



**Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonalty Rocha  
Maria Vitória Laurindo  
(Organizadores)**

**As Ciências Biológicas e da  
Saúde na Contemporaneidade 2**

**Atena**  
Editora  
Ano 2019

Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonaly Rocha  
Maria Vitória Laurindo  
(Organizadores)

# As Ciências Biológicas e da Saúde na Contemporaneidade 2

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação e Edição de Arte:** Natália Sandrini e Lorena Prestes

**Revisão:** Os autores

### Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

C569 As ciências biológicas e da saúde na contemporaneidade 2 [recurso eletrônico] / Organizadores Nayara Araújo Cardoso, Renan Rhonalty Rocha, Maria Vitória Laurindo. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (As Ciências Biológicas e da Saúde na Contemporaneidade; v. 2)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: World Wide Web.

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-216-6

DOI 10.22533/at.ed.166192803

1. Ciências biológicas. 2. Biologia – Pesquisa – Brasil. 3. Saúde – Brasil. I. Cardoso, Nayara Araújo. II. Rocha, Renan Rhonalty. III. Laurindo, Maria Vitória. IV. Série.

CDD 574

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

## APRESENTAÇÃO

A obra “As Ciências Biológicas e da Saúde na Contemporaneidade” consiste de uma série de livros de publicação da Atena Editora, em seus 22 capítulos do volume II, apresenta a importância do desenvolvimento de novas pesquisas nos âmbitos da saúde e da natureza e ainda a relevância da busca de novas terapias para o tratamento de variadas patologias.

O desenvolvimento de pesquisas no campo da saúde representa uma ferramenta importante para a busca de novas estratégias para o diagnóstico, acompanhamento do curso e tratamento de doenças. É na área da saúde que a biotecnologia encontra algumas de suas aplicações mais benéficas e abrangentes. Por meio de diferentes vertentes biotecnológicas, como a produção e atuação de organismos geneticamente modificados; a engenharia genética, que permite qualquer tipo de alteração em nível de DNA e experimentos empregando espécies vegetais e/ou compostos isolados para o desenvolvimento de terapias alternativas e aprimoramento das terapias convencionais.

Atualmente a busca por novos compostos com atividade terapêutica é feita majoritariamente através da experimentação de produtos naturais, uma vez que muitos destes têm comprovadas cientificamente suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias, antineoplásicas, analgésicas, entre outras.

Desse modo, este volume II apresenta artigos que tratam: das propriedades antioxidantes de espécies vegetais como o alecrim e o chá verde; estudos microbiológicos e de toxicidade de espécies vegetais e animais; caracterização de ácidos nucleicos e proteínas; emprego da engenharia genética para elucidação de mecanismos de ação e desenvolvimento e experimentação de alimentos funcionais. Assim, esta obra é dedicada aos pesquisadores da área de saúde, que buscam reciclar seus conhecimentos por meio de pesquisas relevantes e se atualizar perante às novas tecnologias e descobertas científicas e biotecnológicas aplicadas às áreas da saúde.

Portanto, esperamos que este livro possa estimular outros estudantes e profissionais de saúde ao desenvolvimento de pesquisas e estudos a fim de incorporar à literatura referências atualizadas e possibilitar a aplicabilidade dos resultados dessas pesquisas às práticas profissionais diárias.

Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonalty Rocha  
Maria Vitória Laurindo

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
A BIOLOGIA SINTÉTICA E ENGENHARIA METABÓLICA PARA DESENVOLVIMENTO DE SOLUÇÕES EM BIOTECNOLOGIA	
Mauricio Schiavo Gabriel Dall'Alba Mauricio Moura da Silveira Sergio Echeverrigaray	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928031</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>18</b>
A CONSTRUÇÃO DE MODELOS DIDÁTICOS DA ESTRUTURA DO DNA COM MATERIAIS ALTERNATIVOS: CRIANDO E APRENDENDO	
Maria da Conceição dos Reis Leal João Gabriel Rangel Gonçalves	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928032</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>28</b>
ALECRIM ( <i>Rosmarinus officinalis</i> L.): EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES E SUA IMPORTÂNCIA NO CONTROLE DA DOENÇA MANCHA FOLIAR EM PLANTAS DE CEVADA	
Fernando Luquis Brenda Mery Santos de Godoy Cristiane Santana Garcia Victor Alves Franklin Luciana Leite Oliveira Nilsa Sumie Yamashita Wadt Vinicius de Oliveira Cardoso Erna Elisabeth Bach	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928033</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>37</b>
ALELOPATIA DE EXTRATOS AQUOSOS DE <i>Eragrostis lugens</i> Nees. NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE <i>Oryza sativa</i> L	
Daniela Sponchiado Jéssica Cezar Cassol Douglas de Lima Righi Lucas Menezes Jorge Eduarda Mena Barreto Juçara Terezinha Paranhos	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928034</b>	

**CAPÍTULO 5 ..... 45**

AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE DE *COMBRETUM LEPROSUM MART.*: TESTE *ALLIUM CEPA*

Raidan Costa Rodrigues  
Valéria Moura de Carvalho  
Jadielson da Silva Santos  
Brenda Lois Barros dos Santos  
Andressa Jordanne Pereira Ramos  
Cairo Hilbert Santos de Melo  
Juliane Moreira Ramos  
Elizângela de Carvalho Nunes  
Sâmya Katya Barros Guimarães  
Wanderson Ferreira Martins  
Adão Correia Maia  
Kelly Maria Rêgo da Silva  
Mateus Sávio Amorim  
Antonio Lima Braga

**DOI 10.22533/at.ed.1661928035**

**CAPÍTULO 6 ..... 50**

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE ALECRIM (*ROSMARINUS OFFICINALIS*) E CHÁ VERDE (*CARMELLIA SINENSIS*) EM LINGUIÇAS FRESCAL BOVINA

Thaiza Cidarta Melo Barbosa  
Juliana Nobrega Clemente  
Karina da Silva Chaves  
Sthelio Braga da Fonseca  
Bruno Ranieri Lins de Albuquerque Meireles

**DOI 10.22533/at.ed.1661928036**

**CAPÍTULO 7 ..... 61**

AVALIAÇÃO DO USO DE AÇÚCAR NA TERAPIA TÓPICA DE FERIDAS

Ingrid dos Santos Farias  
Emanuelle Karine Frota Batista  
Hebelys Ibiapina da Trindade  
Janayna Batista Barbosa de Sousa Muller  
Maria José Lima Nascimento  
Evanita da Rocha Luz  
Maria do Carmo de Souza Batista

**DOI 10.22533/at.ed.1661928037**

**CAPÍTULO 8 ..... 71**

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA VITAMINA C SOBRE A DEFESA ANTIOXIDANTE ENZIMÁTICA NA FASE AGUDA DA DOENÇA DE CHAGAS EM CAMUNDONGOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS COM A CEPA QM2 DE *Trypanosoma cruzi*

Patrícia Milani de Moraes  
Bruna de Lima Pereira  
Ludmyla Toller Cocco  
Luciamare Perinetti Alves Martins

**DOI 10.22533/at.ed.1661928038**

**CAPÍTULO 9 ..... 84**

AValiação DOS ÍndICES DE REGENERAÇÃO HEPÁTICA NO MODELO EXPERIMENTAL DE HEPATECTOMIA A 70%

Luz Marina Gonçalves de Araujo Oliveira  
Pedro Luiz Squilacci Leme  
Maria Cristina Chavantes

**DOI 10.22533/at.ed.1661928039**

**CAPÍTULO 10 ..... 94**

BIOTECNOLOGIA NO CONTROLE DE MOSQUITOS TRANSMISSORES DE ARBOVIROSES: BIOENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA EM MOSQUITOS ADULTOS

Fabíola da Cruz Nunes  
Louise Helena Guimarães de Oliveira  
Patrícia Alexandria Paiva Silva de Sousa  
Hyago Luiz Rique

**DOI 10.22533/at.ed.16619280310**

**CAPÍTULO 11 ..... 103**

COMPOSTOS BIOATIVOS E POTENCIAL NUTRACÊUTICO DO FRUTO DE BURITI (*Mauritia flexuosa* L) NA TERAPIA COADJUVANTE EM PORTADORES DE DISLIPIDEMIA

Joilane Alves Pereira-Freire  
Vivianne Rodrigues Amorim  
Fernanda Maria de Carvalho Ribeiro  
Stella Regina Arcanjo Medeiros  
Jurandy do Nascimento Silva  
Paulo Michel Pinheiro Ferreira

**DOI 10.22533/at.ed.16619280311**

**CAPÍTULO 12 ..... 116**

DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS DE ALGINATO DE CÁLCIO PARA IMOBILIZAÇÃO DE *Chlorella vulgaris*

Felipe de Albuquerque Santos  
Eduardo Bittencourt Sydney  
Alessandra Cristine Novak Sydney

