

FATORES DE VIRULÊNCIA DO GÊNERO *PORPHYROMONAS*

VIRULENCE FACTORS OF GENUS PORPHYROMONAS

Gentil Cardoso Linhares NETO¹

Helder Marcus Costa ROCHA¹

Jordânia ALVES E SILVA¹

Willma José de SANTANA²

Luciana Barreto Silveira de SOUZA²

Henrique Douglas Melo COUTINHO^{2,3,4}

RESUMO

Porphyromonas são bactérias gram-negativas anaeróbicas. O lipopolissacarídeo na membrana externa lhe confere as propriedades antigênicas e tóxicas. Sua virulência, assim como a de outros microorganismos, está relacionada à sua aderência aos tecidos hospedeiros, à proteção à resposta imune do hospedeiro e à destruição tecidual do hospedeiro. Tais determinantes da virulência acontecem devido às enzimas produzidas em seu metabolismo, que são liberadas no meio onde se instalam. A virulência das bactérias patogênicas é altamente regulada por uma gama de genes, que vêm sendo estudados para uma melhor compreensão de suas adaptações e, por conseguinte, das infecções e da disseminação no hospedeiro. *Porphyromonas* fazem parte da flora bacteriana da cavidade oral, podendo participar em doenças como cáries dentais, gengivites e periodontites. O nicho da *Porphyromonas gingivalis* está compreendido juntamente com outras espécies no sulco gengival, uma área que experimenta flutuações em temperatura, pH, osmolaridade e disponibilidade de nutrientes. Compreender esses aspectos

¹ Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte. Juazeiro do Norte, CE, Brasil.

² Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte. Juazeiro do Norte, CE, Brasil.

³ Universidade Regional do Cariri. Crato, CE, Brasil.

⁴ Departamento de Sistemática e Ecologia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba. Campus I, Prédio da Reitoria, 2º andar, Cidade Universitária, 58051-900, João Pessoa, PB, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: H.D.M. COUTINHO. E-mails: <hdouglas@zipmail.com.br>; <h-douglas@bol.com.br>.

sobre a ação desse microorganismo é fundamental para que, através de novos estudos e da elaboração de novos métodos de prevenção e controle desse patógeno, sua incidência possa ser reduzida. O objetivo deste trabalho foi reunir de forma clara e concisa pontos de interesse sobre esse periodontopatógeno através de uma revisão bibliográfica direcionada para seus fatores de virulência mais importantes.

Termos de indexação: fatores de virulência, microorganismos, periodontite, *porphyromonas*.

ABSTRACT

Porphyromonas is an anaerobic, Gram-negative bacteria. The lipopolysaccharide in its membrane, expresses antigenic and toxic properties. Its virulence, as that of other microorganisms, is related to its adherence to the host tissues, its protection against the host's immune system, and its destruction of the host tissues. Such virulence determinants are induced by the bacteria's metabolic enzymes, liberated in the environment where they are settled. The virulence of these pathogenic bacteria is regulated by a variety of genes, which have been studied to elicit a better comprehension of their adaptations, and therefore, of their dissemination and the infections they cause in the host. Porphyromonas are part of the oral cavity's bacterial flora., and may participate in several diseases as dental caries, gingival inflammation and periodontitis. The environment of porphyromonas gingivalis, together with other species, is in the gingival rift, an area that presents temperature variations, pH, osmolarity and nutrients disponibility. To understand these traits of such microorganism is essential, so that, with more research and the discovery of new methods of prevention and control of this pathogen, its incidence may be reduced. The aim of this work was to perform a bibliographic review on the porphyromonas gingivalis' most important virulence factors, and to organize, in a clear and concise form, the data of greater interest about that periodontal pathogen.

Indexing terms: virulence factors, microorganisms, periodontitis, *porphyromonas*.

