Aspectos imunológicos da cárie dentária *Immunologic aspects of dental caries*

PINTO, Leão Pereira*
QUEIROZ, Lélia Maria Guedes*
NONAKA, Cassiano Francisco Weege**
NASCIMENTO, George João Ferreira do**

Resumo

O significativo avanço na elaboração de protótipos de vacina contra a cárie é resultado de inúmeras investigações genéticas e moleculares direcionadas aos *S. mutans* e *S. sobrinus* e ao mecanismo de resposta imune do hospedeiro. Tais investigações têm permitido o reconhecimento não apenas dos melhores antígenos estreptocócicos candidatos à vacina, como também das melhores vias de administração do imunógeno, capazes de reduzir a colonização bacteriana e, conseqüentemente, o número de lesões cáries. O presente trabalho propõe-se a fazer uma análise crítica dos aspectos atuais relacionados ao progresso e às limitações dos principais tipos propostos de vacinas anticárie.

PALAVRAS-CHAVE:

Cárie dentária. Imunologia. Vacina

INTRODUÇÃO

Considerando a natureza pandêmica da cárie e suas implicações econômicas, não é surpresa que o desenvolvimento de uma vacina contra a mesma tenha atraído tanto interesse. Em princípio a cárie não difere de outras doenças infecciosas, exibindo como variáveis principais: o ataque microbiano e a resistência do hospedeiro.

Os principais microrganismos relacionados ao desenvolvimento de lesões cáries e, conseqüentemente, os mais pesquisados em relação à formulação de uma vacina contra antígenos de superfície bacteriana, são os *Streptococcus mutans* e os *Streptococcus sobrinus*.

A descoberta das imunoglobulinas na saliva, especialmente a IgA secretora (S-IgA), despertou o interesse sobre os fatores imunes específicos que medeiam a defesa do hospedeiro nas superfícies da mucosa oral. Além disto, a verificação da existência de um sistema imune mucoso comum sugeriu a possibilidade de prevenção da cárie por meio da indução de S-IgAs específicas contra os estreptococos cariogênicos.

O presente trabalho propõe-se a revisar os aspectos imunológicos relacionados à cárie, enfatizando o estágio atual de desenvolvimento de vacinas, considerando-se sua constituição, via de administração, modelo de estudo, mecanismo de ação e eficácia.

REVISÃO DA LITERATURA

Fatores de virulência de *Streptococcus mutans* candidatos a vacinas

A patogênese da cárie envolve a produção de polímeros extracelulares, dando ori-

gem a um estroma que permite a ligação de microrganismos entre si e à superfície dos dentes através de proteínas de superfície presentes nos patógenos. Os *S. mutans* têm sido destacados como patógenos importantes na iniciação e progressão da doença cárie, devido ao seu papel na produção de polímeros extracelulares e ácidos orgânicos a partir de carboidratos provenientes da dieta (EKENBÄCK et al., 2001).

O tropismo dos *S. mutans* e *S. sobrinus* pela superfície dentária relaciona-se com a função de complexos enzimáticos extracelulares, os quais podem se apresentar acessíveis e vulneráveis à inibição por anticorpos salivares (HAJISHENGALLIS; MICHALEK, 1999). Neste ponto, os componentes bacterianos mais extensivamente estudados são: as proteínas de superfície, tais como os antígenos III, I/II, os polissacarídeos sorotipo-específicos; e o complexo de enzimas glicosiltransferase (GTF) e as proteínas ligadoras de glicanos.

Antígeno III e Antígeno I/II

O antígeno III, também denominado de antígeno A ou proteína WapA, presente na parede celular de *S. mutans*, tem sido considerado como um importante candidato à vacina contra a cárie dentária (SATO et al., 2002). Corroborando esta assertiva, Koga et al. (2002) destacam que a inativação interseccional do gene *wapA* está associada com diminuição significativa da agregação de *S. mutans* dependente de sacarose e da ligação deste microrganismo às superfícies lisas, resultando, conseqüentemente, na não acumulação de biofilme bacteriano.

