9º FEPEG FÓRUM DE ENSINO, PESQUISA, EXTENSÃO E GESTÃO
TRABALHOS CIENTÍFICOS APRESENTAÇÕES ARTÍSTICAS E CULTURAIS DEBATES MINICURSOS E PALESTRAS
23 A 26 SETEMBRO DE 2015
Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro
ISSN 1806-549X
A HUMANIZAÇÃO NA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO

Virulência de *Streptococcus mutans*: registros e mensuração do interesse sobre o assunto a partir de bases de referências bibliográficas

Thaís Tiemi Yoshinaga, Jotta Junior Novaes, Handressa Magalhães Ferreira, vitelhe Ferreira de Almeida, Fabiana da Silva Vieira Matrangolo, Sérgio Avelino Mota Nobre

Introdução

Streptococcus mutans é uma bactéria referida como o principal agente causador da cárie em roedores e primatas [3,5], a cárie é uma doença que ocorre a dissolução do dente por meio de metabólitos residuais de *S. mutans.* O micro-organismo foi nomeado na década de 1920 por J.K.Clark, entretanto seu papel etiológico foi reproduzido apenas em meados da década de 1960 por Fitzerald e Keyes [4]. Geneticamente bastante heterogêneo, morfologicamente esféricas e gram-positivas, sendo capazes de fermentar diferentes fontes de carboidratos (glicose, glicose fermentada, lactose, rafinose, inulina, manitol, salicina) [2,6]. Porém nota-se que, quando é fornecida como nutriente a sacarose, maiores taxas na habilidade de colonização, sobrevivência e proliferação desse organismo [3,5]. Estas características definem a capacidade de virulência dessa classe de bactérias. O objetivo deste trabalho é revisar os mecanismos de virulência utilizados por esse micro-organismo que regulam a sua sobrevivência e que acarretam um problema de saúde comumente encontrado na sociedade, bem como incluir na revisão uma análise quantitativa referente a esses mecanismos como meio de mensurar o volume de trabalhos desenvolvidos nessas áreas especificas.

Metodologia

Tratou-se de uma revisão de artigos já publicados, nos últimos dez anos, envolvendo fatores de virulência de *S. mutans*. Os artigos foram obtidos a partir de buscas em bases de referências: *Web of Science* (Coleção Principal) da *Thomson Reuters Scientific* e o *PubMed* da *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*, reconhecidamente detentoras de considerável volume de registros bibliográficos no universo científico. Foram usadas como palavras de busca, ou indexadores: Virulência, Glicosiltransferase (*Gtf*), metabolismo de carboidratos, reserva de polissacarídeos, acidogênese, mecanismos de ácido tolerância e sistema de *Quorum Sensing* e formação de biofilme.

Desenvolvimento

Ao contrário de outras doenças causadas por micro-organismos, os fatores patogênicos de *S.mutans* são basicamente consequências do seu metabolismo [7]. Os fatores de virulência principais são: (*i*) a capacidade de colonização do dente e a síntese de glucanos, (*ii*) a taxa de fermentação de açúcares, (*iii*) o metabolismo de polissacarídeos como reserva (*iv*) a capacidade de produção de ácidos, (*v*) mecanismos de tolerância, e (*vi*) biofilme e sistema *Quorum sensing* (QS) [1].

(i) Colonização: glicosiltransferase

Existem mecanismos complexos e intrínsecos responsáveis por isso, por meio de glucanos insolúveis produzidos pelas glicosiltransferases (GTF). Para cepas diferentes tem-se variações nos genes e tipos de GTF's envolvidas, para *S.mutans* são três genes responsáveis por três enzimas diferentes: *gtfB* e *gtfC* que produzem glucanos insolúveis e *gtfD* que produz glucanos solúveis. Estes glucanos podem ser dependentes de sacarose, eles tem por função fazer ligações de hidrogênio entre o polímero do glucano e a película de saliva no dente e o glucano e a bactéria por meio dos domínios carboxi-terminais dos aminoácidos e a interação deste domínio com outras proteínas de ligação que não tem função enzimática. Para indivíduos não dependentes de sacarose, uma proteína (185kDa – P1, *spaP*, Sr, *paC*) com domínios ricos em alanina e prolina fazem a interação entre bactéria e superfície do dente. Essas proteínas ligantes de glucano sem função enzimática (GBP – *GbpA, GbpB, GbpC, GbpD)* tem importante papel na arquitetura do biofilme e auxiliam na aderência e interação dos glucanos dependentes de sacarose [1]. No caso dos indivíduos sem essas proteínas de adesão, eles só podem causar dano quando retidos mecanicamente nas fissuras do dente, eles não tem a mesma habilidade de se fixar nas superfícies lisas como as que possuem mecanismos de adesão [5].

