

## Enzima TMPRSS2

### Um alvo promissor para a terapia da COVID-19

Filipa Leça Santos, Pedro A. Fernandes, Maria João Ramos  
Universidade do Porto

#### CITAÇÃO

Santos, F. L. S., Fernandes, P. A., Ramos, M. J. (2021) Enzima TMPRSS2, *Rev. Ciência Elem.*, V9(04):065. [doi.org/10.24927/rce2021.065](https://doi.org/10.24927/rce2021.065)

#### EDITOR

João Nuno Tavares  
Universidade do Porto

#### EDITOR CONVIDADO

Maria João Ramos  
Universidade do Porto

#### RECEBIDO EM

05 de agosto de 2021

#### ACEITE EM

23 de agosto de 2021

#### PUBLICADO EM

15 de dezembro de 2021

#### COPYRIGHT

© Casa das Ciências 2021. Este artigo é de acesso livre, distribuído sob licença Creative Commons com a designação [CC-BY-NC-SA 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/), que permite a utilização e a partilha para fins não comerciais, desde que citado o autor e a fonte original do artigo.

[rce.casadasciencias.org](https://rce.casadasciencias.org)



**A enzima protease serina transmembranar 2 (TMPRSS2) é um elemento necessário à infeção pelo vírus SARS-CoV-2, o vírus causativo da pandemia COVID-19. A TMPRSS2 é, portanto, um alvo importante para novos fármacos que podem tratar a infeção por SARS-CoV-2.**

Após a Organização Mundial de Saúde declarar a COVID-19 uma pandemia, a 11 de março de 2020, a vida como se conhece sofreu muitas alterações. Até hoje, a humanidade sofreu muitas perdas, tendo-se registado, em julho de 2021, cerca de 172 milhões de casos de infeção por SARS-CoV-2, e destes, 3 milhões não sobreviveram, tornando-se esta pandemia uma ameaça mundialmente significativa<sup>1</sup>. Como em qualquer pandemia, a melhor arma para a combater é a Ciência. Através desta, surgiram as vacinas, que previnem, em média, quatro a cinco milhões de mortes por ano<sup>2</sup>.

É crucial ter em mente que um vírus, como o SARS-CoV-2, sofre rápidas mutações. Isto significa que cada vez que o vírus se instala num novo hospedeiro tem uma probabilidade de sofrer uma mutação, que pode ou não ser mais patológica ou mais infecciosa. Os vírus mutantes mais contagiosos tornam-se dominantes na população dando origem a novas estirpes virais. Em apenas um ano de pandemia, já se desenvolveram a estirpe inglesa, a brasileira, a sul-africana e a indiana. Constata-se pois, que este vírus é propício a mutações e que apesar do muito esforço e dedicação por parte de todos os investigadores, algumas dessas alterações genómicas acabam por beneficiar o vírus e, consequentemente, prolongar a sua permanência na população, com o risco de fazer com que todas as vacinas já criadas e aprovadas possam vir a ser ineficientes, ou menos eficientes, contra as novas variantes. Assim sendo, é muito importante controlar a propagação do vírus para que a probabilidade de mutações seja o mais diminuta possível. Visto isto, quanto mais conhecimento e estratégias forem adquiridas maior será a vantagem do ser humano no combate à pandemia atual.

Muitos foram os temas já abordados e investigados. No entanto, ainda há vários caminhos por explorar; um deles é o estudo da enzima protease serina transmembranar 2, mais conhecida por TMPRSS2. Apesar de esta enzima não pertencer ao SARS-CoV-2, foi constatado que ela tem um papel fundamental na infeção do hospedeiro, e, por esse motivo, poderá ser uma potencial via ao combate da pandemia atual.

#### Enzima TMPRSS2

As proteases são enzimas que clivam ligações peptídicas, que são as ligações formadas entre os aminoácidos que constituem as proteínas<sup>3</sup>. O processo é chamado clivagem proteolítica, um mecanismo comum de ativação ou inativação de enzimas<sup>3</sup>.