INTRODUÇÃO

As bactérias do gênero *Porphyromonas* (do grego, que significa "púrpura") são gram-negativas. A penetração de moléculas hidrofílicas, como açúcares e aminoácidos, é necessária para a nutrição, obtida através de canais especiais ou poros formados por proteínas chamadas porinas. O lipopolissacarídeo na membrana (LPS) confere as propriedades antigênicas, além dos antígenos "O" das cadeias de carboidratos e da endotoxina do componente lipídico A. As bactérias do gênero *Porphyromonas* são anaeróbicas. Pelo menos oito gêneros de bacilos gram-negativos e três gêneros de cocos gram-negativos anaeróbicos colonizam as vias aéreas

superiores, o trato gastrointestinal e o trato genituri-nário de humanos. Esses microorganismos constituem as bactérias predominantes em cada um desses locais, ultrapassando em dez a mil vezes o número de bactérias aeróbicas^{1,2}.

O aumento da virulência desse e de outros patógenos é atribuído a uma variedade de fatores que facilitam a aderência dos microorganismos aos tecidos do hospedeiro (mediada por Cisteíno Proteases), à proteção contra a resposta imune do hospedeiro (como a produção de amônia por Peptidil Deaminase) e à destruição tecidual (causada por enzimas como a Lys-gingipaina)³⁻⁵.

É necessária, portanto, uma atualização constante quanto às características dessa bactéria.

Assim, o objetivo deste trabalho foi reunir de forma clara e concisa pontos de interesse sobre esse periodontopatógeno através de uma revisão bibliográfica direcionada para seus fatores de virulência mais importantes.

Fatores de virulência e doenças

As bactérias do gênero *Porphyromonas* possuem fímbrias que atuam na fixação dos microorganismos nas células do hospedeiro. Elas geralmente podem tolerar uma exposição ao oxigênio. Em muitas cepas patogênicas, observa-se a presença de catalase e de superóxido-desmutase, que inativam o peróxido de hidrogênio e os radicais livres (O_2^-), respectivamente. Além disso, os ácidos graxos de cadeia curta produzidos durante o metabolismo anaeróbico inibem a fagocitose e a desgranulação.

As proteases são encontradas nas bactérias do gênero *Porphyromonas* proteases, que degradam as imunoglobulinas IgA, IgG e IgM proteases, e também causam destruição tecidual devido à liberação de enzimas como protease, collagenases, fibrino-lisinas, neuraminidases, heparinases, glicuronidases e hemolisinas¹.

A proteinase cisteína pode afetar o remodelamento de proteínas de matriz e romper a resposta imune, estimulando a atividade colágeno-degradante, a degradação de fibronectina, a inativação do interferon-gama e interleucinas e interferindo com a cascata do complemento e a degradação de imunoglobulinas⁶.

A expressão de muitos determinantes da virulência pelas bactérias patogênicas é altamente regulada. Essas bactérias se adaptam a alterações do ambiente através da ativação ou inativação de uma gama de genes associados ao metabolismo e à virulência. A análise da expressão dos genes da virulência constitui um dos aspectos em maior expansão no estudo da patogênese microbiana, pois permite uma melhor compreensão da adaptação das bactérias às muitas alterações na medida em que

iniciam as infecções e se disseminam em diferentes hospedeiros².

Pesquisas realizadas sobre a flora bacteriana da cavidade oral demonstraram a existência de uma enorme variedade de bactérias tanto residentes quanto oportunistas. Algumas dessas bactérias podem ocasionar o surgimento da placa bacteriana (biofilme bucal); além disso, em associação com outras condições ambientais, como alterações na densidade e na diversidade bacteriana bucal, ausência de processos de higienização e outros, podem ocasionar o processo cariogênico, além de gengivites e periodontites⁷.

Dentro do hospedeiro humano, a maioria do ferro é encontrada no interior das hemácias na forma de hemoglobina, proteínas do heme ou ferritina. Quantidades pequenas de ferro extracelular também são complexadas a proteínas ferro-ligantes, principalmente ferritina, que é achada no soro e lactoferrina presente dentro da superfície das mucosas⁸.

