

INTERAÇÕES MOLECULARES MEDIADAS POR PROTEÍNAS DE ADESÃO CELULAR LEVAM À SOBREVIVÊNCIA E AO SUCESSO NA INFECÇÃO CAUSADA POR FUNGOS PATOGENICOS EM HUMANOS

Rodrigo da Silva Santos

Biólogo; Departamentos de Genética / Bioquímica e Imunologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – FMRP/USP. E-mail: rdssantos@gmail.com

Patrícia de Sousa Lima

Bióloga; Departamento de Patologia Molecular, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília – UNB.

Danilo Candido de Almeida

Biólogo; Departamento de Medicina, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo - EPM-UNIFESP - SP.

Mônica Santiago Barbosa

Orientadora e Docente Adjunta do Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Goiás – UFG/Campus Jataí - GO.

RESUMO: Muitos eventos de interação molecular entre fungos patogênicos humanos e suas células hospedeiras ocorrem através da mediação de proteínas de adesão que os próprios fungos possuem e que se ligam na matriz extracelular das células hospedeiras. Essas proteínas representam alvos que auxiliam os fungos durante a invasão celular e estabelecimento do processo infeccioso. Vários fungos de importância médica, como *Candida albicans*, *Histoplasma capsulatum*, *Pneumocystis carinii*, *Sporothrix schenckii*, *Penicillium marneffei*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis* e *Cryptococcus neoformans* são capazes de aderir às proteínas da MEC (Matriz Extracelular). A capacidade de fungos patogênicos provocarem micoses com grande variedade de manifestações clínicas depende da complexidade de interações entre os mesmos e o hospedeiro humano e essas proteínas de adesão estão relacionadas como fatores de virulência na maioria deles. Sendo assim, essas moléculas tornaram-se importantes alvos para o estudo da biologia dos fungos e para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para o tratamento de infecções fúngicas e na obtenção de novos fármacos.

PALAVRAS-CHAVE: Proteínas de adesão; Interações moleculares; Fungos patogênicos.

CELL ADHESION PROTEIN-MEDIATED MOLECULAR INTERACTIONS LEAD TOWARDS THE SURVIVAL AND SUCCESS IN INFECTIONS CAUSED BY PATHOGENIC FUNGI IN HUMANS

ABSTRACT: Several events involving molecular interactivities between human pathogenic fungi and their host cells occur through the mediation of the fungi's adhesion proteins which link themselves to the extracellular matrix of the host cells. The proteins are targets which help the fungi during cell invasion and the establishment of the infectious process. Several medically

important fungi, such as *Candida albicans*, *Histoplasma capsulatum*, *Pneumocystis carinii*, *Sporothrix schenckii*, *Penicillium marneffeii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis* and *Cryptococcus neoformans* adhere to the extracellular matrix's proteins. The capacity of pathogenic fungi to cause mycosis with several types of clinical manifestations depends on the complexities of interactions between them and the human host. The adhesion proteins are virulent factors in most of them. The above-mentioned molecules are important targets for the biological study of fungi and for the development of new therapeutic approaches for the treatment of infections by fungus and the production of new drugs.

KEYWORDS: Adhesion proteins; Molecular interactions; Pathogenic fungi.

INTRODUÇÃO

Numerosas e complexas séries de eventos entre o patógeno, incluindo os fungos, com suas moléculas sinais, e seus organismos hospedeiros ocorrem para que se desenvolva a infecção e conclua a interação entre esses organismos (GIBSON; KOBAYASHI; WALKER, 2008). Uma etapa necessária na colonização e subsequente produção de doenças por microrganismos patogênicos é a adesão às superfícies do organismo hospedeiro (MAZA, et al.; 2008). A adesão de microrganismos às células encontra-se mediada pela presença de um grupo especializado de proteínas denominadas adesinas. Estas proteínas determinam a capacidade de ligação e também o tropismo do microrganismo por um determinado tipo de células ou de tecidos. No entanto, o papel específico de uma adesina no estabelecimento de infecções tem sido surpreendentemente difícil de definir, uma vez que um agente patogênico é capaz de expressar muitos fatores de adesão (MCMAHON et al., 1995). Além de mediar a colonização de

tecidos, a adesão do microrganismo patogênico ao organismo hospedeiro leva frequentemente à expressão de outros genes de virulência que permitem a subsequente invasão (BAILÃO et al.; 2007). As adesinas podem intervir em associações mais fortes com as células alvo, produzir diferentes arranjos nos filamentos de actina do esqueleto celular, induzir mudanças nos sinais celulares e nas suas funções e também produzir efeitos tóxicos diretos nas células (DRAMSI; COSSART, 1998). Os diversos mecanismos de adesão desempenhados por microrganismos patogênicos como, por exemplo, os fungos e as suas relações com os processos infecciosos, têm sido extensamente estudados e revistos na literatura científica.

A matriz extracelular (MEC) é uma rede complexa de macromoléculas que proporciona um arcabouço físico para a estabilização da estrutura tecidual. A MEC é importante para as interações célula a célula e fornece um substrato às células para aderirem e proliferarem, modulando diretamente a forma e funções celulares (JONG, et al.; 2008). A MEC de mamíferos é composta por duas classes principais de macromoléculas: as glicosaminoglicanas (GAG), encontradas normalmente ligadas a proteínas formando proteoglicanas, e as proteínas fibrosas, que desempenham funções estruturais e adesivas, incluindo nessa classe, laminina, fibronectina e colágeno. A composição da MEC varia em diferentes tecidos e durante fases de injúria, inflamação e reparo tecidual (BAYNES; DOMINICZAK, 2000).