As proteases serina são endopeptidases — clivam as partes internas das proteínas- e apresentam um resíduo de serina no centro ativo que atua como nucleófilo. As proteases serinas são caracterizadas por um centro ativo que contém três aminoácidos altamente conservados - serina (Ser), histidina (His) e aspartato (Asp) - formando a chamada tríade catalítica<sup>4</sup>. Com base na sua preferência para substratos, as proteases serina subdividem-se em vários tipos, tais como tipo tripsina ou quimotripsina, entre outros<sup>4</sup>. A protease serina transmembranar 2 (TMPRSS2) é uma protease serina transmembranar do tipo II<sup>5</sup>, codificada pelo gene TMPRSS2. Esta enzima pertence ao tipo tripsina e, estas enzimas, normalmente, clivam ligações peptídicas que envolvem aminoácidos de lisina ou arginina<sup>4</sup>.

## Estrutura da enzima TMPRSS2

De acordo com o *Universal Protein Resource "UniProtKB" database*<sup>7</sup>, a enzima TMPRSS2 é constituída por 492 aminoácidos. Contém um domínio transmembranar do tipo II; um domínio recetor LDL (do inglês *low-density lipoprotein*) classe A (LDLRA), aminoácidos 112-149, que contém um centro de coordenação para um íon  $Ca^{2+}$ ; um domínio recetor rico em cisteína (SRCR), aminoácidos 150-242, que está envolvido na ligação a outras moléculas na superfície celular ou no meio extracelular; um domínio de protease serina, aminoácidos 256-489, e um local de clivagem, aminoácidos 255-256<sup>5,6</sup>, que o domínio protease serina tem de (auto)clivar para que a enzima se torne ativa. O domínio protease serina possui uma tríade catalítica essencial para a atividade proteolítica constituída pelos aminoácidos serina441, histidina296 e aspartato345, localizados numa cavidade que liga o substrato e denominada de centro ativo da enzima<sup>6</sup>.

A região N-terminal da enzima encontra-se localizada no citoplasma e, junto a este, situa-se o domínio transmembranar hidrofóbico que pode interagir com componentes citoesqueléticos e moléculas de sinalização, podendo ser importante para o correto transporte intracelular do péptido<sup>6</sup>. Já os domínios LDLRA, SRCR e o domínio protease serina localizam-se no espaço extracelular. Os domínios LDLRA e SRCR constituem um domínio denominado de haste, que pode participar em interações proteína-proteína<sup>6</sup>. O domínio catalítico cliva recetores de membrana celular, fatores de crescimento, citocinas e componentes da matriz extracelular<sup>6</sup>. Este domínio sofre autoclivagem, secreção no epitélio e interage com as proteínas da superfície celular, a matriz extracelular e as proteínas das células vizinhas<sup>6</sup>. Na FIGURA 1, pode-se observar um esquema ilustrativo da proteína TMPRSS2.

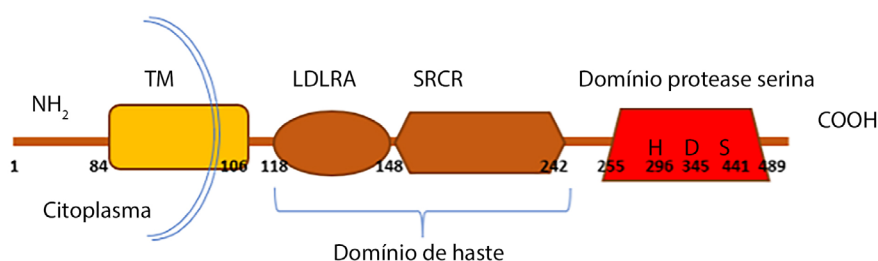


FIGURA 1. Esquema da proteína TMPRSS2 com 492 aminoácidos - TM é o domínio transmembranar, LDLRA é o domínio recetor LDL classe A, SRCR é o domínio recetor rico em cisteína. H, D e S são a tríade catalítica de aminoácidos His, Asp e Ser, essenciais para a atividade proteolítica.

