

**ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
BIOLOGIA MOLECULAR E IMUNOLOGIA**

**“IMPORTÂNCIA DA PESQUISA MOLECULAR DA DEFICIÊNCIA DE  
MIELOPEROXIDASE EM MULHERES COM CANDIDÍASE VAGINAL  
RECORRENTE”**

*Aluna: ALINE EMANUELLE PERIM  
Professor: PROF. DR. LUIZ CARLOS DE MATTOS*

**São José do Rio Preto - 2012**

# **Impotância da pesquisa molecular da deficiência de mieloperoxidase em mulheres com candidíase vaginal recorrente**

## **Introdução**

A Candidíase Vulvovaginal (CVV) está relacionada como uma das doenças fúngicas mais comuns do meio vaginal. É provocada pela *Candida* sp que é uma levedura proveniente da microbiota vaginal, mas que quando aumentada em algumas mulheres, provoca uma vaginite irritante, em muitos casos, pode causar uma infecção do trato urinário, devido ao acompanhamento de uretrite e disúria. O gênero *Candida* apresenta diversas espécies, sendo a *C. albicans* responsável por cerca de 90% das infecções humanas.

Estima-se que uma grande parte da população mundial de mulheres adultas, em alguma ocasião de suas vidas, manifesta a doença, e em muitas delas a doença é recorrente, ou seja quatro ou mais episódios em um período de 12 meses (SIDRIM e ROCHA, 2004).

Os sintomas geralmente são prurido, ardor e a secreção constantes que podem provocar um importante distúrbio psicológico, em especial naquelas com candidíase vaginal crônica ou recorrente. Essa sintomatologia pode ainda agravar-se durante a micção, coito, exploração ginecológica ou mesmo, quando a paciente se deita (SIDRIM e ROCHA, 2004).

A candidíase pode se apresentar de duas formas: não complicada (candidíase vulvovaginal esporádica, candidíase vulvovaginal de grau leve a moderado, candidíase frequentemente associada à *C. albicans* e candidíase na ausência de gravidez) e complicada (candidíase vulvovaginal recorrente, candidíase vulvovaginal severa, candidíase por espécies não-albicans e alterações do hospedeiro) (SOBEL *et al*, 1998). O quadro 1 mostra as principais características dessas duas formas.

**QUADRO 1** – Características da CVV não-complicada e complicada

<b>CVV Não-complicada</b>	<b>CVV Complicada</b>
Episódios infreqüentes	Recorrente (> ou = 4 surtos/ano)
CVV leve a moderada	CVV severa
Provavelmente causada por <i>Candida albicans</i>	<i>Candida</i> não- <i>albicans</i>
Mulheres imunocompetentes	Mulheres com diabetes não controlado debilitadas, imunossuprimidas ou gestantes

Fonte: CDC-MMWR, 2002.

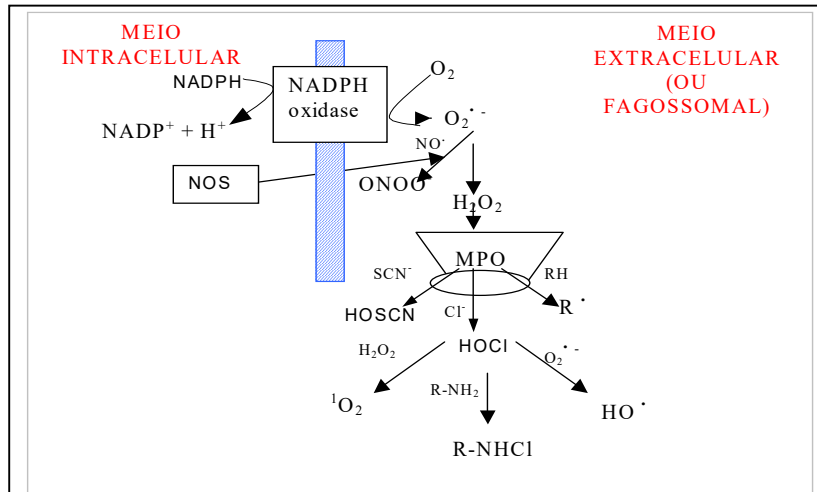
## **Resposta Imune na Candidíase Vulvovaginal**

A resposta imune celular é um dos principais mecanismos de proteção da mucosa vaginal mediante desenvolvimento de resposta imune local. As células de defesa controlam o crescimento bacteriano e fúngico, mediante ativação de mecanismos de fagocitose. Havendo falha da imunidade celular, com a exposição da mucosa vaginal aos antígenos, pode ocorrer o desenvolvimento de infecções vaginais (GIRALDO *et al*, 2006).