**DOI 10.22533/at.ed.16619280312**

**CAPÍTULO 13 ..... 127**

DESENVOLVIMENTO DE PÃO DE FORMA CONTENDO FARINHA MISTA DE MARACUJÁ E JABUTICABA

Jamilly Salustiano Ferreira Constantino  
Julice Dutra Lopes

**DOI 10.22533/at.ed.16619280313**

**CAPÍTULO 14 ..... 143**

DETERMINAÇÃO DO EHL (EQUILÍBRIO-HIDROFÍLICO LIPOFÍLICO) DO ÓLEO DE ABACATE

Laíssa Aparecida Praxedes dos Reis  
Alessandra Cristine Novak Sydney

**DOI 10.22533/at.ed.16619280314**

**CAPÍTULO 15 ..... 150**

ESTUDO DA TOXICIDADE DE *Combretum leprosum* Mart.: TESTE *ALLIUM CEPA*

Valéria Moura de Carvalho  
Raidan Costa Rodrigues  
**Kelly Maria Rêgo da Silva**  
Elizângela de Carvalho Nunes  
Sâmya Katya Barros Guimarães  
Brenda Lois Barros dos Santos  
Cairo Hilbert Santos de Melo  
Juliane Moreira Ramos  
Wanderson Ferreira Martins  
Gabrielle Costa Bento Campos  
Adão Correia Maia  
Antonio Lima Braga  
Jadielson dos Santos

**DOI 10.22533/at.ed.16619280315**

**CAPÍTULO 16 ..... 155**

ESTUDO E MODELAGEM CINÉTICA HETEROGÊNEA DA REAÇÃO DE CETALIZAÇÃO DO GLICEROL COM ACETONA UTILIZANDO ZEÓLITAS DO TIPO H-BEA E H-FER COMO CATALISADORES

Vinicius Rossa  
Gisel Chenard Díaz  
Yordanka Reyes Cruz  
Sibele Berenice Castellã Pergher  
Donato Alexandre Gomes Aranda

**DOI 10.22533/at.ed.16619280316**

**CAPÍTULO 17 ..... 171**

ESTUDOS MICROBIOLÓGICOS DAS FOLHAS DA *Eugenia uniflora* Linn. (PITANGA)

Giovanna Gabrielly Alves da Silva Fraga  
Maria Gabrielle de Oliveira Tabosa  
Emilay Lira de Freitas  
Leticia Vieira dos Santos Beserra  
Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo  
Risonildo Pereira Cordeiro

**DOI 10.22533/at.ed.16619280317**

**CAPÍTULO 18 ..... 177**

NEW PROCESS FOR OBTAINING NANOCHITOSAN / BURITI OIL (*Mauritia flexuosa*) BIOCOMPOSITE: A BIOMATERIAL FOR REGENERATIVE MEDICINE AND TISSUE ENGINEERING

Júlia Silveira Broquá  
Luciano Pighinelli  
Magda Comoretto Gall  
Jader Figueiredo  
Giovani André Piva  
Lucas Eduardo Lopes  
Machado, Pamela Persson  
Anderson Rockenbach  
Renata Pospichil  
Luan Rios Paz  
Fernando Guimarães  
Gabrielle Zanin  
Marzena Kmiec Pighinelli

**DOI 10.22533/at.ed.16619280318**

**CAPÍTULO 19 ..... 192**

*PORPHYROMONAS GINGIVALIS* NA PERIODONTITE: POR QUE ESTUDAR SEUS FATORES DE VIRULÊNCIA COM FERRAMENTAS *IN SILICO*?

Ellen Karla Nobre dos Santos-Lima  
Larissa de Mattos Oliveira  
Michelle Miranda Lopes Falcão  
Manoelito Coelho dos Santos Junior  
Márcia Tosta Xavier  
Soraya Castro Trindade

**DOI 10.22533/at.ed.16619280319**

**CAPÍTULO 20 ..... 211**

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOSURFACTANTES PRODUZIDOS POR *Bacillus subtilis* A PARTIR DO EXTRATO AQUOSO DA ALGAROBA [*Prosopis juliflora* (SW) DC] COMO SUBSTRATO NÃO CONVENCIONAL

Adrielly Silva Albuquerque de Andrade  
Emanuele Cardoso Dias  
Napoleão José de Oliveira Neto  
Graciana Clécia Dantas  
Adna Cristina Barbosa de Sousa  
Andréa Farias de Almeida

**DOI 10.22533/at.ed.16619280320**

**CAPÍTULO 21 ..... 224**

SUPLEMENTAÇÃO COM DIFERENTES NUTRACÊUTICOS ATENUA PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS CARACTERÍSTICOS DO TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA

Ana Olívia Martins Laurentino  
Naiana da Rosa  
Tamires Mateus Gomes  
Eduardo de Medeiros Peretti  
Fabiana Durante de Medeiros  
Jucélia Jeremias Fortunato

**DOI 10.22533/at.ed.16619280321**

**CAPÍTULO 22 ..... 231**

USO DO EXTRATO DE *Ganoderma lucidum* NO CONTROLE DA MANCHA FOLIAR EM PLANTAS DE CEVADA PROTEGENDO O MEIO AMBIENTE

Ricardo Zanirato da Costa Fernandes  
Lorena de Cássia Barboza Pires  
Jessica Pojato da Silva  
Joseanne Meira Cambuí  
Edgar Matias Bach Hi  
Vinicius de Oliveira Cardoso  
Erna Elisabeth Bach

**DOI 10.22533/at.ed.16619280322**

**SOBRE OS ORGANIZADORES..... 239**

## *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* NA PERIODONTITE: POR QUE ESTUDAR SEUS FATORES DE VIRULÊNCIA COM FERRAMENTAS *IN SILICO*?

### **Ellen Karla Nobre dos Santos-Lima**

Universidade Federal da Bahia, Programa de Pós-graduação em Imunologia  
Salvador – Bahia

### **Larissa de Mattos Oliveira**

Universidade Estadual de Feira de Santana,  
Programa de Pós-graduação em Biotecnologia  
Feira de Santana – Bahia

### **Michelle Miranda Lopes Falcão**

Universidade Estadual de Feira de Santana,  
Departamento de Saúde  
Feira de Santana – Bahia

### **Manoelito Coelho dos Santos Junior**

Universidade Estadual de Feira de Santana,  
Departamento de Saúde  
Feira de Santana – Bahia

### **Márcia Tosta Xavier**

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública,  
Curso de Odontologia  
Salvador – Bahia

### **Soraya Castro Trindade**

Universidade Estadual de Feira de Santana,  
Departamento de Saúde  
Feira de Santana – Bahia

**RESUMO:** *Porphyromonas gingivalis* é um dos principais microrganismos envolvidos na etiologia da periodontite. Induz a inflamação, mas também evade a resposta imune, devido aos seus fatores de virulência, como

gingipaínas, HmuY e neuraminidase. Estudos sobre a imunogenicidade de seus fatores de virulência podem contribuir para o entendimento da resposta do hospedeiro à infecção. Dessa forma, a presente revisão aborda tais proteínas e a relevância de se utilizar ferramentas *in silico* em estudos dos fatores de virulência de *P. gingivalis*, os quais podem esclarecer a patogênese, a evolução e a influência em condições sistêmicas da periodontite, bem como auxiliar a emissão do prognóstico da doença e o tratamento de casos refratários.

**PALAVRAS-CHAVE:** doença periodontal, resposta imune, imunoinformática.

### *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* IN PERIODONTITIS: WHY STUDY ITS VIRULENCE FACTORS WITH *IN SILICO* TOOLS?

**ABSTRACT:** *Porphyromonas gingivalis* is one of the main microorganisms involved in the etiology of periodontitis. It induces inflammation, but it also evades the immune response, due to its virulence factors, such as gingipains, HmuY and neuraminidase. Studies on the immunogenicity of its virulence factors may contribute to the understanding of the host's response to infection. The present study aimed to conduct a literature review to comprehensively

investigate these proteins and the relevance of using *in silico* tools to investigations of *P. gingivalis* virulence factors that can better clarify the pathogenesis and the progression of periodontitis, as well as can help to determine the prognosis of the disease and the more appropriate treatment in refractory cases.

**KEYWORDS:** periodontal disease, immune response, immunoinformatics.

## 1 | INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença multifatorial que acomete os tecidos de proteção e suporte do dente. Pode ocasionar a perda das unidades dentárias acometidas devido à destruição de fibras colágenas e à reabsorção do osso alveolar. Trata-se de uma doença progressiva, caracterizada clinicamente por inflamação gengival, sangramento à sondagem do sulco gengival, perda de inserção periodontal e do osso alveolar e por bolsa periodontal (CATON *et al.*, 2018).

Sua etiopatogenia está relacionada à resposta imune inata e adaptativa diante da presença de um biofilme subgengival sinérgico e disbiótico (HAJISHENGALLIS & LAMBRIS, 2012; HAJISHENGALLIS & LAMONT, 2012). A partir da interação do biofilme disbiótico no ambiente subgengival, poderá ocorrer alteração no equilíbrio da produção de mediadores inflamatórios e, assim, a progressão da doença (ZHOU *et al.*, 2017). Dentre os microrganismos patogênicos presentes no biofilme, destaca-se *Porphyromonas gingivalis*, considerado um patógeno-chave na disbiose oral (HAJISHENGALLIS, 2014).

O desenvolvimento de mecanismos específicos de interação do patógeno com o seu hospedeiro (ABDI *et al.*, 2017) fortalece a necessidade de compreender de que forma as moléculas estruturais e metabólicas sintetizadas por *P. gingivalis* contribuem para o desenvolvimento da doença periodontal (NAKAGAWA *et al.*, 2006; GUO *et al.*, 2010; SMALLEY & OLCZAK, 2017). Do mesmo modo, justifica-se o estudo de moléculas expressas pelo hospedeiro em resposta à infecção pelo periodontopatógeno, diante da possibilidade da ocorrência de dano tecidual (MOUTSOPOULOS *et al.*, 2012).