Em termos de estrutura tridimensional, apenas a estrutura do domínio rico em cisteínas e domínio protease serina foram determinados na estrutura depositada na base de dados

*Protein Data Bank*, com o código 7MEQ<sup>8</sup>. A estrutura terciária destes domínios é constituída por hélices- $\alpha$ , folhas- $\beta$ , hélices 3.10, pontes- $\beta$ , ganchos (em inglês *turns*) e enrolamentos desordenados (em inglês *random coils*) (FIGURA 2A)). Na FIGURA 2B), pode-se observar a representação de tais domínios.

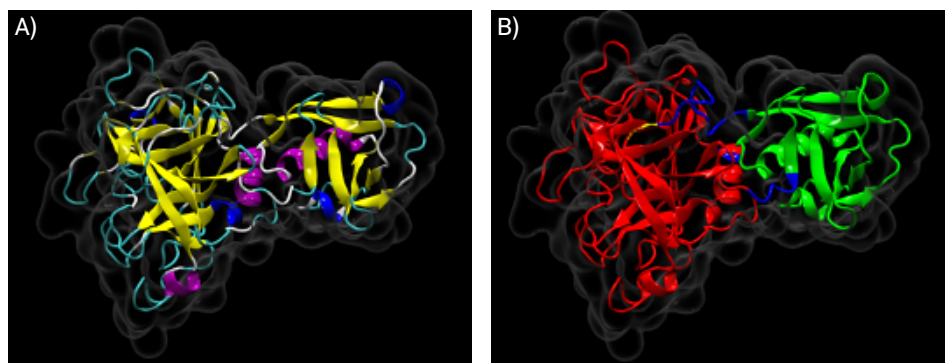


FIGURA 2. A) Representação da estrutura secundária dos domínios resolvidos da enzima TMPRSS2: hélices- $\alpha$  a roxo, folhas- $\beta$  a amarelo, hélices 3.10 a azul, pontes- $\beta$  a bronze, ganchos a ciano e enrolamentos desordenados a branco. B) Representação dos domínios protease serina e rico em cisteínas, e do local de clivagem para auto-ativação da enzima TMPRSS2. O domínio recetor rico em cisteína a verde, domínio protease serina a vermelho e local de clivagem para auto-ativação a amarelo. Os restantes resíduos encontram-se a azul.

A tríade catalítica (His296, Asp345 e Ser441) localiza-se no centro ativo com a Ser441 de um lado e a His296 e o Asp345 do outro lado da cavidade onde se liga o substrato, sendo esta importante no encaixe do aminoácido a clivar<sup>5</sup>. Os resíduos Asp435, Gly462 e Gly472 criam nesta cavidade um local carregado negativamente e a combinação de Ser441, Gly462 e Gly472 formam uma cavidade hidrofóbica profunda para acomodar aminoácidos hidrofóbicos do substrato<sup>5</sup>. A cavidade oxianiónica característica das enzimas proteases serina é formada por Gly439 e Ser441. O local de ligação do substrato é formado pelos resíduos Ser460, Trp461 e Gly462, que se espera que formem uma folha antiparalela com a estrutura de base dos resíduos P1-P3 dos seus substratos<sup>5</sup>. Na FIGURA 3A), é evidenciado o centro ativo da protease serina e os aminoácidos que formam a cavidade onde se liga a região clivável do substrato. Esta estrutura é estabilizada por cinco pontes dissulfureto, onde as pontes formadas por Cys172–Cys231 e Cys185–Cys241 encontram-se no domínio SRCR e as pontes formadas por Cys281–Cys297, Cys410–Cys426 e Cys437–Cys465 encontram-se no domínio protease serina<sup>5</sup>, FIGURA 3B).