O nicho da *Porphyromonas gingivalis* está compreendido juntamente com outras espécies no sulco gengival, uma área que experimenta flutuações em temperatura, pH, osmolaridade e disponibilidade de nutrientes. Elas podem invadir, se reproduzir e persistir a altas densidades nas células epiteliais da gengiva⁹. Periodontite é uma doença comum, com 5% a 30% de prevalência na população de adultos e que consiste em uma inflamação dos tecidos periodontais causada por infecção bacteriana, principalmente por *Actinobacillus actinomycetencomitans*, o que ocasiona uma destruição de tecido conjuntivo periodontal e reabsorção de osso alveolar¹⁰⁻¹².

A doença periodontal tem como fator determinante a presença de placa bacteriana. As bactérias predominantes na placa bacteriana no sulco gengival são aeróbias e gram-positivas. A inflamação instalada e a contínua proliferação bacteriana podem acarretar retração ou hiperplasia gengival, formando assim bolsas periodontais que favorecem ainda mais o acúmulo de bactérias, passando então a predominar as bactérias gram-negativas, com uma grande

presença do gênero *Porphyromonas*. Bactérias presentes em lesões na cavidade oral podem penetrar na corrente sangüínea e se acumular em diversos órgãos, principalmente nos rins, fígado e coração, e neles causam lesões. A boca pode, portanto, atuar como um foco de infecção¹³.

Pesquisa recente procurou avaliar a condição periodontal e a presença de periodontopatógenos em mães brasileiras, com idade entre 21 e 40 anos e em seus filhos, com cinco a seis anos de idade, considerando que elas possam ser fonte de transmissão para seus filhos e influenciar suas condições clínicas e bacterianas. Foram avaliados o índice de placa (ID) e índice gengival (IG) de mães e filhos e a profundidade de sondagem periodontal (PS) apenas das mães. Foi observado que em amostras de placa dental subgengival e em amostras de saliva total tanto das mães quanto dos filhos houve grande prevalência do gênero *Porphyromonas gingivalis*. Esse fato sugere a possibilidade de que as mães possam desempenhar o papel de veículos de transmissão de periodontopatógenos para filhos, entretanto, novos estudos são necessários para confirmar esse resultado¹⁴.

As bactérias *Porphyromonas gingivalis* se adaptam bem às modificações do meio, mostrando-se resistentes às adversidades¹⁵. A arquitetura microscópica da placa está bem definida, sendo as células bacterianas arranjadas em agrupamento ou colunas de microcolônias. Essa estrutura é permeável devido à sua porosidade, permitindo que a saliva, fluido gengival e os líquidos da dieta infiltrem-se na placa. As *Porphyromonas* são um dos principais microorganismos envolvidos na etiologia da doença periodontal¹⁶.

A periodontite de indivíduos adultos é resultante do acúmulo de resíduos do grupo heme, presente na estrutura da hemoglobina. No local da infecção, a hemoglobina derivada da lise de eritrócitos é abundante em bolsas periodontais. Essa bactéria contém quantidades grandes de proteases que possuem atividades de hemaglutinação capazes de lisar os eritrócitos. O mecanismo de aquisição do grupo heme dos eritrócitos envolve a hemólise, ligação e degradação da molécula de hemoglobina¹⁷.

Pesquisas realizadas sugerem que o gene da proteína luxS na *Porphyromonas gingivalis* pode funcionar para controlar a expressão de genes envolvidos na aquisição do grupo heme. São conhecidos grupamentos de genes para características proeminentes dos cromossomos bacterianos¹⁸.

Estudos genéticos e bioquímicos confirmaram que a utilização do grupo heme em *Porphyromonas gingivalis* constitui um dos fatores de virulência mais importantes para a aderência dos microorganismos ao tecido. Essa utilização é mediada pela proteína receptora de heme HmuR e pela gingipaína¹⁹. Na membrana externa da *Porphyromonas gingivalis* há uma proteína IhtB, uma quelatase que pode remover ferro do grupo heme. O acesso ao grupo heme resulta em alteração da capacidade de virulência da bactéria²⁰.

Tratamento

Pesquisas mostraram que a clorexidina a 0,12% não é capaz de eliminar as cepas de *Porphyromonas gingivalis*. No entanto, em concentrações de 0,50% a 1,00%, elimina todas as cepas dessa bactéria, agindo como um antimicrobiano²¹.