Vários fungos de importância médica, como *Candida albicans*, *Histoplasma capsulatum*, *Pneumocystis carinii*, *Sporothrix schenckii*, *Penicillium marneffeii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis* e *Cryptococcus neoformans* são capazes de aderir à proteínas da MEC. A adesão implica que o patógeno reconheça carboidratos

ou proteínas ligantes na superfície da célula do hospedeiro ou proteínas constituintes da membrana basal (BARBOSA, et al.; 2006). O grande número de tecidos que os fungos podem colonizar e infectar sugere que eles possuem uma variedade de moléculas de superfície que permitam o processo de adesão. A adesão de microrganismos patogênicos a tecidos do hospedeiro é considerada indispensável para o início da colonização e progressão do processo infeccioso (CASTRO et al., 2008).

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 INTERAÇÕES PATÓGENO-HOSPEDEIRO MEDIADAS POR PROTEÍNAS DE ADESÃO

Segundo Andreotti (2006), o sucesso de colonização dos tecidos do hospedeiro por fungos patogênicos é um processo complexo, que, na maioria das vezes, envolve proteínas adesinas produzidas pelo próprio patógeno e um receptor da célula. Os microrganismos podem interagir com três tipos de componentes do hospedeiro, tais como: produtos secretados pela célula, superfícies da célula hospedeira ou as proteínas da matriz extracelular (MEC), como colágenos tipo I e IV, fibronectina, fibrinogênio e laminina. Identificar e caracterizar moléculas envolvidas no processo de adesão de microrganismos a diferentes substratos e microambientes no hospedeiro é um dos caminhos primordiais a serem seguidos na elucidação de tratamentos eficientes para as micoses sistêmicas, visto que constituem as primeiras etapas para o desenvolvimento de inúmeras infecções (OFEK; GOLDHAR; SHARON, 1996; ANDREOTTI, 2006).

Várias moléculas de adesão foram estudadas

em fungos recentemente, visto que a adesão de microrganismos às proteínas da MEC é o primeiro passo para o estabelecimento do processo infeccioso. Em *C. albicans*, uma família gênica denominada *als* (Agglutinin-Like Sequence), é composta de pelo menos oito genes, que codificam para um grupo de adesinas do fungo (FILLER et al., 2006). ALS1P e ALS3P foram capazes de promover adesão do fungo às células endoteliais e epiteliais, bem como às proteínas da MEC. O papel funcional destas proteínas foi avaliado utilizando-se mutantes de *Candida albicans* para os genes *als1* e *als3* e a deleção desses genes ocasionou a redução da capacidade de adesão em células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC) e células de epitélio bucal (BEC) (ZHAO et al., 2004; SHEPPARD; YEAMAN; WELCH, 2004).

Resultados similares foram observados, com as adesinas ALS2P e ALS4P (ZHAO et al., 2005). O gene *eap1* (proteína de adesão extracelular) de *C. albicans* foi isolado como uma provável adesina de parede celular e a análise funcional do gene foi avaliada em *Saccharomyces cerevisiae* (*flo8Δ*). Essa cepa apresenta capacidade menor de adesão, quando comparada com a selvagem. O mutante de *S. cerevisiae* (*flo8Δ*) transformado com o gene *eap1*, recuperou a capacidade de aderir às placas de polietileno, bem como às células epiteliais HEK293 (Human embryonic kidney cell line 293) (LI; PALECEK, 2003). Também em *Candida glabrata* foi visto recentemente que uma adesina de parede celular possui propriedades de lectina contribuindo na ligação aos carboidratos da célula hospedeira auxiliando na interação e posterior viabilidade do fungo durante sua infecção (DE GROOT; KLIS, 2008).

A laminina é uma glicoproteína de 900 kDa, presente na membrana basal e nos pulmões. Esta

glicoproteína pode ser exposta quando o tecido sofre um dano, que pode ser provocado por toxinas bacterianas, drogas ou por processo inflamatório. A interação com a laminina é crucial para vários processos biológicos, os quais requerem adesão celular, tais como, diapedese, coesão celular dentro do tecido, metástase de células cancerosas e infecções. De fato, receptores de laminina foram descritos em células que normalmente interagem com a membrana basal, tais como células epiteliais ou endoteliais, células musculares e neurais, células que extravasam da corrente sanguínea, como, por exemplo, macrófagos, leucócitos e células tumorais, também podem exibir esses receptores (BECK; HUNTER; ENGEL, 1990). Foi proposto que a habilidade de *Histoplasma capsulatum* interagir com laminina seja um mecanismo importante para o estabelecimento da histoplasmose. Experimentos de adesão, em que o fungo foi colocado em contato com laminina imobilizada, mostraram que *H. capsulatum* interage com a laminina de maneira rápida e específica e esse processo de adesão é mediado possivelmente por uma glicoproteína de 50 kDa identificada na parede celular de *H. capsulatum* (MCMAHON et al., 1995).

A fibronectina é uma glicoproteína dimérica de 440 kDa, presente na forma solúvel no plasma sanguíneo e outros fluidos corporais e na forma fibrilar na MEC. A fibronectina provavelmente atua como molécula de adesão em células de mamíferos, um processo que envolve a ligação de receptores específicos da superfície celular com domínios presentes na molécula de fibronectina (FINLAY, 1990). Em *Pneumocystis carinii*, um fungo que causa pneumonia severa em pacientes imunocomprometidos, foi evidenciado que o gene *ste20*, identificado através de técnicas de hibridização subtrativa, é expresso diferencialmente durante a adesão do fungo ao tecido pulmonar. A ligação de *P.*

carinii às células do epitélio alveolar e às proteínas da matriz extracelular é considerada um ponto crucial para o início da infecção. Esse gene, além de estar relacionado ao crescimento de hifas, está envolvido no processo de adesão do fungo às células do epitélio pulmonar e aos constituintes da matriz extracelular, como a fibronectina anteriormente elicitada, vitronectina e colágeno, favorecendo a invasão do fungo ao tecido do hospedeiro (KOTTOM et al., 2003).