O estudo *in silico* é uma ferramenta capaz de auxiliar na compreensão das interações moleculares. Assim, tal abordagem pode ser utilizada para os fatores de virulência, buscando alvos terapêuticos (CUENO *et al.*, 2014) e buscando compreender sua interação com o sistema imune do hospedeiro. As gingipaínas, o sideróforo HmuY e a neuraminidase são exemplos de proteínas sintetizadas por *P. gingivalis*, as quais são consideradas fatores de virulência, contribuindo para sua capacidade de induzir a periodontite (GUO *et al.*, 2010; LI *et al.*, 2012; CARVALHO-FILHO *et al.* 2016; DASHPER *et al.*, 2017).

Identificar peptídeos com atividade imunogênica em tais fatores utilizando abordagens *in silico* pode contribuir para a compreensão da influência do microrganismo na etiologia e patogênese da periodontite, bem como para o entendimento dos mecanismos de resposta do hospedeiro à infecção. Dessa forma, a presente revisão

narrativa da literatura aborda tais proteínas e a relevância de se utilizar ferramentas *in silico* para estudo dos fatores de virulência de *P. gingivalis*.

## 2 | REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Porphyromonas gingivalis, microbioma oral e modelo in silico

*Porphyromonas gingivalis* é uma bactéria pertencente ao filo *Bacteroidetes* (SHAH & COLLINS, 1988). É um bacilo Gram-negativo, anaeróbio estrito, imóvel, proteolítico e forma colônias marrons ou negras em ágar sangue (MAYER *et al.*, 2013). Linhagens de *P. gingivalis* tiveram seu genoma sequenciado para análises comparativas (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/genomes/714>). A linhagem ATCC 33277 (isolada de gengiva humana) é considerada menos virulenta e é utilizada para caracterização patofisiológica do microrganismo (NAITO *et al.*, 2008). Seu genoma foi publicado (NCBI Reference Sequence: NC\_010729.1), bem como, as sequências de suas proteínas e de seus epítomos candidatos têm sido depositadas em bancos de dados públicos *online*, como o do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) e o do *Immune Epitope Database* (IEDB) (NAITO *et al.*, 2008; BITTNER-EDDY *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2016; LEONE *et al.*, 2018). O NCBI apresentou 7.320 itens referentes a proteínas dessa linhagem e o IEDB apresentou apenas 53 epítomos, em 22 de junho de 2018.

Em estudos clássicos, *P. gingivalis* foi agrupado no “complexo vermelho”, junto a *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*. Esse grupo apresentou uma forte relação positiva com os indicadores profundidade de bolsa periodontal e sangramento à sondagem e teve sua colonização precedida pelos microrganismos do “complexo laranja” (*Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium periodonticum*, *Peptostreptococcus micros*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Streptococcus constellatus*, *Eubacterium nodatum*, *Campylobacter showae*, *Campylobacter gracilis* e *Campylobacter rectus*). O biofilme subgengival de indivíduos adultos com periodontite exibiu uma proporção maior de espécies dos complexos vermelho e laranja, as quais foram detectadas em maior número em bolsas  $\geq 3$ mm. O biofilme subgengival analisado apresentou contagem mais alta de *P. nigrescens*, *P. intermedia*, *T. forsythia* e *P. gingivalis*. E os sítios que abrigavam *P. gingivalis* exibiram a maior média de profundidade de bolsa periodontal. Além disso, *P. intermedia* e *P. gingivalis* foram detectados em sítios supragengivais sem concomitante detecção subgengival (SOCRANSKY *et al.*, 1998; XIMÉNEZ-FYVIE, HAFFAJEE & SOCRANSKY, 2000).

Desde então, os conceitos de sucessão microbiana e de interação recíproca desenvolvem-se e enfatizam a importância do relacionamento entre os microrganismos (*quorum sensing*), entres esses e o ecossistema bucal e entre esses e a resposta imune do hospedeiro na doença periodontal. Tal desenvolvimento ocorreu, principalmente, com

o auxílio dos métodos moleculares para acessar o microbioma oral e da bioinformática para analisar e ajudar a compreender os dados gerados (SOCRANSKY & HAFFAJJE, 2005; PLANČAK, MUSIĆ & PUHAR, 2015; GUVEN-MAIOROV, TSAI & NUSSINOV, 2017). Diante da complexidade do microbioma oral (PROCTOR *et al.*, 2018), entender como os microrganismos atuam sinergicamente em um mecanismo de disbiose oral amplia nosso conhecimento sobre a doença periodontal e suas implicações sistêmicas. Nesse cenário, *P. gingivalis* é considerado um patógeno-chave por conseguir interferir na simbiose oral (HAJISHENGALLIS, 2014; 2015; FLETCHER, 2018).

Sabe-se que modelos *in silico* são utilizados para a compreensão de sistemas biológicos, bem como para selecionar, complementar e inspirar os experimentos laboratoriais necessários (KOLLMANN & SOURJIK, 2007; SETTY, 2014; BRODLAND, 2015). Nesse contexto, a imunoinformática traz avanços na imunologia e pode contribuir para a compreensão da resposta imune (LEFRANC, 2014; QIU *et al.*, 2018). A imunoinformática traz ferramentas que proporcionam uma análise ampla dos fatores de virulência de *P. gingivalis* e de outros patógenos periodontais, além disso, contribui para a compreensão da interação entre o microbioma oral e seu hospedeiro. A análise *in silico* possibilita, por exemplo, a predição e a seleção de peptídeos imunogênicos antes de serem sintetizados e testados quanto ao seu potencial biotecnológico, o que diminui os custos na prospecção de moléculas promissoras.

## **2.2 Porphyromonas gingivalis e seus fatores de virulência**

Apenas uma minoria de espécies bacterianas possui a capacidade de causar doenças em humanos e um número relativamente pequeno de genes, os genes de virulência, são responsáveis pela diferença entre um patógeno e outro microrganismo não patogênico estreitamente relacionado. Os produtos desses genes são os fatores de virulência (ALBERTS *et al.*, 2010). Os fatores de virulência dos microrganismos periodontais subdividem-se, basicamente, em fatores que promovem a colonização; toxinas e enzimas que degradam os tecidos do hospedeiro; e mecanismos que protegem as bactérias patogênicas do hospedeiro (TEUGHELIS *et al.*, 2011).

Em sua interação com o sistema imune do hospedeiro, *P. gingivalis* apresenta fatores de virulência que se destacam, tais como capacidade de internalização em células não fagocíticas, polissacarídeos de superfície resistentes ao sistema complemento, fímbrias, lipopolissacarídeo (LPS), proteases (e.g. gingipaínas) que degradam moléculas sinalizadoras e citocinas (PRESHAW & TAYLOR, 2011; DASHPER *et al.*, 2017), a lipoproteína HmuY (CARVALHO-FILHO *et al.*, 2016) e a neuraminidase (XU *et al.*, 2017). A resposta inflamatória do hospedeiro decorrente da infecção por *P. gingivalis* tem como consequência o dano tecidual. Portanto, o estudo do comportamento da célula humana diante do fator de virulência e a mensuração dos níveis, locais e sistêmicos, de moléculas pro e anti-inflamatórias são estratégias empregadas na pesquisa em Periodontia (CARVALHO-FILHO *et al.*, 2013; GÜMÜŞ *et*

al.; KATO *et al.*, 2014).

As proteases são secretadas por *P. gingivalis* para prover nutrientes ao degradar proteínas do hospedeiro, como proteínas estruturais (e.g. colágeno), proteínas do sistema complemento e anticorpos. As cisteínoproteases, denominadas gingipaínas, degradam componentes do sistema complemento, inclusive o fator B, contribuindo para evasão da resposta imune (TEUGHELIS *et al.*, 2011; MAYER *et al.*, 2013). Murakami *et al.* (2004) observaram a diminuição da expressão de alguns fatores de virulência de *P. gingivalis* ATCC 33277, incluindo gingipaínas, com o aumento da temperatura de 37 a 40°C em cultura. Essa característica pode contribuir para evasão da resposta imune no sítio periodontal inflamado, visto que adotar um fenótipo menos inflamatório favorece a sobrevivência de *P. gingivalis*.

Outro fator de virulência relevante, a neuraminidase (sialidase) é expressa por patógenos, incluindo *P. gingivalis*, para a aquisição de ácidos siálicos a partir de sialoglicoconjugados do microambiente (HONMA *et al.*, 2011; GUALDI *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2012; KURNIYATI *et al.*, 2013). Além de serem nutrientes, os ácidos siálicos são incorporados à estrutura bacteriana, ajudando a mimetizar a célula hospedeira e confundindo a resposta imune (LI *et al.*, 2012; STAFFORD *et al.*, 2012). Além disso, assim como outros patógenos (SHTYRYA *et al.*, 2009; BANERJEE *et al.*, 2010; FREIRE-DE-LIMA *et al.*, 2015), *P. gingivalis* pode utilizar a sialidase para seu mecanismo de invasão celular.