A tetraciclina e seus análogos são inibidores de síntese protéica em procariotos com grande eficiência sobre um largo espectro de microorganismos, incluindo os periodontopatogênicos²². Foi verificado que a tetraciclina a 100mg inibiu totalmente a atividade amilolítica de substâncias arginino-específicas (HrGa e RgpB). Tais substâncias são proteinases produzidas constitutivamente pela bactéria para possibilitar sua adesão ao tecido^{23,24}. Dessa forma, inibindo essas enzimas, os microorganismos não conseguem se fixar no seu sítio de infecção. Esses resultados indicam que a tetraciclina, como inibidor de lisina e arginino proteinases, pode atuar no sítio de infecção e devido à sua eficiência, ser utilizada no tratamento de periodontites praticamente em qualquer período da infecção²⁵. Em trabalhos mais recentes, outra estratégia proposta tem sido a utilização de amoxicilina e metronidazol, sendo a forma de

controle de doenças periodontais de origem bacteriana mais utilizada hoje em dia e com uma grande eficiência²⁶⁻²⁸. Entretanto, deve ser enfatizado o efeito que o biofilme bacteriano (placa bacteriana) tem sobre a antibioticoterapia oral. Esse biofilme diminui o acesso do antibiótico às bactérias, impedindo o seu ataque aos sítios alvos e dificultando o tratamento.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

A partir dos dados visualizados, recomenda-se na literatura que, contra esse periodontopatógeno, a antibioticoterapia seja precedida pela terapia mecânica para remover o biofilme e permitir uma melhor ação do antibiótico^{29,30}.

REFERÊNCIAS

- Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiologia médica. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
- Mims C. Microbiologia médica. 2.ed. São Paulo: Manole; 1999.
- Tokuda M, Duncan M, Cho MI, Kuramitsu HK. Role of *Porphyromonas gingivalis* protease activity in colonization of oral surfaces. *Infect Immun*. 1996; 64(10):4067-73.
- McGraw WT, Potempa J, Farley D, Travis J. Purification, characterization, and sequence analysis of a potential virulence factor from *Porphyromonas gingivalis*, *Peptidylarginine Deiminase*. *Infect Immun*. 1999; 67(7):3248-56.
- Abe N, Kadowaki T, Okamoto K, Nakayama K, Ohishi M, Yamamoto K. Biochemical and functional properties of lysine-specific cysteine proteinase (*Lys-gingipain*) as a virulence factor of *Porphyromonas gingivalis* in periodontal disease. *J Biochem*. 1998; 123(2):305-12.
- Decarlo AA, Paramaesarvan M, Yun PL, Collyer C, Hunter N. Porphyrin-mediated Binding to hemoglobin by the HA2 Domain of cystine Proteinases (*Gingipains*) and Hemagglutinins from the Periodontal Pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *J Bacteriol*. 1999; 181(12):3784-91.
- Kroes I, Lepp PW, Relman DA. Bacterial diversity within the human subgingival crevice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96(25):14547-52.
- Sroka A, Sztukowska M, Potempa J, Travis J, Genco CA. Degradation of host heme proteins by lysine-and-arginine-Specific Cysteine Proteinases (*Gingipains*) of *Porphyromonas gingivalis*. *J Bacteriol*. 2001; 183(19):5609-16.
- Chung WO, Park Y, Lamont RJ, McNab R, Barbieri B, Demuth DR. Signaling System in *Porphyromonas gingivalis* based on a LuxS Protein. *J Bacteriol*. 2001; 183(13):3903-9.
- Komerik N, Nakanishi H, MacRobert AJ, Henderson B, Speight P, Wilson M. *In vivo* Killing of *Porphyromonas gingivalis* by toluidine Blue-Mediated Photosensitization in an Animal Model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003; 47(3):932-40.
- Manson JD, Eley BM. Outline of periodontics. 3rd ed. Oxford: United Kingdom; 1995.
- Miyazaki H, Pilot T, Leclercq MH, Barmes DE. Profiles of periodontal conditions in adults measured by CPITN. *Int Dent J*. 1991; 41(2):74-80.
- Domingues LM, Alessi AC, Schoken-Iturrino RP, Dutra LS. Microbiota saprófita associada a doença periodontal em cães. *Arq Bras Med Veter Zoo*. 1999; 51(4):329-32.
- Rosa OPS, Silva SMB, Costa B, Torres AS, Passanezi E. Periodontopathogens in the saliva and subgingival dental plaque of a group of mothers. *Pesq Odontológica Bras*. 2002; 16(4):313-18.
- Nelson D, Loomis L, Fischetti VA. Prevention and elimination of upper respiratory colonization of mice by group A streptococci by using a bacteriophage lytic enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98(7):4107-12.
- Eto FS. Características microbianas na saúde e doença periodontal. *Rev Odontologia UNITAU*. 2001; 39: 1-5.
- Lewis JP, Dawson JA, Hannis JC, Muddiman D, Macrina FL. Hemoglobinase Activity of the lysine Gingipain Protease (KgP) of *Porphyromonas gingivalis* w83. *J Bacteriol*. 1999; 181(16):4905-13.
- Overbeek R, Fonstein M, D'Souza M, Pusch GD, Maltsev N. The use of gene clusters to infer functional coupling. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96(6):2896-901.
- Olczak T, Dixon DW, Genco CA. Binding Specificity of the *Porphyromonas gingivalis* Heme and Hemoglobin Receptor HmrU, *Gingipain* K and *Gingipain* R1 for heme, porphyrins and metalloporphyrins. *J Bacteriol*. 2001; 183(19):5599-608.
- Dashper SG, Hendtlass A, Slakeski N, Jackson C, Cross KJ, Brownfield L, et al. Characterization of a novel outer Membrane hemin-binding Protein of *Porphyromonas gingivalis*. *J Bacteriol*. 2000; 182(22):6456-62.