O antígeno I/II, também denominado de PAC, é uma proteína de superfície celular dos *S. mutans*, com massa molecular de aproximadamente 190kDa (KOGA et al., 2002). A proteína PAC possui estrutura fibrilar e reveste os estreptococos grupo mutans, funcionando como adesina e permitindo ligação à película salivar disposta sobre a superfície dentária (WRIGHT et al., 2002).

Apesar de estudos, como os desenvolvidos por Navarre, Schneewind (1999), demonstrarem a presença de domínios bacterianos imunologicamente importantes, o sorotipo f dos *S. mutans* apresenta uma proteína de superfície que demonstra epítomos em comum com as imunoglobulinas humanas IgG2 e IgG3. Não obstante, proteína similar existe na molécula da PAC de *S. mutans* sorotipo c, capaz de se ligar à IgG. Esses achados sugerem que algumas regiões da molécula da PAC, como a C-terminal, podem ser impróprias para utilização como imunógenos devido a reações cruzadas com estruturas teciduais e moleculares do hospedeiro.

Antígenos polissacarídeos sorotipo-específicos

As cepas de *S. mutans* podem ser classificadas em diversos sorotipos, de acordo com as propriedades sorológicas dos polissacarídeos de ramnose-glicose presentes na parede celular. Todos estes polissacarídeos são compostos por uma estrutura principal com unidades de ramnose associadas por ligações α -1,2 e α -1,3, diferindo uma das outras na estrutura das cadeias laterais de glicose (QIAN; DAO, 1993; KOGA et al., 2002).

* Professor Doutor da Disciplina de Patologia Oral e do Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

** Aluno do Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

Apesar de estudos experimentais, como o de Wallengren, Hamberg, Ericson (2004), demonstrarem que *S. mutans* defeituosos para os polissacarídeos sorotipo-específicos são fagocitados mais facilmente por leucócitos polimorfonucleares, sugerindo que estes determinantes antigênicos desempenham papel relevante na resistência à fagocitose, há um consenso geral e evidências de que estes antígenos apresentam fraca imunogenicidade.

Glicosiltransferases (GTFs)

As GTFs são enzimas extracelulares que convertem a sacarose em glicanos solúveis e insolúveis em água, os quais são importantes para o acúmulo dos *S. mutans* nas superfícies dos dentes. As três formas de GTFs observadas em *S. mutans* são: uma enzima sintetizadora de glicanos insolúveis em água, GTF-I; uma enzima sintetizadora de glicanos solúveis e insolúveis em água, GTF-SI; e uma enzima sintetizadora de glicanos solúveis em água, GTF-S (JESPERSGAARD et al., 1999).

Os genes codificadores de GTF-I, GTF-SI e GTF-S são chamados, respectivamente, de genes *gtfB*, *gtfC* e *gtfD* (JESPERSGAARD et al., 1999; KOGA et al., 2002). Como estruturas importantes e peculiares a todos os tipos de GTFs, têm-se o domínio N-terminal, o sítio catalítico para sacarose e o domínio C-terminal, envolvido na ligação aos glicanos e consequente agregação bacteriana (KOGA et al., 2002).

Os anticorpos de coelho contra o domínio catalítico e o de ligação aos glicanos da GTF-I de *S. mutans* inibem, significativamente, a síntese de glicanos insolúveis em água, em 22 e 75%, respectivamente (JESPERSGAARD et al., 1999). Resultados semelhantes podem ser obtidos a partir da construção de *S. mutans* mutantes para os genes *gtfB* e *gtfC*. Isto resulta em dramática redução da virulência estreptocócica em ratos gnotobióticos jovens, ao passo que a inativação do gene *gtfD* não aumenta o efeito de redução da virulência (MUNRO et al., 1993). Desta forma, a partir destes estudos, pode-se concluir que o grupo das glicosiltransferases também é um importante candidato a antígeno vacinal anticárie.

Proteínas ligadoras de glicanos

Os *S. mutans* sintetizam três proteínas não-enzimáticas ligadoras de glicanos, denominadas GbpA, GbpB e GbpC. A proteína GbpA, altamente hidrofóbica, pode ser secretada em associação com a superfície celular ou livremente no meio extracelular, apresentando seqüências de aminoácidos homólogas às presentes na GTF-I de *S. downei* e GTF-I e GTF-SI de *S. mutans* (KOGA et al., 2002).