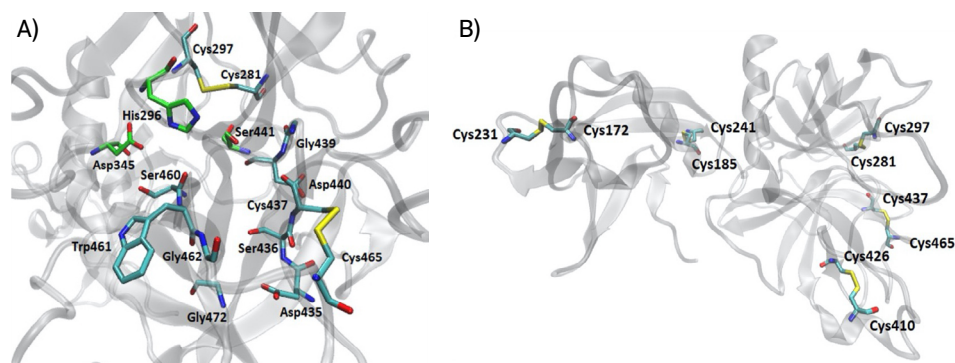


FIGURA 3. A) Centro ativo da protease serina mostrando a tríade catalítica (verde) e aminoácidos que formam a cavidade de que liga a região clivável do substrato (ciano) e as duas pontes dissulfureto Cys281–Cys297 e Cys437–Cys465 (amarelo). B) Representação das ligações dissulfureto (amarelo) que são responsáveis pela estabilização da estrutura da proteína.

## Função

Em termos de função, a enzima TMPRSS2 tem sido associada a processos fisiológicos e patológicos tais como digestão, remodelação de tecidos, coagulação do sangue, fertilidade, respostas inflamatórias, invasão de células tumorais, apoptose e dor<sup>6</sup>. No entanto, a sua função específica permanece ainda desconhecida<sup>9</sup>.

## Papel da enzima TMPRSS2 na infecção viral pelo SARS-CoV-2

Para que o vírus SARS-CoV-2 infete uma célula, a proteína de espícula (do inglês *spike*) necessita de se ligar a um recetor da célula hospedeira humana denominado ACE2 (do inglês *Angiotensin Converting Enzyme 2*)<sup>6</sup>. Após a ligação entre ambas, há a necessidade de ocorrer clivagem da proteína de espícula, por parte da enzima TMPRSS2, para que a fusão entre as membranas celulares viral e hospedeira tenha lugar (FIGURA 4). A clivagem da proteína de espícula expõe uma região denominada “péptido de fusão”, que permite a entrada viral. Este processo envolve uma mudança estrutural na proteína de espícula. Após a entrada, o genoma viral, que tem a forma de RNAmensageiro, é libertado no citoplasma celular do hospedeiro. Estas alterações conformacionais e o processo de fusão requerem a ação de proteases celulares, cuja disponibilidade é uma etapa limitadora de velocidade na entrada do coronavírus<sup>6</sup>. Em particular, as proteases serina transmembranares do tipo II são ancoradas nas membranas citoplasmáticas e a enzima TMPRSS2 é uma delas. A protease pulmonar TMPRSS2 cliva a proteína de espícula em múltiplos locais, para que a fusão entre as membranas celulares viral e hospedeira possa ocorrer<sup>10</sup>. Este evento provoca a diminuição da sensibilidade viral à inibição através da neutralização de anticorpos, ou seja, conferindo resistência ao processo<sup>10</sup>.