O colágeno é o principal constituinte da MEC e representa um importante alvo para adesão de muitas espécies de microrganismos. Vários tipos de colágeno foram caracterizados, colágeno tipo IV é encontrado principalmente na membrana basal e colágeno tipo I é abundante na matriz intersticial (HOHENESTER et al.; 2008). *Sporothrix schenckii* é o agente etiológico da esporotricose, uma micose subcutânea, que, ao acometer indivíduos imunocomprometidos, pode se disseminar por vários tecidos e órgãos. Estudos de interação entre *S. schenckii* e proteínas da MEC mostraram que o fungo foi capaz de aderir à laminina, colágeno e fibronectina, e que essa interação foi mediada por moléculas de 90 e 135 kDa, localizadas na superfície do fungo. A interação entre *S. schenckii* e proteínas da MEC foi avaliada através de experimentos de competição entre peptídeos presentes na molécula de fibronectina e laminina. Foi sugerido que os peptídeos RGD (presente na fibronectina) e YIGSR (presente na laminina) interagem com as adesinas presentes na superfície de *S. schenckii*, uma vez que esses inibiram significativamente a ligação do fungo às proteínas da MEC (LIMA et al., 2004).

A peniciliose é uma micose causada pelo fungo *Penicillium marneffei*, a qual apresenta diferentes manifestações clínicas como febre, anemia, perda de peso, linfadenopatia e hepatoesplenomegalia.

A habilidade de *P. marneffei* em iniciar a infecção foi relacionada à capacidade de adesão dos seus esporos às moléculas da MEC e tecido epitelial pulmonar humano. Experimentos de adesão demonstraram que há participação de uma proteína de 20 kDa, caracterizada como um ligante de laminina e fibronectina, potencialmente relevante no processo de adesão de *P. marneffei* ao tecido hospedeiro (SRINOULPRASERT; KONGTAWELERT; CHAIYAROJ, 2006).

Blastomyces dermatitidis é o agente etiológico da blastomicose, uma infecção respiratória que acomete indivíduos humanos e outros animais no mundo inteiro. A patogênese dessa micose é pouco compreendida. Acredita-se que a patogenicidade de *B. dermatitidis* seja atribuída à capacidade do fungo em aderir aos tecidos do hospedeiro. Em *B. dermatitidis*, a adesina melhor estudada é uma glicoproteína de 120 kDa (WI-1), caracterizada como BAD1. Foi demonstrado que BAD1 está presente na superfície de *B. dermatitidis*, possivelmente mediando à ligação do fungo a macrófagos humanos; esse processo é dependente do nível de expressão de BAD1, apresentado por diferentes isolados de *B. dermatitidis*. Através de ferramentas de manipulação genética, foi avaliado o papel de BAD1 na adesão e virulência de *B. dermatitidis* em modelo animal (BALB/C) em que camundongos infectados com *B. dermatitidis* cepa selvagem (ATCC 26199) desenvolveram blastomicose disseminada letal, semanas após a inoculação, ao passo que camundongos infectados com a mesma dose de inóculo do fungo que continha o gene BAD1 mutado (cepa 55), sobreviveram mostrando a capacidade de adesão e virulência dessa molécula em *B. dermatitidis* (BRANDHORST et al., 2003; NEMECEK; WÜTHRICH; KLEIN, 2006).

Coccidioides immitis é o agente causador da coccidioidomicose, uma doença crônica que causa

comprometimento pulmonar. Foi identificado por Hung et al. (2002), um gene de *C. immitis* que codifica para uma glicoproteína presente na parede externa de esporos (*songp*). Ensaios *in vitro*, com a proteína recombinante (rSOWp) mostraram que esta se liga à laminina, fibronectina e colágeno. A deleção do gene *songp* resultou na perda parcial da capacidade dos esporos em se ligar às proteínas da MEC, bem como uma significativa redução da virulência em camundongos, quando os mesmos foram infectados com *C. immitis* que continha a mutação para o gene *songp*.

Paracoccidioides brasiliensis é capaz de aderir, atravessar e invadir barreiras impostas pelos tecidos do hospedeiro (MENDES-GIANNINI et al., 2000). Foi demonstrado que a capacidade de aderência e invasão do fungo é dependente da virulência do isolado (HANNA; SILVA; MENDES-GIANNINI, 2000). Estudos caracterizaram componentes da matriz extracelular envolvidos na interação de *P. brasiliensis* com o hospedeiro. A laminina é uma das moléculas que promovem a adesão de *P. brasiliensis*, facilitando a sua patogenicidade. No ciclo biológico de *P. brasiliensis*, as leveduras são expostas ao hospedeiro, portanto suas proteínas de superfície são candidatas a antígenos, a moléculas de adesão, entre outros. Alguns trabalhos recentes demonstraram algumas moléculas candidatas em potencial para tal ação como DFG5P, triose fosfato isomerase e a proteína gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) (CASTRO et al.; 2008; PEREIRA et al., 2007; BARBOSA et al.; 2006). A primeira adesina descrita em *P. brasiliensis* foi a glicoproteína de 43 kDa, com a capacidade de interagir com laminina, sendo que recentemente foi evidenciada a interação da gp43 com a fibronectina, outro componente associado à matriz extracelular (MENDES-GIANNINI et al., 2006).

Outras moléculas de adesão em *P. brasiliensis* foram descritas. Uma adesina de 30 kDa isolada de *P. brasiliensis*, tem capacidade de ligação à laminina, mas não a outros componentes da MEC. A adesão de *P. brasiliensis* foi intensamente inibida pelo pré-tratamento das células epiteliais com a molécula de 30 kDa (ANDREOTTI et al., 2005). *P. brasiliensis* também apresentou em sua superfície celular, duas proteínas com massas moleculares de 19 e 32 kDa que interagem com diferentes proteínas da MEC, tais como laminina, fibrinogênio e fibronectina. A proteína de 32 kDa apresentou homologia com proteínas de funções hipotéticas de *P. brasiliensis*, *H. capsulatum* e *Neurospora crassa*. Ensaio utilizando conídeos de *P. brasiliensis*, pré-incubados com anticorpo monoclonal anti-32 kDa inibiram, de maneira dose-dependente, a aderência do fungo às proteínas da MEC (GONZÁLEZ et al., 2005).