Componentes estruturais e metabólicos de *P. gingivalis* constituem fatores de virulência que podem desencadear a resposta imune humoral em humanos. Indivíduos com periodontite apresentaram níveis séricos mais elevados de IgG que reconhece o extrato total sonicado de *P. gingivalis* e a proteína HmuY, enquanto indivíduos sem periodontite exibiram baixa imunorreatividade para esses antígenos (FRANCA *et al.*, 2007; TRINDADE *et al.*, 2008; 2012a). O extrato total *P. gingivalis* constitui-se, basicamente, em proteínas somáticas e de membrana. Tal extrato sonicado de *P. gingivalis* ATCC 33277 e frações proteicas obtidas após *Fast Performance Liquid Chromatography* (FPLC) foram capazes de induzir resposta humoral em pacientes com diferentes tipos de condição periodontal e as frações cromatográficas apresentaram distintos perfis de resposta em Western Blotting. Diferentes níveis de imunoglobulinas A e G e subclasses de IgG foram encontrados em soros de indivíduos com gengivite e periodontite (TRINDADE *et al.*, 2008). O sequenciamento e a identificação de peptídeos antigênicos em fatores de virulência presentes nas frações cromatográficas de *P. gingivalis* podem contribuir para a compreensão da influência deste patógeno na etiologia da doença periodontal.

### 2.3 Fator de virulência gingipaína

As gingipaínas são as principais proteases de *P. gingivalis* (GUO *et al.*, 2010) e uma das suas principais funções é a aquisição de ferro, um nutriente essencial

para essa bactéria (SMALLEY & OLCZAK, 2017). Imamura (2003) revisou a função das endopeptidases *trypsin-like* de *P. gingivalis*, as gingipaínas, na patogênese da doença periodontal, observando que elas contribuem para a evasão dos mecanismos de defesa do hospedeiro.

As gingipaínas pertencem à família das proteases de cisteína, que utilizam um sítio ativo da cisteína residual para catálise (BARRETT & RAWLINGS, 2001). São denominadas Arg-gingipaínas (RgpA e RgpB) ou Lys-gingipaína (Kgp) de acordo com sua capacidade de clivar Arg-xaa ou Lys-xaa. Contudo, as gingipaínas são multifuncionais, apresentando funções de adesão, degradação tecidual e evasão das respostas do hospedeiro, além de contribuírem para a colonização de outros patógenos (TEUGHELS *et al.*, 2011; MAISETTA *et al.*, 2011; BAO *et al.*, 2014; BENGTTSSON, KHALAF & KHALAF, 2015; CHAIYARIT *et al.*, 2018).

Gingipaínas promovem permeabilidade vascular através da liberação de bradicinina, o que contribui para a produção de fluido gengival e formação de edema nos sítios periodontais infectados, suprimindo a nutrição bacteriana. Kgp é a principal gingipaína envolvida na degradação de fibrinogênio, contribuindo para a tendência ao sangramento da gengiva doente (IMAMURA, 2003). As gingipaínas, especialmente Kgp, atuam na degradação de junções de adesão das células epiteliais, o que pode contribuir para a invasão do tecido conjuntivo periodontal por *P. gingivalis* (KATZ *et al.*, 2002). Por essas e outras funções, Kgp é considerada um dos principais fatores de virulência de *P. gingivalis* (de DIEGO *et al.*, 2014). O gene *kgp* da linhagem ATCC 33277 codifica uma endopeptidase composta por 1723 aa, que pode ser clivada em quatro cadeias - a subunidade catalítica e três adesinas (39kDa, 15kDa e 44kDa) - e é secretada no meio extracelular (<http://www.uniprot.org/uniprot/B2RLK2>).

## 2.4 A lipoproteína HmuY

A lipoproteína HmuY é específica de *P. gingivalis* e anticorpos anti-HmuY não reconhecem proteínas homólogas em outros periodontopatógenos (OLCZAK *et al.*, 2010; ŚMIGA *et al.*, 2015). HmuY apresenta-se associada à membrana externa de *P. gingivalis* e é também excretada; sendo, promissora, estudada em sua atividade imunogênica (OLCZAK *et al.*, 2008; WÓJTOWICZ *et al.*, 2009; TRINDADE *et al.*, 2012a; TRINDADE *et al.*; CARVALHO-FILHO *et al.*, 2013).

HmuY foi previamente revisada por Carvalho-Filho *et al.* (2016) e Smalley & Olczak (2017). Assim como as gingipaínas, é uma proteína diretamente envolvida na aquisição de ferro pelo patógeno, porém é produzida quando o nutriente se apresenta em baixa concentração no microambiente (SMALLEY & OLCZAK, 2017). Em células mononucleadas do sangue periférico humanas, HmuY é capaz de induzir morte celular por apoptose tardia e necrose, induzir a produção das citocinas IL-1 $\beta$  e IL-10 e inibir a produção de IL-8 (TRINDADE *et al.*, 2012a; b).

Embora *P. gingivalis* seja tipicamente um patógeno extracelular que induz níveis

mais altos de citocinas IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-22 e IL-23 no hospedeiro (MOUTSOPOULOS *et al.*, 2012), tem a capacidade de invadir células não-fagocíticas do hospedeiro como um de seus fatores de virulência (OLSEN & PROGULSKE-FOX, 2015) e de sobreviver em células fagocíticas, utilizando a proteína HmuY no mecanismo de sobrevivência em macrófagos (GMITEREK *et al.*, 2016). Portanto, esse mecanismo de evasão da resposta imune merece ser mais investigado do ponto de vista da resposta imune intracelular.

## 2.5 A neuraminidase de *Porphyromonas gingivalis*

A neuraminidase é uma sialidase, enzima que reconhece resíduos de ácido siálico presentes nas glicoproteínas e nos glicolípídeos das células do hospedeiro e do microambiente. O ácido N-acetilneuramínico (Neu5Ac), o ácido siálico mais estudado como nutriente, possui atividade antioxidante pela reação de redução do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), atuando como limpador do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em condições fisiológicas, podendo neutralizar sua citotoxicidade. Tal reação pode envolver o resíduo presente na cadeia glicídica e ocorrer em variação de pH (IIJIMA *et al.*, 2004; 2007).

A adição de ácido siálico, a sialilação, é uma das etapas da glicosilação, um dos mecanismos de modificação de proteínas para regulação de sua atividade (NELSON & COX, 2004a; b). Periodontopatógenos como *T. forsythia* e *P. gingivalis* utilizam a glicosilação de suas proteínas para evadir a resposta imune e, assim, persistir no hospedeiro causando destruição periodontal (SETTEM *et al.*, 2013).

Moncla *et al.* (1990) identificaram a atividade de sialidase em *P. gingivalis* (ATCC 33277) ao estudarem anaeróbios Gram-negativos. No entanto, atualmente, estudos da sialidase de *P. gingivalis* ainda são escassos (XU *et al.*, 2017; YANG *et al.*, 2018), comparados a estudos da gingipaína. Aruni *et al.* (2011) observaram três genes relacionados à atividade de sialidase no genoma de *P. gingivalis* W83; destes PG0352 tinha sido anotado como gene hipotético para sialidase e foi confirmado após suas análises *in silico* e *in vitro*. Aruni *et al.* (2011) e Li *et al.* (2012) alinharam as sequências de aminoácidos codificadas pelo gene NanH presente em outras espécies bacterianas, inclusive em *T. forsythia*, em busca de correspondência em *P. gingivalis*. O alinhamento das sequências mostrou que a porção C-terminal da proteína codificada por PG0352 possui um domínio catalítico conservado de neuraminidase, que consiste em um motivo RIP e três motivos Asp-box (LI *et al.*, 2012).

No estudo realizado por Aruni *et al.* (2011), observou-se que a atividade dessa sialidase e das duas sialoglicoproteases relacionadas pode estar envolvida na regulação da atividade de gingipaína e de outros fatores de virulência. Com a alteração da expressão dos três genes (incluindo PG0352), houve a diminuição da atividade de gingipaína, provavelmente por deficiência na sialilação. O mutante para PG0352 utilizado por estes autores apresentou redução de 5% da atividade de sialidase. Li *et al.* (2012) demonstraram que a inativação de PG0352 aboliu completamente a atividade

de neuraminidase, o que sugere que a enzima codificada seja a única neuraminidase de *P. gingivalis*.

O gene PG0352 (*P. gingivalis* W83) codifica uma exo- $\alpha$ -neuraminidase que contribui para formação do biofilme, para a biossíntese da cápsula bacteriana e para a patogenicidade. A mutação deste gene implicou na formação de uma cápsula deficiente, tornando o patógeno mutante menos resistente à ação do complemento. Além disso, os patógenos mutantes apresentaram reduzida virulência em camundongos, após injeção subcutânea (Li *et al.*, 2012). Mutantes isogênicos apresentaram mais sensibilidade ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que o tipo selvagem e foi observada uma alteração na parede celular em tais mutantes, enquanto que o tipo selvagem apresentou uma parede celular intacta (ARUNI *et al.* 2011).

A neuraminidase codificada por PG0352 possui 526 aminoácidos, com uma massa molecular predita de 58,5 kDa, além disso, apresenta um peptídeo de sinalização em sua porção N-terminal, sugerindo ser secretada (LI *et al.*, 2012). Sua modelagem *in silico* permitiu classificá-la estruturalmente em BNR-neuraminidase (ARUNI *et al.*, 2011). O gene PG0352 corresponde a PGN\_1608 em *P. gingivalis* ATCC 33277 (Acesso *GenBank*: 6330303) (NAITO *et al.*, 2008), cuja neuraminidase também possui 526 aa (Acesso *GenBank*: BAG34127.1).

