



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXVIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2024

IGG1 ANTI-PORPHYROMONAS GINGIVALIS COMO PREDITORA DE REAÇÃO HANSÊNICA EM INDIVÍDUOS COM PERIODONTITE: DOSAGEM POR ELISA INDIRETO

**Mariza Mascarenhas Cordeiro¹; Soraya Castro Trindade²; Franciele Celestino
Bruno Pereira³; Gabriel Estrela Cerqueira⁴; Michelle Miranda Lopes Falcão⁵**

1. Bolsista – Iniciação Tecnológica/CNPq, Graduanda em Odontologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: mmascarenhasc@hotmail.com
2. Orientadora, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: soraya@uefs.br
3. Graduanda em Odontologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: francielecelestino10@gmail.com
4. Mestrando em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: gabrielestrelacerqueira@gmail.com
2. Pesquisadora, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: mmalfalcao@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: Hanseníase; Imunodiagnóstico; Imunoglobulinas.

INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória decorrente da resposta imune exacerbada à presença de biofilme disbiótico, tendo *Porphyromonas gingivalis* como patógeno-chave (HAJISHENGALLIS, 2015; KINANE et al, 2017). Tem sido relacionada com diversos agravos, a exemplo das reações hansênicas, que se caracterizam por quadros inflamatórios que ocorrem na evolução da hanseníase, mesmo após o seu tratamento. (CORTELLA et al, 2015; RANGANATHAN et al, 2014). Tanto a hanseníase quanto a periodontite compartilham de evolução lenta e manifestação clínica modulada por processos inflamatórios e imunopatológicos. A evolução clínica da hanseníase relaciona-se com o predomínio de resposta imune celular ou humoral frente à infecção pelo *Micobacterium leprae* (SOUSA, SOTTO, SIMÕES QUARESMA, 2017). Em indivíduos com hanseníase, a resposta humoral com intensa produção de imunoglobulinas IgM e IgG contra o *M. leprae* pode ser indicador de reação hansênica (KIFAYET e HUSSAIN, 1996; AMORIM et al, 2019). No entanto, nem sempre os testes humorais relacionados a antígenos do *M. leprae* conseguem explicar ou prever o surgimento dessas reações. Por outro lado, níveis elevados de IgG são também observados na periodontite (TRINDADE et al, 2007). Dentre as subclasses de IgG envolvidas no reconhecimento de *P. gingivalis*, IgG1 e IgG4 são as mais frequentes (TRINDADE et al, 2008; TRINDADE et al, 2012). Alguns fatores de virulência específicos do patógeno parecem induzir mais especificamente a resposta humoral com produção de IgG, como o peptídeo de gingipaína Kgp12 (SANTOS-LIMA et al, 2020) e a glicoproteína HmuY (TRINDADE et al, 2012). Diante disso, esse estudo objetivou testar um ensaio imunoenzimático (ELISA) indireto para a verificação dos níveis de IgG1 anti-*Porphyromonas gingivalis* nos indivíduos com hanseníase como preditor de reações hansênicas, por meio da mensuração e da comparação dos níveis séricos de IgG1 contra antígenos presentes no extrato sonificado de *P. gingivalis*, da proteína recombinante HmuY e do peptídeo Kgp12.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres humanos sob o registro CAEE64476117.3.0000.0049 (CONSEPE 038/2021) e todos os participantes foram orientados e convidados a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foram selecionados 244 indivíduos com hanseníase, maiores de 18 anos que estavam em tratamento poliquimioterápico (PQT) regular ou com PQT concluída até 12 meses depois da alta, atendidos no Hospital Universitário Professor Edgar Santos (HUPES/UFBA). Pessoas com neoplasias malignas, com diagnóstico de HIV-AIDS, gestantes, incapacitadas de compreender ou responder ao questionário ou que tinham diagnóstico histopatológico incompatível com a hanseníase não foram incluídas no estudo. Os dados sociodemográficos, de saúde e hábitos de vida dos participantes foram coletados e foi realizado o exame periodontal. Os participantes foram classificados quanto a presença e gravidade da periodontite (Gomes Filho et al., 2018). Realizou-se a coleta de sangue venoso periférico de cada participante e a mensuração da IgG1 sérica foi realizada de forma indireta, por meio do ELISA. Cada placa foi sensibilizada com antígenos de interesse do estudo: extrato bruto de *P. gingivalis* (TRINDADE et al, 2008), proteína recombinante HmuY (OLCZAK et al, 2008) e peptídeo Kgp12 (SANTOS-LIMA et al, 2020). O protocolo foi seguido conforme o estudo de Falcão et al, 2020. Os dados obtidos foram tabulados e organizados em um banco elaborado no programa SPSS versão 23.0. Foi realizada a análise descritiva das variáveis categóricas e a comparação das frequências segundo a presença ou ausência de reação hansênica foi feita com uso do teste qui-quadrado de Pearson (valor de p 5%). Para as variáveis contínuas, foi verificada a distribuição dos dados com o teste de Kolmogorov-Smirnov e apresentadas as medianas e intervalos interquartis, que foram comparadas com o teste Mann-Whitney. Para a análise dos parâmetros de controle de qualidade do teste, foi feita uma curva ROC.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Participaram do estudo 202 pessoas que atendiam aos critérios de elegibilidade. Dentre elas, 96 pertenciam ao grupo sem reação hansênica e 106 ao grupo com reação hansênica. Entretanto, somente o soro de 140 participantes foram utilizados para o teste de imunoabsorbância enzimática (ELISA) indireto. Quanto ao diagnóstico periodontal, 28 tinham periodontite, enquanto 174 não tinham o diagnóstico da doença (Tabela 1). Em relação aos descritores clínicos periodontais analisados, observou-se o nível de inserção clínica maior, de 3 a 4mm, nos participantes do grupo caso ($8,34 \pm 5,65$; $p=0,00$), enquanto no grupo controle, a média encontrada foi de NIC de 1 a 2 mm ($9,78 \pm 7,94$; $p=0,01$), como demonstrado na tabela 2.