Os mecanismos pelos quais *P. brasiliensis* adere e invade a célula do hospedeiro, ainda não são bem compreendidos. A via de transdução de sinal envolvendo proteínas tirosina quinase (PTK) e fosfatases pode modular eventos cruciais durante a infecção fúngica. Neste sentido, foi investigado o envolvimento da PTK na aderência e invasão de *P. brasiliensis* às células epiteliais. A inibição da invasão do fungo foi observada quando células epiteliais foram tratadas com genisteína, que é inibidor específico de tirosina quinases. Esses resultados sugerem que a PTK participa da via de transdução de sinal, durante o evento inicial do processo de adesão e invasão de *P. brasiliensis* às células epiteliais (SILVA et al., 2007).

Em *Cryptococcus neoformans* existem, também, adesinas que como demonstrado por Merkel e Scofield (1997), cepas desse fungo aderiram em células epiteliais devido à expressão de adesinas. Com isso, demonstraram-se as interações específicas existentes entre o fungo e as células epiteliais do

pulmão mediadas por tais moléculas adesinas.

2.2 GLICERALDEÍDO-3-FOSFATO DESIDROGENASE: UMA ADESINA CELULAR EM POTENCIAL

A Gliceraldeído-3-Fosfato desidrogenase (GAPDH) (E.C 1.2.1.12) é uma enzima que participa da via glicolítica e da gliconeogênese, desempenhando papel no catabolismo e anabolismo de carboidratos. Essa enzima é um homotetrâmero e catalisa a reação de oxidação da gliceraldeído 3-fosfato em 1,3-bifosfoglicerato, usando o NAD⁺ como coenzima (BAYNES; DOMINICZAK, 2000). A GAPDH é constituinte da família de proteínas, que desempenha um papel multifuncional, em diferentes localizações celulares, além do seu bem caracterizado papel na glicólise (SIROVER, 1999).

A GAPDH é usada como modelo para análises de estrutura de proteínas e mecanismos enzimáticos. O gene foi utilizado como protótipo para estudos de organização gênica, expressão e regulação. Entretanto, estudos recentes, demonstraram que a GAPDH de mamíferos desempenha um quadro complexo de funções não relacionadas com a via glicolítica, incluindo transporte e fusão de membranas, ligação a microtúbulos, atividade fosfotransferase, exportação de RNA nuclear, replicação e reparo de DNA (SINGH; GREEN, 1993). Outras investigações sugerem ainda que a GAPDH esteja envolvida em apoptose, câncer de próstata, patogênese viral e doenças neurodegenerativas relacionadas à idade (HARA et al., 2005). As diferentes funções que a GAPDH de mamíferos desempenha estão relacionadas à localização celular e a estrutura que a molécula pode assumir. No citoplasma, GAPDH é um tetrâmero e está envolvida na via glicolítica podendo também se ligar ao RNA, enquanto que,

no núcleo, GAPDH é um monômero envolvido no reparo de DNA (MAZZOLA; SIROVER, 2005).

No núcleo, a GAPDH desempenha uma função semelhante à uracil DNA glicosilase (UDG), enzima envolvida no mecanismo de reparo do DNA. UDG remove do DNA a uracila que resulta da deaminação espontânea da citosina (MEYER-SIEGLER et al, 1991). A função da GAPDH como ativadora da transcrição foi proposta. GAPDH ativa o promotor da histona 2B, por associar-se ao fator de transcrição OCT-1; esse fator de transcrição coativa o complexo OCA-S, que é essencial para transcrição da histona 2B. Consistente com essa função, GAPDH foi descrita, ligada ao DNA fita simples no núcleo de neurônios, possivelmente atuando como ativadora da transcrição (MORGENEGG et al., 1986; ZHENG; ROEDER; LUO, 2003).

Foi proposto, ainda, que GAPDH atua na proliferação celular. Como descrito anteriormente, GAPDH ativa o promotor da histona 2B, proteína requerida para progressão da fase S do ciclo celular. Outra evidência que reforça essa função foi o acúmulo da proteína GAPDH e do seu transcrito observados no núcleo de células em divisão (ZHENG; ROEDER; LUO, 2003). GAPDH foi a primeira enzima da via glicolítica, descrita como associada à tubulina; é sabido que a GAPDH modula a estrutura do citoesqueleto por promover o empacotamento de microtúbulos (ZHENG; ROEDER; LUO, 2003). A GAPDH presente no citoplasma regula a tradução protéica, ligando-se a sequências específicas como às regiões não traduzidas (untranslated regions ou UTR) ricas em adenina-uracila (AU) na extremidade 3' do RNA mensageiro de linfócina, bem como nas regiões UTR da extremidade 5' do DNA do vírus causador da hepatite A e 3' do genoma do vírus da influenza humana tipo I (DOLLENMAIER; WEITZ, 2003).

A função da GAPDH como molécula

mediadora na morte celular está relacionada ao estresse oxidativo. Nesse contexto, a GAPDH é ativada pelo óxido nítrico (ON), uma das principais moléculas sinalizadoras envolvidas na morte celular. Durante o estresse oxidativo, induzido por ON, a cisteína presente no sítio ativo da GAPDH é nitrosilada. A GAPDH modificada se liga à proteína SIAH1 (uma ligase ubiquitina E3) estabilizando-a. O complexo GAPDH/SIAH estável é translocado para o núcleo, uma vez que SIAH apresenta peptídeo sinal de endereçamento nuclear. No núcleo GAPDH/SIAH degrada proteínas, induzindo citotoxicidade, o que ocasiona a morte celular (HARA et al., 2005).