Tem sido mostrado que a inativação do gene *gbpA* de *S. mutans* aumenta a virulên-

cia em modelos de ratos gnotobióticos, promovendo, também, o acúmulo *in vivo* de microrganismos nos quais *gtfB* e *gtfC* foram recombinados para reduzir a síntese de glicanos insolúveis (HAZLETT; MICHALEK; BANAS, 1998). A proteína GbpB, entretanto, parece ser antigenicamente distinta da GbpA. A imunização com este complexo proteico induz uma resposta imune em ratos que interfere com o acúmulo de *S. mutans*, reduzindo o número de lesões cariosas (TSUDA et al., 2000).

A proteína ligadora de glicanos C, codificada pelo gene *gbpC*, é responsável pela adesão dependente de dextranos em *S. mutans*, encontrando-se ancorada à superfície da parede celular bacteriana através de uma transpeptidase denominada sortase (SMITH et al., 2003). Shimazaki et al. (2001) observaram que a baixa expressão desta proteína é importante para o processo de colonização da superfície dentária por *S. mutans*, já que altos níveis desse composto proteico promovem a auto-agregação desses microrganismos antes de sua aderência ao biofilme dentário.

Por todas estas características, as proteínas ligadoras de glicanos ou suas frações estruturais têm sido amplamente empregadas no desenvolvimento de protótipos de vacinas anticáries, com resultados bastante satisfatórios em modelos animais.

Controle da cárie através da imunização ativa e passiva

A imunização ativa vem sendo a mais empregada nos estudos de combate à cárie. Tal imunização resulta em estimulação de anticorpos específicos que podem ser titulados no sangue ou, no caso específico de uma vacina contra a cárie, na saliva e no fluido crevicular (HAJISHENGALLIS; MICHALEK, 1999; KOGA et al., 2002).

Sabe-se que o uso de células bacterianas inteiras pode resultar em reações cruzadas com tecidos normais do hospedeiro (RUSSELL; BEIGHTON; COHEN, 1982). Por isso, visando evitar tais reações, técnicas de genética e biologia molecular têm sido empregadas permitindo a purificação e síntese peptídica de subunidades estreptocócicas relacionadas à colonização bacteriana à superfície dentária, como o AgI/II e a GTF (HAJISHENGALLIS; MICHALEK, 1999).

Estas subunidades podem assim ser amplificadas em grandes quantidades, ou, ainda, serem expressas na superfície celular por determinadas cepas bacterianas avirulentas, que são então utilizadas como antígenos vacinais (KOGA et al., 2002). Tal estratégia visa a atuação específica dos anticorpos apenas nos componentes estruturais ou enzimáticos das bactérias relacionados a sua adesão ao dente, impedindo-se, desta maneira, uma

sucessão de microrganismos cárie-específica.

Desde a década de 70, inúmeros estudos têm provado ser possível uma maior produção de S-IgA específica para microrganismos cariogênicos, através da estimulação do sistema imune mucoso comum. Este sistema "amplificador" da resposta imune é composto por estruturas linfóides localizadas nas placas de Peyer, apêndice e linfonodos solitários do trato gastrointestinal, constituindo o GALT (Gut-associated lymphoid tissue), e nos anéis de Waldeyer e tonsilas nasofaríngeas e palatinas, que constituem o NALT (nasal-associated lymphoid tissue) (HAJISHENGALLIS; MICHALEK, 1999; CHILDERS et al., 2002).

Tanto as células linfóides do GALT como as do NALT são responsáveis pela maior produção de IgA específica ao imunógeno. Em seguida, essas células partem para os sítios de glândulas exócrinas como as mamárias, lacrimais e salivares, onde terminam sua maturação liberando a IgA que é unida ao componente secretório (CS), dentro destas glândulas, antes de ser liberada como S-IgA (SMITH; TAUBMAN, 1996).