Tabela 1. Caracterização socioeconômica e demográfica, de condições de saúde e hábitos de vida dos grupos sem e com reação hansênica.

VARIÁVEL	SEM REAÇÃO		COM REAÇÃO		VALOR DE p
	N	%	n	%	
Faixa etária (n = 202)					
≤ 50 anos	52	54,2	59	55,7	0,831
> 50 anos	44	45,8	47	44,3	
Sexo (n = 202)					
Masculino	55	57,3	71	67	0,156
Feminino	41	42,7	35	33	
Etnia (n = 198)					
Branco	12	12,6	11	10,7	0,668
Não branco	83	87,4	92	89,3	
Doença periodontal (n = 202)					

Não	84	87,5	90	84,9	0,594
Sim	12	12,5	16	15,1	

Como também pode ser observado na tabela 2, embora a mediana dos níveis séricos de IgG1 específica para o extrato sonificado de *Porphyromonas gingivalis* tenha sido maior no grupo sem reação hansênica, essa comparação com o grupo com reação hansênica não demonstrou significância estatística ($p=0,971$). Também não foram identificadas diferenças estatisticamente significantes nos níveis de IgG1 específicas para HmuY ($p=0,534$) e para Kgp12 ($p=0,823$).

Tabela 2. Mediana, intervalo interquartil e valor de p, referentes à comparação do nível de inserção clínica (NIC) e dos níveis séricos de IgG1 específica para antígenos de *Porphyromonas gingivalis* em indivíduos com e sem reações hansênicas.

VARIÁVEL	SEM REAÇÃO (n=96)		COM REAÇÃO (n=106)		p*
	Mediana	Intervalo interquartil	Mediana	Intervalo interquartil	
NIC 1-2 mm	8,00	16,00 - 2,00	5,0	10,00 - 0,00	0,01
NIC 3-4 mm	6,00	10,00 - 3,00	7,5	13,00 - 4,00	<0,01
NIC ≥ 5mm	1,00	4,00 - 0,00	2,00	5,00 - 1,00	0,11
IgG1 anti-extrato	0,900	0,436 – 1,242	0,826	0,541 – 1,358	0,97
IgG1 anti-rHmuY	0,323	0,212 – 0,500	0,323	0,238 – 0,506	0,53
IgG1 anti-Kgp12	0,547	0,370 – 0,835	0,527	0,373 – 0,922	0,82