Foi sugerido que a GAPDH desempenha um papel em várias doenças neurodegenerativas, mas os eventos moleculares ainda não são compreendidos. Na doença de Alzheimer e Parkinson, a GAPDH foi imunoreativa. Foi também observado um acúmulo da GAPDH no núcleo de neurônios em apoptose. Fato interessante é que a GAPDH se liga a várias proteínas responsáveis por desencadear doenças neurodegenerativas, como proteína precursor a β -amilóide, mas o papel da GAPDH na interação ainda não está claro (SHALOVA et al., 2007).

O gene da GAPDH é diferencialmente expresso em muitos tipos de tumores, como câncer renal, de próstata e de mama; enquanto o nível de expressão é reduzido por drogas utilizadas em quimioterapia. Foi sugerido que a GAPDH desempenhe papel no início da formação de tumores, mas os mecanismos moleculares ainda não foram esclarecidos. Podem-se especular razões que expliquem esta expressão alterada, como um aumento crítico na atividade metabólica de células que sofrem transformação maligna, tais como um aumento na demanda energética, com a consequente necessidade de mais atividade de GAPDH, entre outras enzimas glicolíticas. É certo que as enzimas celulares podem ter suas funções reguladas no

nível protéico, sem necessidade de maior expressão gênica. Mas, muito provavelmente, ao se promover um aumento excessivo da demanda funcional, em função de proliferação celular no tumor, outras maneiras de atender às novas necessidades são utilizadas. Entre elas, inclui-se o aumento na expressão gênica, na estabilidade do RNAm, e na eficiência da tradução protéica. No entanto, outras hipóteses não podem ser descartadas, no caso da possível razão do aumento de expressão de GAPDH. Uma delas é de que os oncogenes são capazes de ativar direta ou indiretamente elementos responsivos à hipóxia, presentes nos promotores de enzimas do metabolismo glicolítico, aumentando assim a capacidade glicolítica dos tumores e a habilidade de sobreviver em condições de baixa tensão de oxigênio. Os autores sugerem o uso da GAPDH como um marcador de proliferação celular em diversos tumores (VILA et al., 2000).

Foi também proposto que a GAPDH seja uma proteína de choque térmico (*HSP36* ou *HSP35*), desde que a atividade enzimática específica e a síntese de GAPDH (*HSP35*) em embriões de *Xenopus laevis* é aumentada depois de choque térmico (NICKELLS; BROWDER, 1988).

Além do seu papel no metabolismo de carboidratos e outras funções celulares, a enzima GAPDH foi descrita como molécula de adesão em vários microrganismos patogênicos, sendo provavelmente associada à colonização e possível disseminação de patógenos. A GAPDH de *C. albicans* se liga às proteínas da matriz extracelular e, conseqüentemente, está associada ao estabelecimento da infecção (GOZALBO et al., 1998). A GAPDH foi também detectada na superfície celular de *C. albicans* presente em tecidos infectados, o que suporta o papel dessa proteína no processo de infecção, através da ligação aos tecidos do hospedeiro (GIL et al., 1999).

A GAPDH também é descrita como a

principal proteína de superfície de *Streptococcus pyogenes*, relacionada à virulência e patogênese. Assim, como já relatado para *C. albicans*, a GAPDH de *S. pyogenes* se liga a várias proteínas de mamíferos como, lisozima, fibronectina, actina, miosina e plasmina. A GAPDH também ativa tirosina quinases de células faringiais humanas; o tratamento dessas células com inibidores de quinases inibe significativamente o poder de invasão de *S. pyogenes* no hospedeiro humano (PANCHOLI; FISCHETTI, 1997).

Porphyromonas gingivalis e *Streptococcus oralis* são microrganismos que invadem células epiteliais de revestimento de mucosa, causando infecções e inflamações na cavidade oral. Foi descrito que a GAPDH desses microrganismos atua como ligante à MEC, o que contribui para a colonização do hospedeiro (MAEDA et al., 2004; HAKIMUDDIN; GENCO, 2005). Além disso, foi descrito que a GAPDH promove a adesão de *Mycobacterium avium* às células epiteliais (REDDY; SULEMAN, 2004). Em *Mycoplasma genitalium*, também foi relatado o papel da GAPDH como molécula da adesão (ALVAREZ; BLAYLOCK; BASEMAN, 2003).

Em cepas enterohemorrágicas de *Escherichia coli*, GAPDH foi capaz de se ligar ao fibrinogênio e plasminogênio humanos, além de interagir com células do epitélio intestinal. Foi verificado que, em adição à sua localização citoplasmática, a proteína também é secretada pelas cepas patogênicas, fato não observado em cepas não patogênicas. A secreção de proteínas é um dos principais mecanismos pelos quais os patógenos se comunicam com as células do hospedeiro (EGEA et al., 2007).

Além do seu papel como molécula de adesão, a enzima GAPDH foi descrita como antígeno em vários microrganismos patogênicos, exercendo, em alguns deles, função protetora contra infecção em modelos experimentais (GOUDOT-CROZEL; CAILLOI; DJABALI, 1989). Dentre os microrganismos

em que a GAPDH foi descrita como molécula antigênica podemos citar: *P. brasiliensis* (FONSECA et al., 2001), *C. albicans* (CHAFFIN et al., 1998), *Staphylococcus aureus* (MODUM; WILLIAMS., 1999), *Staphylococcus epidermidis* (PANCHOLI; FISCHETTI, 1997), *Schistosoma mansoni* (GOZALBO et al., 1998), *Streptococcus pneumoniae* (LING et al., 2004).

