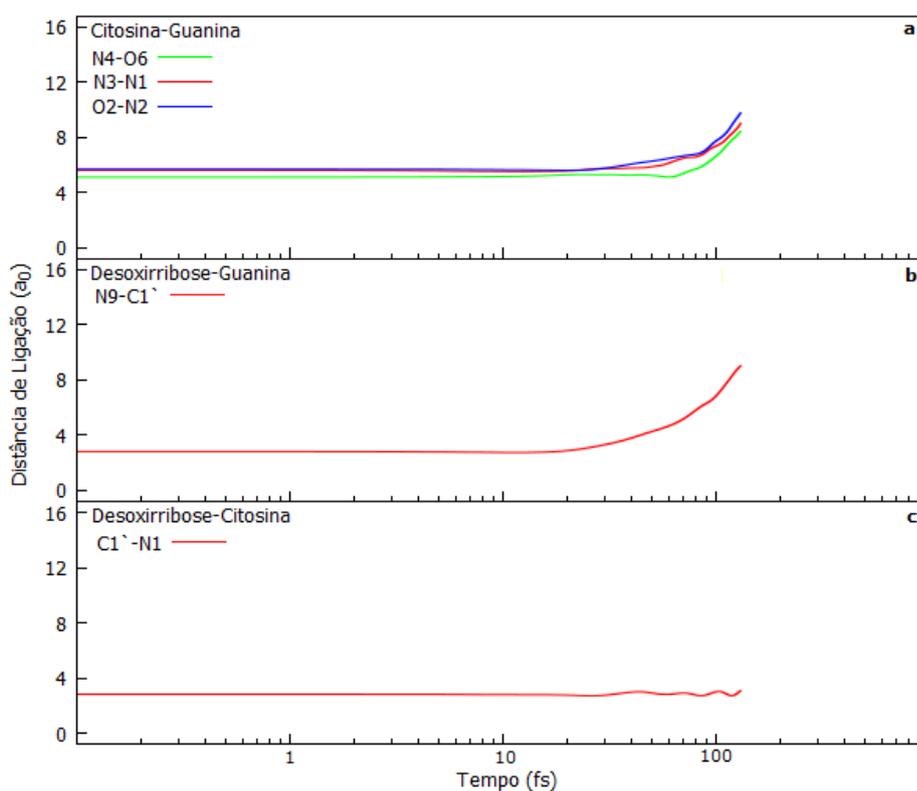


Figura 5 – Distâncias de ligação em função do tempo na dinâmica para: a) átomos envolvidos nas ligações de hidrogênio entre citosina e guanina; b) na ligação desoxirribose guanina; c) na ligação desoxirribose citosina

É interessante notar também que ao lado direito, onde ocorreu a abstração, a guanina e a desoxirribose chegam a se dissociar, mas suas estruturas em si, permanecem bem estáveis. De forma geral vemos que em torno de 100 fs após o início da interação entre a molécula de DNA e a hidroxila, as três ligações de hidrogênio já se quebraram, bem como a ligação entre guanina e a pentose onde ocorreu a abstração, enquanto a ligação entre a citosina e a pentose associada, permanece relativamente estável, com algumas oscilações.

CONCLUSÕES:

A partir de simulações de dinâmica molecular foi possível estudar uma série de sistemas relevantes para entendimento de uma abstração de hidrogênio. Inicialmente com o sistema de uma hidroxila e hidrogênio, foi mostrado como pode variar o comportamento da dinâmica temporal de acordo com a distância inicial entre as moléculas, cujo aprofundamento possibilitou simular a abstração em uma molécula de uracila.

Enfim, utilizando o modelo do DNA, o presente trabalho foi capaz de reproduzir em escala atômica a abstração de hidrogênio em um par de base e sua conseguinte dissociação, o que representa um importante processo para entendimento dos danos indiretos induzidos por radiação ionizante ao DNA.

AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem a FAPESP, no processo 2020/02348-8, pelo suporte no desenvolvimento da pesquisa realizada.

BIBLIOGRAFIA

- ALPEN, EDWARD L. **Radiation Biophysics**. Academic Press, 2 ed, 1998.
- BOESE, A Daniel. **Density Functional Theory and Hydrogen Bonds**. ChemPhysChem, 16, 978 – 985, 2015.
- BURKE, Kieron. **The ABC of DFT**. University of California, Irvine, 2007.
- MITROKA, S; ZIMMECK, S.; TROVA, D.; TANKO, JM. **How solvent modulates hydroxyl radical reactivity in hydrogen atom abstractions**. J Am Chem Soc.132(9):2907-2913, 2010.
- OKUNO, Emico.; YOSHIMURA, E. **Física das Radiações**. São Paulo, Editora Oficina de Textos, 2010.
- TAVERNELLI, I; GAIGEOT M.; , VUILLEUMIER R.; STIA, Carlos. **Time-Dependent Density Functional Theory Molecular Dynamics Simulations of Liquid Water Radiolysis**. ChemPhysChem, 9, 2099 – 2103, 2008.