21. Sassone LM, Fidel RA, Fidel SR, Dias M, Hirata RJ. Antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine using a contact test. *Braz Dent J.* 2003; 14(2):99-102.
22. Lindhe J, Liljenberg B, Adielsson B. Effect of long-term tetracycline therapy on human periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1983; 10(6):590-601.
23. Pike R, McGraw W, Potempa J, Travis J. Lysine- and arginine-specific proteinases from *Porphyromonas gingivalis*: Isolation and evidence for the existence of complexes with hemagglutinins. *J Biol Chem.* 1994; 269(1):406-11.
24. Potempa J, Mikolajczyk-Pawlinska J, Brassell D, Nelson D, Thøgersen IB, Enghild JJ, et al. Comparative properties of two cysteine proteinases (*gingipain Rs*), the products of two related but individual genes of *Porphyromonas gingivalis*. *J Biol Chem.* 1998; 273(34):21648-57.
25. Imamura T, Matsushita K, Travis J, Potempa J. Inhibition of trypsin-like cysteine proteinases (*Gingipains*) from *Porphyromonas gingivalis* by tetracycline and its analogues. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45(10):2871-6.
26. Larsen T. Susceptibility of *Porphyromonas gingivalis* in biofilms to amoxicillin, doxycycline and metronidazole. *Oral Microbiol Immunol.* 2002; 17(5):267-71.
27. Flemmig TF, Milian E, Karch H, Klaiber B. Differential clinical treatment outcome after systemic metronidazole and amoxicillin in patients harboring *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and/or *Porphyromonas gingivalis*. *J Clin Periodontol.* 1998; 25(5): 380-7.
28. Flemmig TF, Milian E, Kopp C, Karch H, Klaiber B. Differential effects of systemic metronidazole and amoxicillin on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in intraoral habitats. *J Clin Periodontol.* 1998; 25(1):1-10.
29. Mombelli A, Schmid B, Rutar A, Lang NP. Local antibiotic therapy guided by microbiological diagnosis. *J Clin Periodontol.* 2002; 29(8):743-9.
30. Wexler HM, Molitoris D, St. John S, Vu A, Read EK, Finegold SM. *In vitro* Activities of Faropenem against 579 Strains of Anaerobic Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46(11):3669-75.

Recebido para publicação em 31 de agosto de 2004 e aceito em 7 de março de 2005.