## 2.6 Peptídeos antigênicos de *Porphyromonas gingivalis*

Antígeno é qualquer molécula ou patógeno capaz de promover uma resposta imune, podendo ser um vírus, um fragmento de parede celular bacteriana, uma proteína ou outra macromolécula. Um antígeno complexo pode se ligar a diferentes anticorpos e cada anticorpo ou receptor de célula T liga-se a uma estrutura molecular particular no antígeno, chamada de determinante antigênico ou epítopo (NELSON & COX, 2004c).

As células apresentadoras de antígeno (APC) expressam em sua superfície as moléculas do MHC que se ligam a peptídeos. A maioria dos linfócitos T reconhece apenas peptídeos lineares curtos, pois os receptores de antígenos das células T CD4<sup>+</sup> e T CD8<sup>+</sup> são específicos para antígenos apresentados por moléculas do MHC. Além disso, as células T reconhecem peptídeos lineares e não determinantes de conformação de antígenos proteicos. As CD4<sup>+</sup> reconhecem peptídeos provenientes de proteínas extracelulares, apresentados pelas moléculas MHC de classe II (ROCHA & NEEFJES, 2008; VYAS *et al.*, 2008).

Epítopos imunodominantes candidatos de gingipaínas foram testados em camundongos sob a hipótese que tais peptídeos, que se ligam ao MHC II I-Ab, seriam apresentados às células T CD4<sup>+</sup> durante a colonização oral por *P. gingivalis*. As sequências das proteínas Kgp e RgpA de ATCC 33277 foram analisadas para a triagem desses peptídeos com atividade imunogênica, os quais foram depositados no banco de dados público *online* IEDB (<http://www.iedb.org/sourceOrgId/431947>). O peptídeo na posição 467-477 de Kgp (ID 190728), por exemplo, obteve resultado positivo para

produção de IL-17A e IFN- $\gamma$  quando injetado em *Mus musculus* (<http://www.iedb.org/epld/190728>) (BITTNER-EDDY *et al.*, 2013). Outros peptídeos de Kgp de *P. gingivalis* W50 (ID 170347 / 173279) foram testados em *M. musculus* BALB/c, seguindo-se por reestimulação *in vitro*, com resultado positivo na proliferação de células T (3H-timidina). O peptídeo (ID 170347) também apresentou resultado positivo na produção de IFN- $\gamma$  e de IL-4 (TAM *et al.*, 2008).

Epítopos de Kgp e da neuraminidase de *P. gingivalis* ATCC 33277 foram recentemente obtidos por análise *in silico* das sequências proteicas, testados e depositados no IEDB (Kgp: reference ID 1032999 / neuraminidase: reference ID 1033135). Nesse estudo, todos os peptídeos de Kgp testados foram reconhecidos por IgG presente no soro e o peptídeo Kgp12 fez melhor distinção entre os grupos com periodontite crônica e sem periodontite. Os peptídeos da neuraminidase apresentaram baixo reconhecimento por IgG, o que pode ser favorável para a permanência do patógeno no hospedeiro (SANTOS-LIMA *et al.*, dados não publicados). No IEDB, não foram identificados epítopos referentes à sialidase / neuraminidase de *P. gingivalis* até a publicação decorrente deste trabalho e HmuY ainda não possui epítopos depositados até 07 de novembro de 2018.

O peptídeo sintético Kgp12 conseguiu diferenciar indivíduos com gengivite de indivíduos com periodontite quanto aos níveis de IgG. Em cultura de células mononucleares do sangue periférico (CMSP) humano, os peptídeos Kgp12, 17 e 18 induziram baixas concentrações de IFN- $\gamma$  e Kgp12 foi capaz de diferenciar a resposta entre indivíduos com e sem periodontite quanto a produção desta citocina pois as CMSP de indivíduos sem periodontite foram capazes de produzir maiores concentrações da citocina em presença deste peptídeo. Kgp12 também induziu a produção de IL-6 e IL-1 $\beta$  em CMSP dos mesmos indivíduos (SANTOS-LIMA *et al.*, dados não publicados).

Embora se saiba que a ligação ao MHC seja necessária, mas não suficiente para o reconhecimento do epítipo pelas células T, o uso das análises *in silico* para prever peptídeos imunogênicos mostra-se uma ferramenta útil para estudos de imunogenicidade de patógenos. A análise permite selecionar peptídeos para a síntese química e teste de imunogenicidade, reduzindo o tempo e o custo na busca por resultados promissores. Identificar peptídeos antigênicos em fatores de virulência de *P. gingivalis* pode contribuir para a compreensão da influência do microrganismo na etiologia da doença periodontal, bem como para o entendimento dos mecanismos de resposta do hospedeiro à infecção, visto que tais peptídeos podem ser sintetizados, utilizados em experimentos que avaliem a imunogenicidade do patógeno e podem ser ferramentas úteis em aplicações biotecnológicas para emissão assertiva do prognóstico da doença.

## 2.7 Triagem virtual

As técnicas de triagem virtual, através da utilização de métodos computacionais, também conhecidos pelo termo *in silico*, auxiliam na seleção de compostos orgânicos

promissores do ponto de vista biotecnológico (e.g. novos fármacos) (RODRIGUES *et al.*, 2012; CUENO *et al.*, 2014). Tais métodos podem ser amplamente aplicados à imunologia das doenças periodontais na prospecção de marcadores moleculares para diagnóstico / prognóstico e de peptídeos quimeras para candidatos vacinais; e para compreender a resposta frente aos diversos antígenos.

O conhecimento das estruturas de alvos macromoleculares ou de complexos do tipo ligante-receptor permite a aplicação de estratégias de planejamento de fármacos baseadas na estrutura do receptor (do inglês, *Structure-Based Drug Design - SBDD*). Em contrapartida, quando a estrutura do alvo estudado não é conhecida, métodos de planejamento de fármacos baseados na estrutura de ligantes (do inglês, *Ligand-Based Drug Design - LBDD*) podem ser utilizados, explorando propriedades e características de um conjunto de ligantes bioativos. O uso integrado dessas estratégias pode gerar informações úteis no planejamento de novos fármacos uma vez que os conhecimentos das estratégias se complementam (GUIDO, ANDRICOPULO & OLIVA, 2010).

Tendo em vista a priorização de moléculas com afinidade frente a um alvo molecular em estudo, é possível utilizar as estratégias de aplicação de filtros moleculares, triagens biológicas automatizadas em alta escala (do inglês, *High-Throughput Screening – HTS*) e a triagem virtual (do inglês, *Virtual Screening – VS*) em bancos de dados de estruturas (e.g. ZINC) que agregam compostos, os quais podem ser avaliados posteriormente através de ensaios biológicos (STERLING & IRWIN, 2015). Entre as abordagens baseadas na estrutura de ligantes, os modelos farmacofóricos têm sido empregados em estudos de triagem virtual (LIU, SUN & HU, 2012).

O farmacóforo inclui todas as principais características envolvidas na interação do ligante com o sítio receptor (RODRIGUES *et al.*, 2012). De acordo com a definição da *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), um modelo farmacofórico consiste em um conjunto de características estéricas e eletrônicas necessárias para garantir as interações intermoleculares ideais com um alvo biológico específico e modular uma resposta biológica (WERMUTH *et al.*, 1998). Os modelos farmacofóricos podem ser derivados de abordagens baseadas na estrutura do alvo ou em ligantes, dependendo da disponibilidade da estrutura tridimensional do sítio ativo do alvo. A elucidação de um modelo farmacofórico envolve três estágios principais: geração de possíveis modelos usando métodos baseados em estrutura ou ligantes; preparação da base de dados para a avaliação e avaliação dos modelos farmacofóricos (BRAGA & ANDRADE, 2013). Alguns programas como Catalyst, GALAHAD™, GASP e LigandScout são utilizados para a geração de modelos farmacofóricos.

Na construção do modelo farmacofórico baseado em ligantes, são utilizadas moléculas com atividade biológica conhecida, que funcionam como moldes para a triagem em bases de dados de novas entidades químicas com algum nível de similaridade físico-química e mecanismo de ação com estes moldes (RODRIGUES *et al.*, 2012). O modelo farmacofórico é construído através da sobreposição de uma série

de compostos ativos que reúnem características essenciais para a atividade (YANG, 2010).

Os cálculos de acoplamento molecular, por sua vez, consistem em estratégias baseadas na estrutura do receptor que permitem avaliar e diferenciar as diversas conformações e orientações que um mesmo ligante pode adotar no sítio do alvo, assim como estimar a afinidade de ligação dos complexos ligante-receptor (RODRIGUES *et al.*, 2012). Essa estratégia pode ser dividida em duas etapas principais: busca conformacional e pontuação das conformações geradas (DIAS & AZEVEDO, 2008; HUANG & ZOU, 2010). Os métodos de busca podem ser divididos em métodos sistemáticos (e.g. construção incremental); métodos estocásticos (e.g. algoritmo genético, Monte Carlo) e métodos de simulação (e.g. dinâmica molecular) (KITCHEN *et al.*, 2004).

Os métodos sistemáticos utilizam algoritmos que exploram os graus de liberdade das moléculas, normalmente, através de sua construção incremental através da fragmentação inicial da molécula no sítio receptor. A simulação se inicia com o posicionamento de um fragmento do ligante, denominado âncora, no sítio ativo do alvo molecular (RODRIGUES *et al.*, 2012). O programa DOCK utiliza um método sistemático de construção incremental, no qual as orientações dos ligantes são exploradas através da imagem negativa na superfície do receptor. A imagem é gerada na superfície de acesso ao solvente com a sobreposição de esferas, das quais são selecionadas aquelas que representam o sítio ativo da proteína (BROZELL *et al.*, 2012). O programa Surflex-Dock (JAIN, 2003) também é um exemplo desse método.