Além do seu papel antigênico e função potencial no processo de infecção por microrganismos, a GAPDH foi relatada como imunogênica. Tallima et al. (2003), demonstraram o papel potencial da GAPDH e da triose fosfato isomerase de *S. mansoni* como moléculas a serem utilizadas na produção de vacinas contra esquistossomíase em humanos. A GAPDH recombinante de *Edwardsiella tarda*, enterobactéria isolada da água e causadora de patologias em reptéis, pássaros e mamíferos, incluindo humanos, mostrou-se eficaz como vacina na prevenção e combate a edwardsiellose (LIU et al., 2005). Em *S. pneumoniae*, GAPDH foi capaz de elicitar a resposta imune protetora em camundongos, quando os mesmos foram desafiados com cepas virulentas desse microorganismo (LING et al., 2004).

No patógeno *P. brasiliensis*, a GAPDH é uma molécula reativa com soros de pacientes portadores de PCM (FONSECA et al., 2001). Em função desses resultados, sequências codificantes para a GAPDH foram clonadas e caracterizadas. O cDNA apresenta 1.717 pares de bases e a sequência genômica é constituída por cinco éxons, intercalados por quatro íntrons. A sequência deduzida da proteína é constituída por 338 resíduos de aminoácidos. A expressão da GAPDH é regulada durante o desenvolvimento das fases em *P. brasiliensis*, sugerindo seu envolvimento na patogênese deste fungo (BARBOSA et al., 2004).

Bailão et al. (2006), utilizaram a Análise de Diferença Representacional de cDNA (cDNA-RDA) para identificar genes de *P. brasiliensis* induzidos durante o processo infectivo em fígado de animais

experimentais e em condições que mimetizavam a via hematogênica de disseminação fúngica. Durante a infecção, a GAPDH foi diferencialmente expressa; resultado similar foi observado quando células leveduriformes de *P. brasiliensis* foram incubadas com sangue humano, corroborando o possível envolvimento dessa molécula na patogênese do fungo. GAPDH também foi identificada no transcriptoma de *P. brasiliensis* obtido de fígado de camundongos B10, o que reforça seu possível papel no processo infectivo (COSTA et al., 2007).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Proteínas de superfície celular são moléculas potencialmente associadas à interação de fungos com o hospedeiro humano. A capacidade de fungos patogênicos provocarem micoses com grande variedade de manifestações clínicas depende da complexidade de interações entre os mesmos e o hospedeiro humano. Algumas proteínas são necessárias durante a interação com o hospedeiro, conferindo um fenótipo patogênico, por permitir ao fungo aderir aos tecidos do hospedeiro, invadir novos compartimentos, evadir da resposta imune, bem como outras interações hospedeiro-específicas. Embora os mecanismos de adesão e infecção de muitos fungos patogênicos permaneçam pouco entendidos foi sugerido que a capacidade de aderir aos tecidos do hospedeiro seja um fator importante para o estabelecimento das infecções.

Cada vez mais os estudos caminham na elucidação de moléculas e respostas tanto do patógeno quanto do hospedeiro durante suas interações. Ferramentas genômicas têm contribuído para isso mostrando genes diferencialmente

expressos pelos patógenos durante os passos iniciais da infecção. Entender e compreender tais fenômenos aproxima os cientistas aos possíveis antifúngicos, a plasticidade transcricional e consequente produção de moléculas como as adesinas para o sucesso do patógeno no “estranho” ambiente das células do hospedeiro. Esses estudos tornaram-se alvos para o desenvolvimento racional de novos fármacos e métodos terapêuticos.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ, R. A.; BLAYLOCK, M. W; BASEMAN, J. B. Surface localized glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase of *Mycoplasma genitalium* binds mucin. **Mol Microbiol.**, v. 48, n. 5, p. 1417-1425, jun. 2003.
- ANDREOTTI, P. F. et al. Isolation and partial characterization of a 30 kDa adhesin from *Paracoccidioides brasiliensis*. **Microb. Infect.**, v. 7, n. 5/6, p. 875-881, may 2005.
- ANDREOTTI, P. F. **Interação de *Paracoccidioides brasiliensis* com células epiteliais: caracterização de prováveis fatores de virulência.** 2006. 124f. Tese (Doutorado em Biociências e Biotecnologia Aplicadas a Farmácia) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, Araraquara, São Paulo, 2006.
- BAILÃO, A. M. et al. Differential gene expression by *Paracoccidioides brasiliensis* in host interaction conditions: Representational difference analysis identifies candidate genes associated with fungal pathogenesis. **Microb. Infect.**, v. 8, n. 12/13, p. 2686-2697, oct. 2006.
- BAILÃO, A. M. et al. The transcriptional profile of *Paracoccidioides brasiliensis* yeast cells is influenced by human plasma. **FEMS Immunol Med Microbiol.**, v. 51, n. 1, 2007.
- BARBOSA, M. S. et al. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase of *Paracoccidioides brasiliensis* is a cell surface protein involved in fungal adhesion to extracellular matrix proteins and interaction with cells. **Infect Immun.**, v. 74, n. 1, p. 382-389, jan. 2006.
- BARBOSA, M. S. et al. The glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is differentially regulated in phases of *Paracoccidioides brasiliensis*: Molecular and phylogenetic analysis. **Fungal Genet Biol.**, v. 41, n. 7, p. 667-675, jul. 2004.
- BAYNES; DOMINICZAK. **Bioquímica Médica.** Espanha: Manole, 2000. p. 125-129.
- BECK, K.; HUNTER, I.; ENGEL, J. Structure and function of laminin; anatomy of a multidomain glycoprotein. **FASEB J.**, v. 4, p. 148-160, 1990.
- BRANDHORST, T. et al. A C-terminal EGF-like domain governs BAD1 localization to the yeast surface and fungal adherence to phagocytes, but is dispensable in immune modulation and pathogenicity of *Blastomyces dermatitidis*. **Mol Microbiol.**, v. 48, n. 1, p. 53-65, april 2003.
- CASTRO, N. S. et al. Characterization of *Paracoccidioides brasiliensis* Pbdfg5p, a cell-wall protein implicated in filamentous growth. **Yeast**, v. 25, p. 141-154, 2008.
- CHAFFIN, W. L. et al. Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function an expression. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, v. 62, n. 1, p. 130-180, mar. 1998.