Esse resultado confirmando a hipótese nula pode ter ocorrido em função da quantidade de amostras de soro analisadas inferior à calculada, o que pode ter acarretado em perda de poder do teste estatístico. Além disso, neste trabalho não foi abordada a participação de outras subclasses, que podem estar atuando mais efetivamente na associação estudada. Destaca-se também a participação de outras bactérias na disbiose periodontal, cujo dano ao hospedeiro é mais decorrente da ação conjunta do microbioma nosossimbiótico do que da ação isolada de microrganismos patogênicos (FALCÃO, 2020). É necessário ressaltar que a condição periodontal dos participantes do grupo caso foi pior quando comparados com os participantes do grupo sem reação. O nível de inserção clínica (NIC) é um importante descritor periodontal, que demonstra a quantidade de perda do periodonto de sustentação ocorrida (PRESHAW e TAYLOR, 2012). Sendo assim, supõe-se que a condição periodontal dos indivíduos com reação hansênica esteja mais precária do que a dos indivíduos sem reação hansênica. Sugere-se, então, o tratamento periodontal e a vigilância odontológica associadamente à poliquimioterapia (PQT) nos indivíduos que tenham diagnóstico de periodontite concomitante às reações hansênicas, com o objetivo controlar esse quadro infeccioso e inflamatório bucal, mesmo que não seja possível estabelecer uma relação de causalidade.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A imunoglobulina G, subclasse 1, contra antígenos de *Porphyromonas gingivalis*, não se mostrou um bom marcador laboratorial para a predição de reação hansênica. Entretanto,

a pior condição periodontal nos indivíduos com reação hansênica demanda atenção para esse foco de infecção e inflamação.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, F.M. et al. Differential immunoglobulin and complement levels in leprosy prior to development of reversal reaction and erythema nodosum leprosum. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 1, e0007098, 2019. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007089
- CORTELA, D. C. et al. Inflammatory mediators of leprosy reactional episodes and dental infections: a systematic review. **Mediators of inflammation**, n. 548540, 2015. DOI: 10.1155/2015/548540 44
- FALCÃO, M.M.L. **Avaliação de marcadores imunológicos e microbiológicos relacionados à periodontite na reação hansênica**. 111f. Tese (Doutorado em Imunologia). Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, Salvador, 2020. Disponível em: acesso restrito.
- GOMES-FILHO, I. S. et al. Clinical diagnosis criteria for periodontal disease: an update. **Journal of Dental Health, Oral Disorders & Therapy**, v. 9, n. 5, p.354–356, 2018. DOI: 10.15406 / jdhodt.2018.09.00408
- HAJISHENGALLIS, G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. **Nature Reviews. Immunology**, v.15, p. 30–44, 2015. DOI: 10.1038/nri3785
- KIFAYET, A.; HUSSAIN, R. Selective decrease of *M. leprae*-specific IgG1 and IgG3 antibodies in leprosy patients associated with ENL. **International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases**, v. 64, n. 2, p. 105-114, 1996. PMID: 8690967.
- KINANE, D. F.; STATHOPOULOU, P. G.; PAPAPANOU, P. N. Periodontal diseases. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, p. 17038, 2017. DOI: 10.1038/nrdp.2017.38
- OLCZAK, T. et al. *Porphyromonas gingivalis* hmuY and hmuR – further characterization of a novel mechanism of heme utilization. **Archives of Microbiology**, v. 183, p. 197-210, 2008. DOI: 10.1007/s00203-007-0309-7
- PRESHAW, P. M.; TAYLOR, J. J. **Patogênese periodontal**. In: **Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza Periodontia Clínica**. 11 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. ISBN: 9788535245400
- RANGANATHAN, A. et al. Periodontal findings in patients with Hansen's disease. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 7, p. S108-S110, 2014. DOI: 10.1016 / S1995-7645 (14) 60214-5
- SANTOS-LIMA, E. K. N. et al. Novel synthetic peptide derived from *Porphyromonas gingivalis* Lys-gingipain detects IgG-mediated host response in periodontitis. **Anaerobe**, v. 61, p. 102140, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2019.102140>
- SOUSA, J. R.; SOTTO, M. N., SIMÕES QUARESMA, J. A. Leprosy as a complex infection: breakdown of the Th1 and Th2 immune paradigm in the immunopathogenesis of the disease. **Frontiers in Immunology**, v. 8, p. 1635, 2017. doi:10.3389/fimmu.2017.01635
- TRINDADE, S. C. et al. Antibody response to a chromatographic fraction of *Porphyromonas gingivalis* and its correlation with periodontal status. **Revista Odonto Ciência** (PUCRS. IMPRESSO), v. 22, n. 57, p. 197-203, 2007. ISSN-L: 0102-9460.
- TRINDADE, S. C. et al. Induction of interleukin IL-1 α , IL-10, IL-8 and immunoglobulin G by *Porphyromonas gingivalis* HMUY in humans. **Journal Periodontal Research**, v. 47, n. 1, 27-32, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2011.01401.x>

TRINDADE, S. C. et al. Serum antibody levels against *Porphyromonas gingivalis* extract and its chromatographic fraction in chronic and aggressive periodontitis. **Journal of the International Academy of Periodontology**, v. 10, n. 2, p. 50-58, 2008. PMID: 18564729.