Os métodos estocásticos de busca permitem mudanças aleatórias, geralmente alterando um grau de liberdade da estrutura por vez. Exemplos de métodos estocásticos são o método Monte Carlo (MC) e os algoritmos genéticos ou evolutivos (BROOIJMANS & KUNTZ, 2003), os quais permitem simular operações genéticas, como mutações e recombinações. A conformação de uma molécula deve ser representada de modo a permitir que um processo evolucionário de mutação e seleção ocorra. Ou seja, todas as informações de ângulos de torção de ligações de uma molécula (“gene”) são armazenadas como uma sequência numérica (“cromossomo”) (RODRIGUES *et al.*, 2012). Os programas Autodock Vina e GOLD são exemplos da utilização do algoritmo genético como estratégia.

As funções de pontuação podem ser classificadas em três tipos: (1) funções baseadas em campos de força, (2) funções empíricas e (3) funções baseadas no conhecimento (CHENG *et al.*, 2012). (1) As funções baseadas em campos de força utilizam os potenciais de campos de força clássicos para calcular as interações intermoleculares não covalentes, de acordo com os potenciais de Lennard-Jones (interações estéreas) e de Coulomb (interações eletrostáticas) (SCHULZ-GASCH & STAHL, 2003). A função Grid Score é um exemplo da aplicação dessa abordagem. (2) As funções empíricas calculam a energia livre global através da introdução de parâmetros de ajuste que multiplicam termos que descrevem a energia de interação, ligações

de hidrogênio, contribuições entrópicas... (ELDRIDGE *et al.*, 1997; HUANG & ZOU, 2010; CHENG *et al.*, 2012). Programas como o AutoDock4, EADock e GOLD utilizam essas funções. (3) As funções com base no conhecimento calculam as interações do ligante com a macromolécula como a soma de dados estatísticos dos potenciais de pares atômicos de ligação entre o alvo e o ligante. Esses dados são obtidos a partir de complexos cristalográficos proteína-ligante ou ligante-ligante (CAPRA *et al.*, 2009).

Uma vez que as interações com alvos moleculares são de natureza dinâmica e, portanto, a flexibilidade é uma característica crucial para a identificação do modo de ligação, as simulações de Dinâmica Molecular (DM) são capazes de descrever uma variação do comportamento molecular (conteúdo da estrutura secundária, orientação de cadeias laterais, conformação de alças e energia de interação entre diferentes moléculas) em função do tempo. Segundo a IUPAC, a DM é um procedimento de simulação que consiste na computação do movimento dos átomos em uma molécula ou de átomos individuais ou moléculas em sólidos, líquidos e gases, de acordo com as leis de movimento de Newton (VERLI, 2014). Um dos pacotes de programas gratuitos de alto desempenho para realização das simulações de DM é o *GROningen MAchine for Chemical Simulation* (GROMACS) (ABRAHAM *et al.*, 2015). O campo de força GROMOS53A6, presente no GROMACS, é adequado para ser aplicado quando se deseja analisar um sistema solvatado, como o das proteínas globulares, pois seus parâmetros foram especialmente otimizados considerando o cálculo da energia livre da solvatação das cadeias laterais dos aminoácidos (OOSTENBRINK *et al.*, 2004). A avaliação de uma simulação de dinâmica molecular pode ser realizada através de módulos disponíveis no pacote GROMACS 5.1.2, como rms, rmsf, gyrate e Hbond.

Em outra abordagem de triagem *in silico*, pode-se prever peptídeos imunogênicos ao longo de uma sequência proteica, os quais podem ser sintetizados e testados *in vitro* e *in vivo*, reduzindo o tempo e o custo na busca por peptídeos promissores. O IEDB (VITA *et al.*, 2015) possui ferramentas gratuitas como a *MHC-II Binding Predictions* (<http://tools.immuneepitope.org/mhcii/>), a qual emprega diferentes métodos para prever epítomos que se liguem ao receptor MHC de classe II (WANG *et al.*, 2008; 2010).

Os métodos aqui descritos representam abordagens para compor estudos dos fatores de virulência dos patógenos associados à periodontite, buscando compreender a interação entre os patógenos e o sistema imune do hospedeiro (patogênese, evolução da doença), gerando potenciais marcadores para o prognóstico (e. g. o peptídeo sintético Kgp12, o qual conseguiu diferenciar indivíduos com gengivite de indivíduos com periodontite quanto aos níveis de IgG) e triando alvos terapêuticos específicos para serem usados em casos refratários, como em [Cueno \*et al.\* \(2014\)](#). Após a análise *in silico* de um fator de virulência, os peptídeos promissores sintéticos (MACHADO *et al.*, 2004), capazes de ser reconhecidos por anticorpos humanos e de induzir resposta imune em cultura de células humanas, podem auxiliar no estudo do fator de virulência e na busca pelo entendimento da patogenicidade de *P. gingivalis*.

### 3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os fatores de virulência abordados apresentam influência na resposta imune do hospedeiro diante de *P. gingivalis*. Abordagens *in silico* para explorar a relação antígeno / hospedeiro com menor custo e com maior eficácia podem contribuir para a compreensão da influência do microrganismo na patogênese e na evolução da periodontite, bem como para o entendimento dos mecanismos de resposta do hospedeiro à infecção.

### 4 | AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Imunologia da UFBA, ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da UEFS, ao Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular (ICS, UFBA) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia.

### REFERÊNCIAS

Abdi K, Chen T, Klein BA, Tai AK, Coursen J, Liu X, Skinner J, Periasamy S, Choi Y, Kessler BM, Palmer RJ, Gittis A, Matzinger P, Duncan MJ, Singh NJ. Mechanisms by which *Porphyromonas gingivalis* evades innate immunity. PLoS One 2017;12(8):e0182164.

Abraham MJ, Murtolad T, Schulzb R, Pála S, Smithb JC, Hessa B, Lindahla E. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. SoftwareX 2015;1-2:19-25.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Patógenos, infecção e imunidade inata. In: Biologia molecular da célula. 5ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p.1485-1538.

Aruni W, Vanterpool E, Osbourne D, Roy F, Muthiah A, Dou Y, Fletcher HM. Sialidase and sialoglycoproteases can modulate virulence in *Porphyromonas gingivalis*. Infection and immunity 2011;79(7):2779-91.

Banerjee A, van Sorge NM, Sheen TR, Uchiyama S, Mitchell TJ, Doran KS. Activation of brain endothelium by *Pneumococcal* neuraminidase NanA promotes bacterial internalization. Cellular microbiology 2010;12(11):1576-88.

Bao K, Belibasakis GN, Thurnheer T, Aduse-Opoku J, Curtis MA, Bostanci N. Role of *Porphyromonas gingivalis* gingipains in multi-species biofilm formation. BMC Microbiol 2014;14:258.

Barrett AJ, Rawlings ND. Evolutionary lines of cysteine peptidases. Biol Chem 2001;382(5):727-733.

Bengtsson T, Khalaf A, Khalaf H. Secreted gingipains from *Porphyromonas gingivalis* colonies exert potent immunomodulatory effects on human gingival fibroblasts. Microbiol Res 2015;178:18-26.

Bittner-Eddy PD, Fischer LA, Costalonga M. Identification of gingipain-specific IA<sup>b</sup>-restricted CD4<sup>+</sup> T cells following mucosal colonization with *Porphyromonas gingivalis* in C57BL/6 mice. Molecular oral microbiology 2013;28:452-66.

Braga RC, Andrade CH. Assessing the Performance of 3D Pharmacophore Models in Virtual