- COSTA, M. et al. Transcriptome profiling of *Paracoccidioides brasiliensis* yeast cells recovered from infected mice bring new insight into fungal response upon host-interaction. **Microbiology**, v. 153, n. 12, p. 4194-4207, dec. 2007.
- DE GROOT, P. W. J.; KLIS, F. M. The conserved PA14 domain of cell wall-associated fungal adhesins governs their glycan-binding specificity. **Mol. Microbiol.**, v. 68, n. 3, p. 535-537, may 2008.
- DOLLENMAIER, G.; WEITZ, M. Interaction of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase with secondary and tertiary RNA structural elements of the hepatitis A virus 3' translated and non-translated regions. **J. Gen Virol.**, v. 84, n. 2, p. 403-414, feb. 2003.
- DRAMSI, S.; COSSART, P. Intracellular pathogens and actin cytoskeleton. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, v. 14, p. 137-166, 1998.
- EGEA, L. et al. Role of secreted glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in the infection mechanism of enterohemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*: Interaction of the extracellular enzyme with human plasminogen and fibrinogen. **Int. J. Biochem. Cell. Biol.**, v.39, n. 6, p. 1190-1203, mar. 2007.
- FILLER, S. G. *Candida*-host cell receptor-ligand interactions. **Curr. Opin. Microbiol.**, v. 9, n. 4, p. 333-339, 2006.
- FINLAY, B. B. Cell adhes., ion and invasion mechanisms in microbial pathogenesis. **Curr. Opin. Cell. Biol.** v. 2, n. 5, p. 815-820, 1990.
- FONSECA, C. A. et al. Two-dimensional electrophoresis and characterization of antigens from *Paracoccidioides brasiliensis*. **Microbes Infect.**, v. 3, n. 7, p. 535-542, june 2001.
- GIBSON, K. E.; KOBAYASHI, H.; WALKER, G. C. Molecular determinants of a symbiotic chronic infection. **Annu. Rev. Genet.**, v. 42, p. 413-441, 2008.
- GIL, M. L. et al. Clinical strains of *Candida albicans* express the surface antigen glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in vitro and in infected tissues. **FEMS Immunol Med Microbiol.**, v. 23, n. 3, p. 229-234, mar. 1999.
- GONZÁLEZ, A. et al. Purification and partial characterization of a *Paracoccidioides brasiliensis* protein with capacity to bind to extracellular matrix protein. **Infect. Immun.**, v. 73, n. 4, p. 2486-2495, 2005.
- GOUDOT-CROZEL, V.; CAILLOL, D.; DJABALI, M. The major parasite surface antigen associated with human resistance to schistosomiasis is a 37 kDa glyceraldehyde-3-P-dehydrogenase. **Rev. Exp. Med.**, p. 2065-2074, 1989.
- GOZALBO, D. et al. The cell wall-associated glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase of *Candida albicans* is also a fibronectin and laminin binding protein. **Infect. Immun.**, v. 66, n. 5, p. 2052-2059, 1998.
- HAKIMUDDIN, T. S.; GENCO, R. J. Identification of glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase of epithelial cells as a second molecule that binds to *Porphyromonas gingivalis fimbriae*. **Immun. Med. Microb.**, p. 25-30, 2005.
- HANNA, S. A.; SILVA, J. L.; MENDES-GIANNINI, J. S. Adherence and intracellular parasitism of *Paracoccidioides brasiliensis* in vero cells. **Microb. Infect.**, v. 2, n. 8, p. 887-884, july 2000.

- HARA, M. R. et al. S-nitrosylated GAPDH initiates apoptotic cell death by nuclear translocation following Siah1 binding. **Nat. Cell. Biol.**, v. 7, p. 665-674, 2005.
- HOHENESTER, E. et al. Structural basis of sequence-specific collagen recognition by SPARC. **Proc Natl Acad Sci U S A.**, v. 105, n. 47, p. 18273-18277, 2008.
- HUNG, C. Y. et al. A parasitic phase-specific adhesin of *Coccidioides immitis* contributes to the virulence of this respiratory fungal pathogen. **Infect. Immun.**, v. 70, n. 7, p. 3443-3456, 2002.
- JONG, A. et al. Involvement of human CD44 during *Cryptococcus neoformans* infection of brain microvascular endothelial cells. **Cell Microbiol.**, v. 10, n. 6, p. 1313-1326, 2008.
- KOTTOM, T. J. et al. Lung epithelial cells and extracellular matrix components induce expression of *Pneumocystis carinii* STE20, a gene complementing the mating and pseudohyphal growth defects of ste20 mutant yeast. **Infect. Immun.**, v. 71, n. 11, p. 6463-6471, 2003.
- LI, F.; PALECEK, S. P. EAP1, a *Candida albicans* gene involved in binding human epithelial cells. **Eukaryot Cell.**, v. 2, n. 6, p. 1266-1273, 2003.
- LIMA, O. C. et al. Immunofluorescence and flow cytometry analysis of fibronectin and laminin binding to *Sporothrix schenckii* yeast cells and conidia. **Microb Pathog.**, v. 37, n. 3, p. 131-140, 2004.
- LING, E. et al. Glycolytic enzymes associated with the cell surface of *Streptococcus pneumoniae* are antigenic in humans and elicit protective immune responses in the mouse. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 38, n. 2, p. 290-298, 2004.
- LIU, Y. et al. Vaccine efficacy of recombinant GAPDH of *Edwardsiella tarda* against Edwardsiellosis. **Microbiol Immunol.**, v. 49, n. 7, p. 605-612, 2005.
- MAEDA, K. et al. Characterization of binding of *Streptococcus oralis* glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase to *Porphyromonas gingivalis major fimbriae*. **Infect Immun.**, v. 72, n. 9, p. 5475-5477, 2004.
- MAZA, P. K. et al. Interaction of epithelial cell membrane rafts with *Paracoccidioides brasiliensis* leads to fungal adhesion and Src-family kinase activation. **Microb. Infect.**, v. 10, n. 5, p. 540-547, apr. 2008.
- MAZZOLA, J. L.; SIROVER, M. A. Aging of human glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is dependent on its subcellular localization. **Biochim. Biophys Acta**, v. 1722, n. 2, p. 168-174, 2005.
- MCMAHON, J. P. et al. Murine laminin binds to *Histoplasma capsulatum*. A possible mechanism of dissemination. **J. Clin. Invest.**, v. 96, n. 2, p. 1010-1017, 1995.
- MENDES-GIANINNI, M. J. et al. Pathogenesis II: fungal responses to host responses: interaction of host cells with fungi. **Med. Mycol.**, v. 38, suppl. 1, p. 113-123, 2000.
- _____. Binding of extracellular matrix proteins to *Paracoccidioides brasiliensis*. **Microb. Infect.**, v. 8, n. 6, p. 1550-1559, may 2006.
- MERKEL, G. J.; SCOFIELD, B. A. The in vitro interaction of *Cryptococcus neoformans* with human lung epithelial cells. **FEMS Immunol Med Microbiol.**, v. 19, n. 3, p. 203-213, nov. 1997.
- MEYER-SIEGLER, K. et al. A human nuclear uracil DNA glycosylase is the 37-kDa subunit of

- glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. **Proc. Nat. Ac. of Science**, v. 88, n. 19, p. 8460-8464, 1991.
- MODUN, B., WILLIAMS, P. The staphylococcal transferrin-binding protein is a cell wall glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. **Infect Immun.** v. 67, n. 3, p. 1086-1092, 1999.
- MORGENEGG, G. et al. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is a nonhistone protein and a possible activator of transcription in neurons, **J. Neurochem.**, v. 47, n. 1, p. 54-62, 1986.
- NEMECEK, J. C.; WÜTHRICH, M.; KLEIN, B. S. Global control of dimorphism and virulence in fungi. **Science**, v. 312, n. 5773, p. 583-588, 2006.
- NICKELLS, R. W.; BROWDER, L. W. A role for glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in the development of thermotolerance in *Xenopus laevis* embryos. **J. Cell. Biol.**, v. 107, n. 5, p. 1901-1909, 1988.
- OFEK, I.; GOLDHAR, J.; SHARON, N. Anti-*Escherichia coli* adhesion activity of cranberry and blueberry juices. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v. 408, p. 179-183, 1996.
- PANCHOLI, V.; FISCHE'TTI, V. A. Regulation of the phosphorylation of human pharyngeal cell proteins by group A streptococcal surface dehydrogenase: signal transduction between streptococci and pharyngeal cell. **J. Exp. Med.**, v. 186, n. 10, p. 1633-1643, 1997.
- PEREIRA, L. A. et al. Analysis of the *Paracoccidioides brasiliensis* Triosephosphate Isomerase suggests the potential for adhesin function. **FEMS Yeast.**, v. 7, n.8, p. 1381-1388, 2007.
- REDDY, V. M.; SULEMAN, F. G. *Mycobacterium avium* superoxide dismutase binds to epithelial cell aldolase, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and cyclophilin A. **Microb Pathog.**, v. 36, n. 2, p. 67-74, 2004.
- SHALOVA, I. N. et al. Decrease of dehydrogenase activity of cerebral glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in different animal models of Alzheimer's disease. **Biochim Biophys Acta.**, v. 1770, n. 5, p. 826-832, 2007.
- SHEPPARD, D. C.; YEAMAN, M. R.; WELCH, W. H. Functional and structural diversity in the Als protein family of *Candida albicans*. **J Biol Chem.**, v. 279, p. 30480-30489, 2004.
- SILVA, J. L. M. et al. Epithelial cells treated with genistein inhibit adhesion and endocytosis of *Paracoccidioides brasiliensis*. **Antonie Van Leeuwenhoek.**, v. 92, n. 1, p. 129-135, 2007.
- SINGH, R.; GREEN, M. R. Sequence-specificity binding of transfer RNA by glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, **Science**, v. 259, n. 5093, p. 365-368, 1993.
- SIROVER, M. A. New insights into an old protein: the functional diversity of mammalian glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1432, n. 2, p. 159-184, 1999.
- SRINOULPRASERT, Y.; KONGTAWELERT, P.; CHAIYAROJ, S. C. Chondroitin sulfate B and heparin mediate adhesion of *Penicillium marneffe* conidia to host extracellular matrices. **Microb Pathog.**, v. 40, n. 3, p. 126-32, 2006.
- TALLIMA, H. et al. Differences in immunogenicity and vaccine potential of peptides from *Schistosoma mansoni* glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

Vaccine, v. 21, n. 23, p. 3290-3300, 2003.

VILA, M. R. et al. Increased glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase expression in renal cell carcinoma identified by RNA-based, arbitrarily primed polymerase chain reaction. **Cancer**, v. 89, n. 1, p. 152-64, 2000.

ZHAO, X. et al. Analysis of the *Candida albicans* Als2p and Als4p adhesins suggests the potential for compensatory function within the Als family. **Microbiology**, v. 151, n. 5, p. 1619-1630, 2005.

_____. ALS3 and ALS8 represent a single locus that encodes a *Candida albicans* adhesin; functional comparison between Als3p and Als1p. **Microbiology**, v. 150, n. 7, p. 2415–2428, 2004.

ZHENG, L.; ROEDER, R. G.; LUO, Y. S phase activation of the histone H2B promoter by OCA-S, a coactivator complex that contains GAPDH as a key component, **Cell**, v. 114, n. 2, p. 255–266, 2003.

Recebido em: 26 fevereiro 2012

Aceito em: 29 março 2012