(ii) Metabolismo de carboidratos

Como já citado antes, este grupo em particular é capaz de fermentar uma diversidade muito grande de açúcares e entre o grupo Streptococci é possível diferenciar as cepas pela capacidade ou não de fermentação de alguns nutrientes [7]. Existem diferenças no metabolismo e consequentemente na capacidade de virulência da cepa em questão proporcionalmente ao tipo de nutriente que é fornecido. Muitos trabalhos demonstram que quando fermentando

sacarose, as habilidades de adaptação (sobrevivência, reprodução e dispersão) tem um aumento expressivo [3,5]. Existem várias proteínas envolvidas com o metabolismo de polissacarídeos, são exemplos de proteínas: frutosiltransferase (Ftf), fructanase (*Fru*A), dextranase extracelular (*Dex*A) [1]. O metabolismo de sacarose não é requerido para a colonização inicial do dente, existem proteínas adesivas para ligar a *S.mutans* ao dente, ela é apenas utilizada para que ocorra a formação da aderência e formação do biofilme.

(iii) Reserva de polissacarídeos intracelulares

Além de fermentar diversos polissacarídeos, algumas cepas de *S.mutans* tem a capacidade de sintetizar sua própria reserva energética quando percebem que o meio não tem a mesma disponibilidade de nutrientes como antes. Esta capacidade de fermentação de polissacarídeos intracelulares [3] também é um fator de virulência já que elas são altamente resistentes a ambientes extremos com escassez de recursos.

(iv) Acidogênese

O principal agente de corrosão do esmalte do dente são ácidos produzidos como resultado da fermentação do açúcar. *S.mutans* possuem a via glicolítica completa e como resíduos tem-se lactatos, formatos, acetatos e etano, por meio de enzimas como: Lactato desidrogenase (LDH), acetato desidrogenase (ADH) e outras [1]. Até a produção desses agentes corrosivos, a relação miro-organismo – homem é comensal, o dano gerado na doença é consequência do metabolismo do agente.

(v) Mecanismos de ácido tolerância

Esse grupo tem mecanismos de tolerância a ácidos para manter a homeostase do sistema, quando o meio intracelular muda para um patamar mais ácido, algumas enzimas não funcionam com a mesma eficiência ou nem mesmo funcionam. Para manter a homeostase do sistema intracelular, existem alguns mecanismos que a célula utiliza para impedir a entrada de íons pela membrana e também a retirada ativa de íons do interior. Esse mecanismo é chamado Resposta de Tolerância a Ácidos (ATR), e corresponde a adaptação e mudança da expressão de genes e proteínas (pelo menos 30 são mudadas), já foram observados um aumento na taxa de translocação de prótons por meio de proteínas bombeadoras (F_1F_0ATPases), a permeabilidade da membrana é modificada através a modificação da bicamada lipídica. Trabalhos *in vitro* já foram desenvolvidos, e esse micro-organismo sobreviveu a mudanças subletais de pH, choque ácido e ainda conseguiu crescer em meios de pH ácido próximos ao nível de inibição. Para o choque ácido, acreditam que ocorre ativação das proteínas chaperonas que ativam genes que garantem a sobrevivência do organismo em ambiente extremos [1].

(vi) Biofilme e sistema Quorum Sensing (QS)

O crescimento em biofilme é diferente em diversos aspectos do crescimento planctônico, existe toda uma dinâmica de adesão e agregação, a corrente de nutrientes e a taxa de crescimento devem estar sincronizadas, são coordenadas principalmente pelo sistema de *Quorum sensing* [1]. A expressão gênica também muda, já foi observado um aumento dramático na competência de expressão e incorporação de DNA exógeno, esse grupo é capaz de avaliar as condições do ambiente e adaptar tanto sua fisiologia quanto seu comportamento, em função dessa mudança esse mecanismo de adaptabilidade é essencial na sobrevivência e persistência desse organismo [4].

Toda a dinâmica do biofilme é coordenada pelo sistema de *Quorum sensing*, a síntese de biomoléculas que são estimulantes para certos genes são liberadas no meio e estimulam as células vizinhas. Em *S. mutans* esse sistema é controlado por dois genes: *comC*, *comD* e *comE* correspondendo: ao precursor competente peptídico de estímulo (CSP), componentes de sinalização: histidina quinase ligada a membrana e o regulador complementar de resposta, respectivamente; e os genes *comA* e *comB* correspondentes: ao transportador ativo e a proteína acessória para processar ao precursor de CSP [4].