- Screening: How Good are They? Current Topics in Medicinal Chemistry 2013;13:1-12.
- Brodland GW. How computational models can help unlock biological systems. Seminars in Cell & Developmental Biology 2015;47-48:62-73.
- Brooijmans N, Kuntz ID. Molecular recognition and docking algorithms. Annu Rev Biophys Biomol Struct 2003;32:335-373.
- Brozell SR, Mukherjee S, Balius TE, Roe DR, Case DA, Rizzo RC. Evaluation of DOCK 6 as a pose generation and database enrichment tool. J Comput Aided Mol Des 2012;26:749-773.
- Capra JA, Laskowski RA, Thornton JM, Singh M, Funkhouser TA. Predicting protein ligand binding sites by combining evolutionary sequence conservation and 3D structure. PloS Computational Biology 2009;5(12):e1000585.
- Carvalho-Filho PC, Gomes-Filho IS, Meyer R, Olczak T, Xavier MT, Trindade SC. Role of *Porphyromonas gingivalis* HmuY in immunopathogenesis of chronic periodontitis. Mediators Inflamm 2016;(2016):7465852.
- Carvalho-Filho PC, Trindade SC, Olczak T, Sampaio GP, Oliveira-Neto MG, Santos HA, Pereira BFP, Moura-Costa L, Xavier MT, Meyer R. *Porphyromonas gingivalis* HmuY stimulates expression of Bcl-2 and Fas by human CD3<sup>+</sup> T cells. BMC Microbiology 2013;13(1):206.
- Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, Mealey BL, Papapanou PN, Sanz M, Tonetti MS. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. J Clin Periodontol 2018;45(Suppl 20):S1-S8.
- Chaiyarit P, Jaresitthikunchai J, Phaonakrop N, Roytrakul S, Potempa B, Potempa J. Proteolytic effects of gingipains on trefoil factor family peptides. Clin Oral Invest 2018;22:1009-18.
- Cheng T, Li Q, Zhou Z, Wang Y, Bryant SH. Structure-based virtual screening for drug discovery: a problemcentric review. The AAPS Journal 2012;14(1)133-141.
- Cueno ME, Kamio N, Imai K, Ohya M, Tamura M, Ochiai K. Structural significance of the  $\beta$ 1K396 residue found in the *Porphyromonas gingivalis* sialidase  $\beta$ -propeller domain: a computational study with implications for novel therapeutics against periodontal disease. OMICS 2014;18(9):591-9.
- Dashper SG, Mitchell HL, Seers CA, Gladman SL, Seemann T, Bulach DM, Chandry PS, Cross KJ, Cleal SM, Reynolds EC. *Porphyromonas gingivalis* uses specific domain rearrangements and allelic exchange to generate diversity in surface virulence factors. Front. Microbiol 2017;8:48.
- de Diego I, Veillard F, Sztukowska MN, Guevara T, Potempa B, Pomowski A, Huntington JA, Potempa J, Gomis-Rüth FX. Structure and mechanism of cysteine peptidase gingipain K (Kgp), a major virulence factor of *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis. J BiolChem 2014;289(46):32291-302.
- Dias R, Azevedo WF. Molecular docking algorithms. Current Drug Targets 2008;9(12):1040-1047.
- Eldridge MD, Murray CW, Auton TR, Paolini GV, Mee RP. Empirical scoring functions: I. The development of fast empirical scoring function to estimate the binding affinity of ligands in receptor complexes. Journal Computed-aided Molecular Design 1997;11(5):425-445.
- Fletcher HM. *Porphyromonas gingivalis*: the gift of community involvement. Mol Oral Microbiol 2018;33:111-2.
- Franca M, Moura-Costa L, Meyer RJ, Trindade SC, Tunes UR, Freire SM. Humoral immune response

to antigens of *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 in chronic periodontitis. J Appl Oral Sci 2007;15(3):213-9.

Freire-de-Lima L, Fonseca LM, Oeltmann T, Mendonça-Previato L, Previato JO. The trans-sialidase, the major *Trypanosoma cruzi* virulence factor: three decades of studies. Glycobiology 2015;25(11):1142-9.

Gmiterek A, Kłopot A, Wójtowicz H, Trindade SC, Olczak M, Olczak T. Immune response of macrophages induced by *Porphyromonas gingivalis* requires HmuY protein. Immunobiology 2016;221(12):1382-94.

Gualdi L, Hayre JK, Gerlini A, Bidossi A, Colomba L, Trappetti C, Pozzi G, Docquier JD, Andrew P, Ricci S, Oggioni MR. Regulation of neuraminidase expression in *Streptococcus pneumoniae*. BMC Microbiol 2012;12:200.

Guido RVC, Andricopulo AD, Oliva G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. Estudos avançados 2010;24:81-98.

Gümüş P, Nizam N, Lappin DF, Buduneli N. Saliva and serum levels of B-cell activating factors and tumor necrosis factor- $\alpha$  in patients with Periodontitis. J Periodontol 2014;85(2):270-80.

Guo Y, Nguyen K-A, Potempa J. Dichotomy of gingipains action as virulence factors: from cleaving substrates with the precision of a surgeons knife to a meat chopper-like brutal degradation of proteins. Periodontology 2000. 2010;54:15-44.

Guyen-Maiorov E, Tsai C-J, Nussinov R. Structural host-microbiota interaction networks. PLoS Comput Biol 2017;13(10):e1005579.

Hajishengallis G, Lambris JD. Complement and dysbiosis in periodontal disease. Immunobiology 2012;217(11):1111-6.

Hajishengallis G, Lamont RJ. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. Mol Oral Microbiol 2012;27(6):409-19.

Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. Trends Immunol 2014;35(1):3-11.

Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. Nature Reviews Immunology 2015;15:30-44.

Honma K, Mishima E, Sharma A. Role of *Tannerella forsythia* NanH sialidase in epithelial cell attachment. Infection and immunity 2011;79(1):393-401.

Huang SY, Zou X. Advances and challenges in protein-ligand docking. International Journal Molecular Science 2010;11(8):3016-3034.

Iijima R, Takahashi H, Ikegami S, Yamazaki M. Characterization of the reaction between sialic acid (N-acetylneuraminic acid) and hydrogen peroxide. Biol Pharm Bull 2007;30(3):580-2.

Iijima R, Takahashi H, Namme R, Ikegami S, Yamazaki M. Novel biological function of sialic acid (N-acetylneuraminic acid) as a hydrogen peroxide scavenger. FEBS Lett 2004;561:163-6.

Imamura T. The role of gingipains in the pathogenesis of periodontal disease. J Periodontol 2003;74(1):111-8.

Jain AN. Surflex: Fully automatic flexible molecular docking using a molecular similarity-based search engine. *Journal of Medicinal Chemistry* 2003;46:499-511.

Kato H, Taguchi Y, Tominaga K, Umeda M, Tanaka A. *Porphyromonas gingivalis* LPS inhibits osteoblastic differentiation and promotes pro-inflammatory cytokine production in human periodontal ligament stem cells. *Archives of oral biology* 2014; 59:167-75.

Katz J, Yang Q-B, Zhang P, Potempa J, Travis J, Michalek SM, Balkovetz DF. Hydrolysis of epithelial junctional proteins by *Porphyromonas gingivalis* gingipains. *Infection and Immunity* 2002;70(5):2512-8.

Kitchen, DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nat Rev Drug Discov* 2004;3(11):935-949.

Kollmann M, Sourjik V. *In Silico* Biology: From Simulation to Understanding. *Current Biology* 2007;17(4):R132-4.

Kurniyati K, Zhang W, Zhang K, Li C. A surface-exposed neuraminidase affects complement resistance and virulence of the oral spirochaete *Treponema denticola*. *Mol Microbiol* 2013;89(5):842-56.

Lefranc M-P. Immunoglobulin and T Cell Receptor Genes: IMGT® and the Birth and Rise of Immunoinformatics. *Frontiers in Immunology* 2014;5:22.

Leone P, Roche J, Vincent MS, Tran QH, Desmyter A, Cascales E, Kellenberger C, Cambillau C, Roussel A. Type IX secretion system PorM and gliding machinery GldM form arches spanning the periplasmic space. *Nat Commun* 2018;30;9(1):429.

Li C, Kurniyati, Hu B, Bian J, Sun J, Zhang W, Liu J, Pan Y, Lia C. Abrogation of neuraminidase reduces biofilm formation, capsule biosynthesis, and virulence of *Porphyromonas gingivalis*. *Infection and Immunity* 2012;80(1):3-13.

Li S, Yu Y, Yue Y, Liao H, Xie W, Thai J, Mikuls TR, Thiele GM, Duryee MJ, Sayles H, Payne JB, Klassen LW, O'Dell JR, Zhang Z, Su K. Autoantibodies From Single Circulating Plasmablasts React With Citrullinated Antigens and *Porphyromonas gingivalis* in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2016;68(3):614-26.

Liu M, Sun Z, Hu, W. Three-dimensional pharmacophore screening for fentanyl derivatives. *Neural Regeneration Research* 2012;7: 1398–1405.

Machado A, Liria CW, Proti PB, Remuzgo C, Miranda MTM. Sínteses química e enzimática de peptídeos: Princípios básicos e aplicações. *Quim Nova* 2004;27(5):781-9.

Maisetta G, Brancatisano FL, Esin S, Campa M, Batoni G. Gingipains produced by *Porphyromonas gingivalis* ATCC49417 degrade human- $\beta$ -defensin 3 and affect peptide's antibacterial activity in vitro. *Peptides* 2011;32(5):1073-7.

Mayer MPA, Suguimoto ESA, Teixeira SRL. Microbiologia da doença periodontal. In: Spolidorio DMP, Duque C. *Microbiologia e imunologia geral e odontológica*. v.1. São Paulo: Artes Médicas, 2013. p.91-99.

Moncla BJ, Braham P, Hillier SL. Sialidase (neuraminidase) activity among Gram negative anaerobic and capnophilic bacteria. *Journal of clinical microbiology* 1990; 28(3):422-5.

Moutsopoulos NM, Kling HM, Angelov N, Jin W, Palmer RJ, Nares S, Osorio M, Wahl SM. *P. gingivalis* promotes Th17 inducing pathways in chronic periodontitis. *J Autoimmun* 2012;39(4):294-303.

Murakami Y, Masuda T, Imai M, Iwami J, Nakamura H, Noguchi T, Yoshimura F. Analysis of major

virulence factors in *Porphyromonas gingivalis* under various culture temperatures using specific antibodies. *Microbiol Immunol* 2004;48(8):561-9.

Naito M, Hirakawa H, Yamashita A, Ohara N, Shoji M, Yukitake H, Nakayama K, Toh H, Yoshimura F, Kuhara S, Hattori M, Hayashi T, Nakayama K. Determination of the genome sequence of *Porphyromonas gingivalis* strain ATCC 33277 and genomic comparison with strain W83 revealed extensive genome rearrangements in *P. gingivalis*. *DNA Res* 2008;15(4):215-25.