Acredita-se que a CVV recorrente esteja relacionada com uma depressão nos processos imunes da mucosa normal, o que permitiria certa "tolerância" da mucosa ao microrganismo. Pelo fato de ser encontrada alta incidência de CVV recorrente em mulheres com imunidade celular (IC) prejudicada, como pacientes sob terapia com corticosteróides, transplantados ou pacientes portadores do vírus HIV, têm-se postulado que deficiências na IC específica contra *Candida* desempenhem papel importante na susceptibilidade à CVV primária e particularmente à CVV recorrente (ÁLVARES *et al*, 2007).

O principal componente da imunidade celular é o neutrófilo que para destruir os patógenos fagocitados, utiliza procedimentos oxidativos e não oxidativos. A mieloperoxidase é o principal componente dos grânulos azurófilos dos neutrófilos (BAINTON, 1971), tendo como principal reservatório os PMN, representando 2 - 5 % do peso da célula (AGNER, 1941; SCHULTZ e KAMINKER, 1962). Esta enzima tem um importante papel na morte de microrganismos durante as infecções. Na presença de

$H_2O_2$ , ela catalisa a oxidação de  $(Cl^-)$  à  $HOCl$ , esse produto reativo é liberado no fagossomo e atua como agente bactericida; a  $H_2O_2$  é formada por leucócitos durante o "burst" respiratório (mecanismo oxidativo de morte bacteriana) via ânion superóxido ( $O_2^-$ ) (FOOTE *et al*, 1983).



A deficiência de Mieloperoxidase (MPO) foi reconhecida recentemente como a mais comum das desordens congênitas de PMN, ocorrendo em aproximadamente 1 caso a cada 2.000 pessoas (ABRAMSON e WHEELER,1993), sendo que aparentemente é um distúrbio transmitido autossomicamente (LEE *et al*, 1998). A MPO normal é produto de um único gene no cromossomo 17 e existem evidências que ambos os defeitos pré-translocacional e pós-translocacional podem acompanhar o defeito genético. O fato desses pacientes serem classificados como indivíduos saudáveis, por não apresentarem riscos aumentados de contraírem infecções, dificultava seu diagnóstico no passado (ABRAMSON e WHEELER,1993).

Neutrófilos deficientes em MPO fagocitam normalmente bactérias e fungos e a ingestão é seguida por uma vigorosa exacerbação respiratória, entretanto, a destruição bacteriana fica um pouco retardada atingindo níveis normais apenas após um a três dias. A raridade das infecções clínicas encontradas em indivíduos deficientes da MPO comprovam que ele possui mecanismos microbicidas independentes da MPO; embora ingeridas normalmente, várias espécies de *Candida* e *Aspergillus* são deficientemente eliminados, quando o são, e vários pacientes deficientes em MPO, sofreram de infecção fúngica disseminada (LEE *et al*, 1998).

Estudos sobre a estrutura e função da MPO foram inicialmente dificultados pela disponibilidade de material, por requerer quantidades grandes de

células humanas. O recente isolamento, clonagem e caracterização de genes humanos da MPO, baseados em bibliotecas de DNA de células HL60 (promielócitos neoplásicos), possibilitaram o estudo ao nível molecular dessa enzima tanto em indivíduos saudáveis como em suas deficiências (CHANG, 1986; JOHNSON, 1987; MORISHITA, 1987; WIEDEMANN, 1888; YAMADA, SUGIMURA, 1981).

Segundo LEE *et al*, 1998, neutrófilos PMN de indivíduos normais e deficientes de MPO contem uma proteína de 89000 dáltons que é imunoquimicamente afim à MPO e que supõe seja uma proteína precursora. Entretanto, os neutrófilos normais contêm vários peptídios menores (59000 e 13500 dáltons) que reagem com os anticorpos anti-MPO e que, segundo se acredita sejam as subunidades de MPO. Em um estudo, neutrófilos completamente deficientes de MPO não possuíam qualquer dessas subunidades, mas continham a proteína precursora, enquanto que neutrófilos parcialmente deficientes em MPO continham quantidades menores tanto da proteína precursora quanto das subunidades derivadas desta molécula. Visto que a análise pelo “Southern blot” para as sequências relacionadas à MPO demonstram que o DNA genômico para as sequências afins à MPO é idêntico ao DNA dos neutrófilos normais e visto que o mRNA dos precursores mielóides dos controles e dos indivíduos completamente deficientes e MPO tinham as mesmas dimensões e estavam presentes nas mesmas quantidades, o defeito genético nesses pacientes deficientes em MPO provavelmente resulta na formação de uma pró-MPO codificada que passa por um processamento pós-translacional defeituoso. Em outros estudos, pesquisadores não detectaram a proteína precursora de 89000 dáltons, tendo sugerido que a deficiência de MPO resulta de uma variedade de defeitos, como no caso da talassemia.