Mesmo anatomicamente distantes o GALT e o NALT encontram-se funcionalmente interligados onde, uma vez estimulados, aumentam os níveis de S-IgA nas secreções exócrinas como um todo (RUSSELL; WU, 1990; KOGA et al., 2002). Atualmente, os estudos de imunização da cárie e de outras doenças infecciosas têm focado bastante a resposta imune através do GALT e do NALT, sendo as vias de administração mais utilizadas a oral/gástrica e, principalmente, a intranasal/tonsilar, respectivamente.

Apesar da via de imunização oral, através de vacinas de DNA recombinante e estimulação do GALT, apresentar resultados satisfatórios no controle de cáries em animais, a via intranasal/tonsilar apresenta vantagens adicionais, tais como: 1) maior sítio indutivo de resposta imune mucosa, devido à compartimentalização das estruturas linfóides que constituem o NALT, o que diminui a competição e a atividade proteolítica sobre o imunógeno administrado (HAJISHENGALLIS; MICHALEK, 1999); 2) conseqüentemente, baixas doses de antígeno são requeridas por tal via; 3) induz tanto imunidade sistêmica quanto secretória; e 4) administração relativamente mais fácil (RUSSELL; WU, 1990; KOGA et al., 2002).

A imunização passiva é uma abordagem alternativa no combate à cárie, apresentando resultados satisfatórios e maior praticidade e segurança quando comparada às formas de administração da imunização ativa (RUSSELL; WU, 1990; KOGA et al., 2002). Entretanto, apesar de ter limitações, como não induzir memória imunológica e o fato de

os anticorpos heterólogos implantados terem vida útil muito curta no biofilme bacteriano, a imunização passiva tem sido objeto de inúmeros experimentos.

Os anticorpos heterólogos podem: 1) ser extraídos de animais e administrados em forma de soluções, colutórios ou dentifrícios para uso humano; 2) ser ingeridos pelos humanos em produtos de origem animal como o colostro e o leite bovino ou ovos; e 3) serem extraídos e adicionados a suplementos alimentares (RUSSELL; WU, 1990).

Período de imunização anticárie e população alvo

A melhor época para utilização de vacinas é aquela antes da exposição do indivíduo ao agente infeccioso, sendo este período chamado de janela de infectividade. Isto decorre do fato de que uma vez o indivíduo tenha entrado em contato com o patógeno inúmeras interações biológicas ocorrerão na tentativa de um equilíbrio entre ambos (RUSSELL; WU, 1990; KOGA et al., 2002).

Pode-se afirmar que os *S. mutans* e o *S. sobrinus*, ainda não atingiram equilíbrio eficaz na cavidade oral, fazendo com que estabeleçam uma relação de competição com outros microrganismos da boca, buscando desta forma espaço através de um *nicho* que viabilize sua colonização e, assim, manutenção de sua espécie (TSUHA et al., 2004).

Crianças antes da erupção dos primeiros dentes decíduos já são capazes de produzir resposta imune através de S-IgA na saliva e, deste modo, um programa de imunização anticárie deveria iniciar-se ao redor dos seis meses de idade. Adicionalmente, os *S. mutans*, que em geral infectam a cavidade oral da criança ao redor dos 26 meses de idade, tornam-se efetivamente residentes quando os dentes erupcionam e, portanto, a utilização de uma vacina nesta tenra época impediria o estabelecimento de um *nicho* cariogênico (HAJISHENGALLIS; MICHALEK, 1999).

As mães são os principais agentes de infecção por *S. mutans* (RUSSELL; WU, 1990). Assim, alternativamente, a imunização das mães reduziria sua microbiota estreptocócica, o que preveniria a infecção das crianças quando da erupção dentária. Outro aspecto seria o de que se a mãe fosse imunizada ativamente através da via intranasal, aumentar-se-iam os níveis de S-IgA na saliva e em outras secreções como o leite materno, devido ao sistema imune mucoso comum. Isto tornaria o ato de amamentar um mecanismo de imunização passiva antiestreptocócica (RUSSELL; WU, 1990; HAJISHENGALLIS; MICHALEK, 1999).