Nakagawa I, Inaba H, Yamamura T, Kato T, Kawai S, Ooshima T, Amano A. Invasion of epithelial cells and proteolysis of cellular focal adhesion components by distinct types of *Porphyromonas gingivalis* fimbriae. *Infect Immun* 2006;74(7):3773-82.

Nelson DL, Cox MM. Enzymes. In: Lehninger. Principles of Biochemistry. 4ed. New York: W. H. Freeman, 2004.p.190-237. a

Nelson DL, Cox MM. Carbohydrates and glycobiology. In: Lehninger. Principles of Biochemistry. 4ed. New York: W. H. Freeman, 2004.p.238-272. b

Nelson DL, Cox MM. Protein function. In: Lehninger. Principles of Biochemistry. 4ed. New York: W. H. Freeman, 2004. p.157-89. c

Olczak T, Sroka A, Potempa J, Olczak M. *Porphyromonas gingivalis* HmuY and HmuR: further characterization of a novel mechanism of heme utilization. *Arch Microbiol* 2008;189(3):197-210.

Olczak T, Wójtowicz H, Ciuraszkiewicz J, Olczak M. Species specificity, surface exposure, protein expression, immunogenicity, and participation in biofilm formation of *Porphyromonas gingivalis* HmuY. *BMC Microbiology* 2010;10:134.

Olsen I, Progulske-Fox A. Invasion of *Porphyromonas gingivalis* strains into vascular cells and tissue. *Journal of Oral Microbiology* 2015;7:28788.

Oostenbrink C, Villa A, Mark AE, Gunsteren WFV. A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: the GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6. *Journal of computational chemistry* 2004;25:1656-1676.

Plančak D, Musić L, Puhar I. Quorum Sensing of Periodontal Pathogens. *Acta Stomatol Croat*. 2015;49(3):234-41.

Preshaw PM, Taylor JJ. Patogênese periodontal. In: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza, periodontia clínica. 11ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. p.210-35.

Proctor DM, Fukuyama JA, Loomer PM, Armitage GC, Lee SA, Davis NM, Ryder MI, Holmes SP, Relman DA. A spatial gradient of bacterial diversity in the human oral cavity shaped by salivary flow. *Nat Commun* 2018;9(1):681.

Qiu T, Yang Y, Qiu J, Huang Y, Xu T, Xiao H, Wu D, Zhang Q, Zhou C, Zhang X, Tang K, Xu J, Cao Z. CE-BLAST makes it possible to compute antigenic similarity for newly emerging pathogens. *Nat Commun* 2018;9(1):1772.

Rocha N, Neefjes J. MHC class II molecules on the move for successful antigen presentation. *EMBO J* 2008;27(1):1-5.

Rodrigues RP, Mantoani SP, de Almeida JR, Pinsetta FR, Semighini EP, da Silva VB, da Silva CHP. Estratégias de Triagem Virtual no Planejamento de Fármacos. *Rev Virtual Quim* 2012;4(6):739-76.

Settem RP, Honma K, Stafford GP, Sharma A. Protein-linked glycans in periodontal bacteria:

prevalence and role at the immune interface. *Front. Microbiol* 2013;4,310:1-6.

Setty Y. In-silico models of stem cell and developmental systems. *Theoretical Biology & Medical Modelling* 2014;11:1.

Schulz-Gasch T, Stahl M. Binding site characteristics in structure-based virtual screening: evaluation of current docking tools. *Journal of Molecular Modeling* 2003;9(1):47-57.

Shah HN, Collins MD. Proposal for reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides endodontalis* in a new genus, *Porphyromonas*. *Int J Syst Bacteriol* 1988;38:128-31.

Shtyrya YA, Mochalova LV, Bovin NV. Influenza virus neuraminidase: structure and function. *Acta Naturae* 2009;1(2):26-32.

Smalley JW, Olczak T. Heme acquisition mechanisms of *Porphyromonas gingivalis* – strategies used in a polymicrobial community in a heme-limited host environment. *Mol Oral Microbiol* 2017;32(1):1-23.

Śmiga M, Bielecki M, Olczak M, Smalley JW, Olczak T. Anti-HmuY Antibodies specifically recognize *Porphyromonas gingivalis* HmuY protein but not homologous proteins in other periodontopathogens. *PLoS One* 2015;10(2):e0117508.

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998;25:134-44.

Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontology* 2000 2005;38:135-87.

Stafford G, Roy S, Honma K, Sharma A. Sialic acid, periodontal pathogens and *Tannerella forsythia*: stick around and enjoy the feast! *Mol Oral Microbiol* 2012;27(1):11-22.

Sterling T, Irwin JJ. ZINC 15 – Ligand Discovery for Everyone. *J Chem Inf Model* 2015;55(11):2324-37.

Tam V, O'Brien-Simpson NM, Pathirana RD, Frazer LT, Reynolds EC. Characterization of T cell responses to the RgpA-Kgp proteinase-adhesin complexes of *Porphyromonas gingivalis* in BALB/c mice. *J Immunol* 2008;181:4150-8.

Teughels W, Quirynen M, Jakubovics N. Microbiologia periodontal. In: Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza, periodontia clínica. 11ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.p.251-94.

Trindade SC, Gomes-Filho IS, Meyer RJ, Vale VC, Pugliese L, Freire SM. Serum antibody levels against *Porphyromonas gingivalis* extract and its chromatographic fraction in chronic and aggressive periodontitis. *J Int Acad Periodontol* 2008;10(2):50-8.

Trindade SC, Olczak T, Gomes-Filho IS, Moura-Costa LF, Cerqueira EMM, Galdino-Neto M, Alves H, Carvalho-Filho PC, Xavier MT, Meyer R. Induction of interleukin (IL)-1b, IL-10, IL-8 and immunoglobulin G by *Porphyromonas gingivalis* HmuY in humans. *J Periodont Res* 2012;47:27-32. a

Trindade SC, Olczak T, Gomes-Filho IS, Moura-Costa LF, Vale VL, Galdino-Neto M, Alves H, Carvalho-Filho PC, Sampaio GP, Xavier MT, Sarmiento VA, Meyer R. *Porphyromonas gingivalis* antigens differently participate in the proliferation and cell death of human PBMC. *Archives of oral biology* 2012;57:314-20. b

Trindade SC, Olczak T, Gomes-Filho IS, Moura-Costa LF, Vale VC, Galdino-Neto M, Santos HA, Carvalho Filho PC, Stocker A, Bendicho MT, Xavier MT, Cerqueira EMM, Meyer R. *Porphyromonas gingivalis* HmuY-induced production of interleukin-6 and IL-6 polymorphism in chronic periodontitis. *J*

Periodontol 2013;84(5):650-5.

Verli H. Dinâmica Molecular. In: Bioinformática da Biologia à flexibilidade molecular. 1ed. São Paulo: SBBq, 2014. p.173-187.

Vita R, Overton JA, Greenbaum JA, Ponomarenko J, Clark D, Cantrell JR, Wheeler DK, Gabbard JL, Hix D, Sette A, Peters B. The immune epitope database (IEDB) 3.0. Nucleic Acids Res 2015;43(Database issue):D405-12.

Vyas JM, Van der Veen AG, Ploegh HL. The known unknowns of antigen processing and presentation. Nat Rev Immunol 2008;8(8):607-18.

Wang P, Sidney J, Dow C, Mothé B, Sette A, Peters B. A systematic assessment of MHC class II peptide binding predictions and evaluation of a consensus approach. PLoS Comput Biol 2008;4(4):e1000048.

Wang P, Sidney J, Kim Y, Sette A, Lund O, Nielsen M, Peters B. Peptide binding predictions for HLA DR, DP and DQ molecules. BMC Bioinformatics 2010;11:568.

Wermuth CG, Ganellin CR, Lindberg P, Mitscher LA. Glossary of terms used in medicinal chemistry (IUPAC Recommendations 1997). Annu Rep Med Chem 1998;33:385-395.

Wójtowicz H, Guevara T, Tallant C, Olczak M, Sroka A, Potempa J, Sola M, Olczak T, Gomis-Rüth FX. Unique structure and stability of HmuY, a novel hemebinding protein of *Porphyromonas gingivalis*. PLoS Pathog 2009;5(5):e1000419.

Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Microbial composition of supra and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. J Clin Periodontol 2000; 27:722-32.

Xu X, Tong T, Yang X, Pan Y, Lin L, Li C. Differences in survival, virulence and biofilm formation between sialidase-deficient and W83 wild-type *Porphyromonas gingivalis* strains under stressful environmental conditions. BMC Microbiol 2017;17(1):178.

Yang S. Pharmacophore modeling and applications in drug discovery: challenges and recent advances. Drug Discovery Today 2010;15:444-450.

Yang X, Pan Y, Xu X, Tong T, Yu S, Zhao Y, Lin L, Liu J, Zhang D, Li C. Sialidase deficiency in *Porphyromonas gingivalis* increases IL-12 secretion in stimulated macrophages through regulation of CR3, lncRNA GAS5 and miR-21. Front Cell Infect Microbiol 2018;8:100.

Zhou J, Yao Y, Jiao K, Zhang J, Zheng X, Wu F, Hu X, Li J, Yu Z, Zhang G, Jiang N, Li Z. Relationship between Gingival Crevicular Fluid Microbiota and Cytokine Profile in Periodontal Host Homeostasis. Front Microbiol 2017;8:2144.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-216-6