Embora previamente descrita como um distúrbio genético raro, a deficiência hereditária de MPO é relativamente comum nos Estados Unidos e na Europa, com prevalência de 1:2.000 a 1:5.000 indivíduos, sendo menos freqüente no Japão, 1:55.0009. Uma variedade de mutações que resultam na deficiência de MPO tem sido relatada. Estas afetam a biossíntese de MPO, impedindo que a enzima seja processada até a fase madura ou apresente baixa atividade de peroxidase. Alguns polimorfismos são descritos para o gene da MPO, incluindo um polimorfismo funcional localizado na região promotora do gene que afeta sua transcrição. O polimorfismo – 463 G/A, que consiste na substituição de G por A na posição 463pb, provoca redução da expressão de MPO no genótipo AA, níveis intermediários no GA e maior quantidade de MPO intracelular no genótipo GG. (ROMAN *et al*, 2007)

## **Conclusão**

Este trabalho vem mostrar a importância de uma pesquisa de mutações no gene da MPO em mulheres com candidíase vaginal recorrente, já que estudos anteriores afirmam que a morte de cândida apresenta-se retardada em indivíduos portadores da deficiência de mieloperoxidase. Portanto torna-se necessário a utilização de novas tecnologias de pesquisas moleculares que venham esclarecer se a recorrência de dessa doença em algumas mulheres é devido a um fator hereditário.

## Referências

- AGNER, K. Crystalline myeloperoxidase. **Acta Chem**, 261: 8370-75, 1958.
- AGNER, K. Verdoperoxidase. A ferment isolated from leucocytes. **Acta Physiol. Scand.**, 2 (8): 1-62, 1941.
- ÁLVARES, C. A.; SVIDZINSK, T. I. E.; CONSOLARO, M. E. L. Candidíase Vulvovaginal: Fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, 43 (5), set/out. 2007.
- BAINTON, D. F.; ULLVOT, J. L.; FARQUHAR, M. G. The development of neutrophilic polymorphonuclear leukocytes in human bone marrow. **Journal of Experimental Medicine**, 134: 907, 1971.
- CHANG, S. K.; TRUJILLO, J. M.; COOK, R. G.; STASS, S. A. Human myeloperoxidase gene: Molecular cloning and expression in leukemic cells. **Blood**, 68: 1411-1414, 1986.
- FOOTE, C. S.; GOYNE, T. E.; LEHRER, R. I. Assessment of chlorination by human neutrophils. **Nature**, 301: 715-716, 1983.
- GIRALDO, C. P.; FEITOZA, S. B. N.; GONÇALVES, A. K.; CORNETTA, M. C. M.; ELEUTÉRIO, J. J.; TRISTÃO, A. R. A Resposta Imune Celular da Mucosa Vaginal às Vulvovaginites. **DST – J Bras Doenças Sexualmente Transmissíveis**, Rio de Janeiro, 18(4): 263-265, 2006.
- JOHNSON, K. R.; NAUSEEF, W. M.; CARE, A.; WHEELLOCK, M. J.; SHANE, S.; HUDSON, S.; KOEFFLER, H. P.; SELSTED, M.; MILLER, C.; ROVERA, G. Characterization of cDNA clones for human myeloperoxidase: Predicted amino acid sequence and evidence for multiple mRNA species. **Nucleic Acids Res.**, 15 (5): 2013-28, 1987.

LEE, G. R.; BITHELL, T. C.; FOERSTER, J.; WATHENS, J.; LUCKENS, J. N. **Wintrobe Hematologia Clínica.**, 2 ed. São Paulo: Editora Manole Ltda, 1998.

MORISHITA, K.; KUBOTAS, N.; ASANO, S.; KAZIRO, Y.; NAGATA, S. Molecular cloning and characterization of cDNA for human myeloperoxidase. **J. Biol. Chem**, 262 (8): 3844-51, 1987.

ROMAM, R. M.; POLANCZYK, C. A.; WENDLAND, A. E. Mieloperoxidase e Doença Arterial Coronariana: da Pesquisa à Prática Clínica. **Scielo Brasil**, São Paulo, 91 (1).

SCHULTZ, J.; KAMINKER, K. Myeloperoxidase of the leukocyte of normal human blood. I. Content and localization. **Arch. Biochem. Biophys**, 98: 465-471, 1962.

SIDRIM, J. J. C., ROCHA, M. F. G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**: Dermatofitoses. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 2004.

SOBEL, J. D.; FARO, S.; FORCE, R. W. *et al.* Vulvovaginal candidíases: Epidemiologic, diagnostic and therapeutic considerations. **Am J Obstet Gynecol**, 178: 203-211, 1998.

YAMADA, M.; MORI, M.; SUGIMURA, T. Purification and characterization of small molecular weight myeloperoxidase from human promyelocytic leukemia HL-60 cells, **Biochemistry**, 20: 766-771, 1981