De fato, estudos ainda são necessários para mostrar a segurança destas hipóteses, embora em animais já se tenham obtido resultados protetores com relação à imuniza-

ção intranasal (RUSSELL; WU, 1990; KOGA et al., 2002) e o leite e o colostro bovino já terem sido utilizados em experimentos de imunização passiva com adultos humanos, com resultados também satisfatórios (SMITH et al., 1998).

Vale ressaltar que a ação sinérgica dos efeitos da vacina com as primeiras bactérias colonizadoras da superfície dentária resulta em significativa diminuição de *S. mutans*, tanto pelo efeito dos anticorpos, como pela competição entre bactérias. Tal efeito provavelmente ocorreria durante o tempo correspondido entre a aplicação da vacina e a erupção dos primeiros dentes permanentes, época onde a janela de infectividade estaria mais uma vez "aberta", sendo, assim, viável o reforço vacinal (HAJISHENGALLIS; MICHALEK, 1999).

Outro aspecto importante, bastante discutido, é o da real necessidade de uma vacina anticárie, uma vez que medidas preventivas instituídas de forma racional têm resultado na significativa diminuição dos casos de cáries em todo o mundo, sem riscos ou desequilíbrios de qualquer natureza, que se sabe estão ainda ligados ao uso de protótipos vacinais. Entretanto, apesar da diminuição do número de casos, a cárie em determinados grupos populacionais é deveras alto, e talvez apenas para estes grupos é que um programa vacinal anticárie devesse ser instituído.

A população alvo seria basicamente composta pelos seguintes indivíduos: 1) crianças entre dois e quatro anos; 2) indivíduos com inabilidades funcionais, mentais, emocionais e físicas; 3) indivíduos com defeitos de desenvolvimento do esmalte; 4) com xerostomia por várias causas; 5) adultos de meia idade onde há maior risco de exposição da superfície radicular; e 6) população residente em áreas onde cobertura preventiva odontológica seja escassa (HAJISHENGALLIS; MICHALEK, 1999).

CONCLUSÕES

Apesar dos avanços nos estudos concernentes ao desenvolvimento de uma vacina anticárie, vale ressaltar que a maioria destes trabalhos foi realizada em animais, o que dificulta a predição dos resultados em humanos. E, muito embora experimentos em humanos sejam necessários, inúmeros encaixos bioéticos surgem, fazendo com que sejam conduzidos em voluntários adultos, com microbiota oral já estabelecida e, portanto, difícil de ser erradicada. Isto resulta numa subestimação dos resultados com relação à imunização da cárie em crianças, a principal população para utilização de programas anticáries.

ABSTRACT

Significant advances on elaboration of vaccines against dental caries are result of several genetic and molecular investigations addressed to *S. mutans* and *S. sobrinus*, and to the mechanism of immune host response. These investigations lead to the recognition not only of which are the best streptococcal vaccine antigen candidates, as well as of more efficient immunization routes, responsible for decreasing bacterial colonization and, consequently, the number of carious lesions. The present paper makes a critical evaluation about up-to-date aspects related to the progression and limitations of principal types proposed as an anti-caries vaccine.

KEYWORDS

Dental caries. Immunology. Vaccine

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHILDERS, N.K. et al. Humans Immunized with *Streptococcus mutans* Antigens by Mucosal Routes. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 81, no. 1, p. 48-52, jan. 2002.

EKENBÄCK, S.B. et al. Effect of Fluoride on Glucose Incorporation and Metabolism in Biofilm Cells of *Streptococcus mutans*. **Eur. J. Oral Sci.**, Denmark, v. 109, no. 3, p.182-186, juny 2001.

HAJISHENGALLIS, G.; MICHALEK, S.M. Current Status of a Mucosal Vaccine Against Dental Caries. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 14, no. 1, p. 1-20, feb.1999.

HAZLETT, K.R.; MICHALEK, S.M.; BANAS, J.A. Inactivation of the gbpA Gene of *Streptococcus mutans* Increases Virulence and Promotes in Vivo Accumulation of Recombinations Between the Glucosyltransferase B and C Genes. **Infect. Immun.**, Washington, v. 66, no. 5, p. 2180-2185, may 1998.