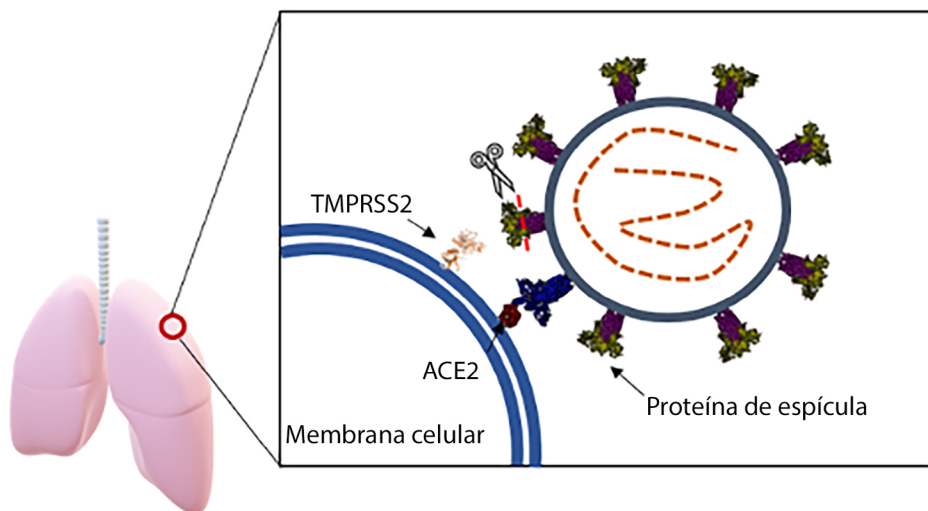


FIGURA 4. Processo de infecção viral através da interação das proteínas de espícula do vírus SARS-CoV-2 com as proteínas TMPRSS2 e ACE2, evidenciando a clivagem da proteína de espícula pela TMPRSS2 e a sua interação com ACE2, nos pulmões.

Como a enzima TMPRSS2 subsiste dentro e fora do pulmão, pode contribuir para a propagação extrapulmonar do vírus, o que justifica uma maior exploração desta enzima como um potencial alvo para limitar a propagação viral e, conseqüentemente, a infecciosidade. De facto, já foram realizados testes *in vitro* e *in silico* que demonstraram que a inibição da TMPRSS2 diminui a infecção da célula hospedeira, e por isso, a comunidade científica

tem insistido na procura e desenvolvimento de inibidores para esta enzima para que estes possam ser administrados em humanos<sup>11,12</sup>. Assim, será possível combater a infecção pelo vírus SARS-CoV-2 de forma eficaz.

## REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup> <https://www.worldometers.info/coronavirus/>.
- <sup>2</sup> <https://www.who.int/news-room/facts-in-pictures/detail/immunization>.
- <sup>3</sup> HEDSTROM, L., *Serine protease mechanism and specificity*, *Chemical reviews*, 102, 12, 4501-4524. 2002.
- <sup>4</sup> SINGH, N. et al., *Structure-based drug repositioning over the human TMPRSS2 protease domain: search for chemical probes able to repress SARS-CoV-2 Spike protein cleavages*, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 153, 105495. 2020.
- <sup>5</sup> KISHK, S. M. et al., *Molecular Insights into Human Transmembrane Protease Serine-2 (TMPS2) Inhibitors against SARS-CoV2: Homology Modelling, Molecular Dynamics, and Docking Studies*, *Molecules*, 25, 21. 2020.
- <sup>6</sup> THUNDERS, M. & B. DELAHUNT, *Gene of the month: TMPRSS2 (transmembrane serine protease 2)*, *Journal of clinical pathology*, 73, 12, 773-776. 2020.
- <sup>7</sup> CHIKHALE, R.V. et al., *Identification of potential anti-TMPRSS2 natural products through homology modelling, virtual screening and molecular dynamics simulation studies*, *J Biomol Struct Dyn*, 1-16. 2020.
- <sup>8</sup> FRASER, B. et al., *Structural Genomics Consortium (SGC)*, Crystal structure of human TMPRSS2 in complex with Nafamostat. 2021.
- <sup>9</sup> HOFFMANN, M. et al., *SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor*, *cell*, 181, 2, 271-280. e8. 2020.
- <sup>10</sup> GLOWACKA, I. et al., *Evidence that TMPRSS2 activates the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein for membrane fusion and reduces viral control by the humoral immune response*, *J Virol*, 85, 9, 4122-34. 2011.
- <sup>11</sup> HU, X. et al., *Discovery of TMPRSS2 inhibitors from virtual screening*, *bioRxiv*, 2020.12.28.424413. 2020.
- <sup>12</sup> PASZTI-GERE, E. et al., *In vitro characterization of TMPRSS2 inhibition in IPEC-J2 cells*, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 123-129. 2016.