(vii) Análise quantitativa

A busca no *Web of Science* pelo termo *Streptococcus mutans* mostrou mais de 10000 trabalhos nos últimos dez anos. Quando aplicado o filtro pelo termo "*virulence*" resumiram-se 7% dos trabalhos, sendo 30% trabalhos relacionados a glicosiltransferase, 30% trabalhos falando de formação de biofilme e sistema de *Quorum sensing*, 20% trabalhos sobre acidogênese, 10% trabalhos sobre os mecanismos de ácido-tolerância, 5% trabalhos sobre o metabolismo de carboidratos e 5% falando sobre reserva de polissacarídeos intracelulares. No PubMed inicialmente encontra-se 9400 trabalhos relacionados a *Streptococcus mutans*, usando os mesmos filtros, para "*virulence*" obteve-se

8% trabalhos dentro deles, 12% relacionados a *glicosiltransferase*, 26% sobre formação de biofilme, 11% trabalhos sobre acidogênese, 20% para mecanismos de ácido-tolerância, 25% relacionados a metabolismo de carboidratos e 6% relacionados a reserva de polissacarídeos. Em todas as áreas os principais focos são: a caracterização genética e estrutural, os efeitos de inibição e retardo do mecanismo em questão, estímulos que ativam os genes, a análise do processo de formação da colônia em relação a esses mecanismos, a resposta do crescimento em relação a certos produtos entre outros.

Considerações Finais

Considerando que a cárie dentária é uma das doenças mais prevalentes nos humanos, bem como o alto custo dos investimentos públicos, tanto em procedimentos clínicos quanto em pesquisas científicas, o nível e intensidade das informações relacionadas aos fatores de virulência do principal agente etiológico também são expressivos. Formas de se controlar ou interromper a infecção e os efeitos negativos, uma vez que a presença do micro-organismo não significa infecção, a ecologia do biofilme e a multiplicidade de fatores envolvidos são bastante relatadas. Logo, são tratados como resposta dependente do hospedeiro, a intensidade da colonização e a diversidade dos isolados. Deste modo, a virulência em *S. mutans* é mediada por genes que regulam o metabolismo de açúcares e adaptações para a própria sobrevivência do organismo, sendo que a potencialidade e intensidade da doença dependerá de fatores ligados ao hospedeiro. Na análise quantitativa, os estudos envolvendo *virulência* não ocupam fração muito expressiva dentro do universo *Streptococcus mutans*, indicando que existem limitações técnicas as quais restringem a compreensão dos fenômenos relacionados a bioquímica e gênese dos mesmos. Sem contudo desconsiderar a complexidade das interações e regulações envolvidas.

Referências Bibliográficas

[1] BANAS, J. ***Virulence Properties of Streptococcus mutans*** *New York, USA. Frontiers in Bioscience*, Vol.9; pg.1267-1277, 2004.

[2] COYKENDALL, A. ***Classification and Identification of the Viridans Streptococci.*** *Connecticut, USA. Clinical Microbiology Reviews*, Vol.2. no.3. pg315-328, 1989.

[3] KURAMITSU, H. ***Virulence Factors of Mutans Streptococci: Role of Molecular Genetics***. *Texas, USA. Critical Reviews in Oral Biology and Medicine.* Vol.4. no.2. pg.159-176, 1993

[4] SENADHEERA, D., CVITKOVITCH, D. ***Quorum Sensing and Biofilm Formation by Streptococcus mutans.*** *Toronto, Canadá..* Cap.12, pg. 178-188, 2008.

[5] TANZER, J., FREEDMAN, M., FITZGERALD, R., LARSON, R. ***Diminished Virulence of Glucan Synthesis-Defective Mutans of Streptococcus mutans.*** *Maryland, USA. Infection and Immunity*, Vol.10. no.1. pg. 197-203, 1974.

[6] TORTORA, G., FUNKE, B., CASE, C. **Microbiologia**. 10ª Edição, Cap. 25: Doenças Microbianas do Sistema Digestório. Porto Alegre, Brasil. Artmed 2012.

[7] LEMOS, J., BURNE, R. ***A Model of Efficiency: stress tolerance by Streptococcus mutans.*** *Florida, USA. Microbiology*, Vol. 154, pg. 3247-3255, 2008.

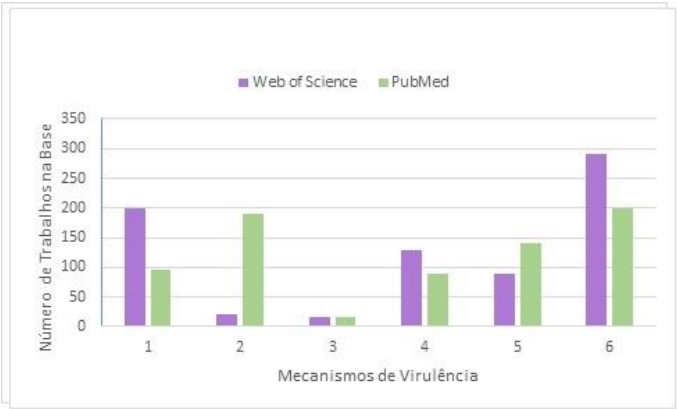

Figura 1: Análise Quantitativa de Bancos de Dados. (1= Glicosiltransferase; 2=Metabolismo de Carboidratos; 3=Reserva de Polissacarídeos Intracelulares; 4= Acidogênese; 5= Mecanismos de Ácido Tolerância; 6 = Biofilmes e sistema QS).