JESPERGAARD, C. et al. Functional and Immunogenic Characterization of Two Clone Regions of *Streptococcus mutans* Glucosyltransferase I. **Infect. Immun.**, Washington, v. 67, no. 2, p. 810-816, feb.1999.

KOGA, T. et al. Immunization Against Dental Caries. **Vaccine**, Netherlands, v. 20, no. 16, p. 2027-2044, may 2002.

MUNRO, G.H. et al. A Protein Fragment of Streptococcal Cell Surface Antigen I/II which Prevents Adhesion of *Streptococcus mutans*. **Infect. Immun.**, Washington, v. 61, no. 11, p. 4590-4598, nov. 1993.

NAVARRE, W.W.; SCHNEEWIND, O. Surface Proteins of Gram-Positive Bacteria and Mechanisms of their Targeting to the Cell Wall Envelope. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, Washington, v. 63, no. 1, p. 174-229, mar. 1999.

QIAN, H.; DAO, M.L. Inactivation of the *Streptococcus mutans* Wall-Associated Protein A Gene (wapA) Results in a Decrease in Sucrose-Dependent Adherence and Aggregation. **Infect. Immunol.**, Washington, v. 61, no. 12, p. 5021-5028, dec. 1993.

RUSSELL, M.W.; WU, H. *Streptococcus mutans* and the Problem of Heart Cross-Reactivity. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, v. 1, no. 3, p. 191-205, 1990.

RUSSELL, R.R.; BEIGHTON, D.; COHEN, B. Immunization of Monkeys (*Macaca fascicularis*) with Antigens Purified from *Streptococcus mutans*. **Br. Dent. J.**, England, v. 152, no. 3, p. 81-84, feb. 1982.

SHIMAZAKI, Y. et al. Passive Immunization with Milk Produced from Immunized Cow Prevents Oral Re-Colonization by *Streptococcus mutans*. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, Washington, v. 8, no. 6, p. 1136-1139, nov. 2001.

SMITH, D.J. et al. Remote Glucosyltransferase-Microparticle Vaccine Delivery Induces Protective Immunity in the Oral Cavity. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 18, no. 4, p. 240-248, aug. 2003.

SMITH, D.J. et al. Structural and Antigenic Characteristics of *Streptococcus sobrinus* Glucan-Binding Proteins. **Infect. Immun.**, Washington, v. 66, no. 11, p. 5565-5569, nov. 1998.

SMITH, D.J.; TAUBMAN, M.A. Experimental Immunization of Rats with a *Streptococcus mutans* 59-kDa Glucan-Binding Protein Protects Against Dental Caries. **Infect. Immun.**, Washington, v. 64, no. 8, p. 3069-3073, aug. 1996.

TSUDA, H. et al. Role of Serotype-Specific Polysaccharide in the Resistance of *Streptococcus mutans* to Phagocytosis by Human Polymorphonuclear Leukocytes. **Infect. Immun.**, Washington, v. 68, no. 2, p. 644-650, feb. 2000.

TSUHA, Y. et al. Role of Peptide Antigen for Induction of Inhibitory Antibodies to *Streptococcus mutans* in the Human

Oral Cavity. **Clin. Exp. Immunol.**, England, v. 137, no. 2, p. 393-401, aug. 2004.

WALLENGREN, M.L.; HAMBERG, K.; ERICSON, D. Salivary IgA Reactions to Cell-Surface Antigens of Oral Streptococci. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 19, no. 3, p. 188-195, juny 2004.

WRIGHT, W.G. et al. Inhibition of Catalytic and Glucan-Binding Activities of a Streptococcal GTF Forming Insoluble Glucans. **Caries Res.**, Switzerland, v. 36, no. 5, p. 353-359, sept./out. 2002.

Recebido: 22 de abril/2004

Aceito: 21 de junho/2005

Endereço para correspondência:

Prof. Dr. Leão Pereira Pinto
Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral
Departamento de Odontologia
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)
Av. Senador Salgado Filho, 1787
Lagoa Nova, Natal – RN, Brasil
CEP: 59056-000
lppinto@digi.com.br