

Nomes \_\_\_\_\_

Responda todas as questões à tinta.

Periodontite é uma doença infecciosa que persiste por até muitos anos, e tem efeito de perda de tecido, incluindo matriz óssea, o que leva pacientes a perderem, se não tratados, os dentes. Além disso, essa infecção pode ter efeitos sistêmicos, incluindo risco de problemas cardiovasculares.

Um mecanismo eficiente de eliminação de bactérias é o sistema complemento, seja qual for a via de ativação. Uma das bactérias causadoras de periodontite é a *Porphyronomas gingivalis*. Essa bactéria secreta proteases chamadas gingipaínas. Um laboratório de pesquisa isolou linhagens mutantes dessas bactérias, conforme descrito na Tabela 1, que apresentam deficiência de expressão de uma ou mais das gingipaínas secretadas: RgpA e RgpB (arginina específicas) e Kgp (lisina específica).

Table I. Linhagens de *P. gingivalis* utilizadas no estudo

<i>P. gingivalis</i> strains	Characteristics	RgpA	RgpB	Kgp
W83	Wild type	Yes	Yes	Yes
W50	Wild type	Yes	Yes	Yes
W50/E8	$\Delta rgpA \Delta rgpB$ Tc <sup>r</sup> , Em <sup>r</sup>	No	No	Yes
W83/Kgp $\Delta$ Ig/HA	$\Delta kgp$ (602–1732) Em <sup>r</sup>	Yes	Yes	No
W83/RgpB+B	<i>rgpB</i> $\Delta rgpA$ Em <sup>r</sup> , Cm <sup>r</sup> mutant for RgpB complemented	No	Yes	Yes
W83/RgpB $\Delta$ 495	$\Delta rgpA \Delta rgpB\Delta^{495-B}$ Cm <sup>r</sup> , Em <sup>r</sup>	No	No	Yes

Estudando essas linhagens de bactérias, os autores perceberam que algumas delas eram mais susceptíveis à morte quando incubadas com soro humano (Figura 1A), e que a sobrevivência das bactérias parecia ser dependente da concentração de gingipaínas no meio. Adição de concentrações crescentes de cada uma das enzimas citadas acima aumentou a sobrevivência das bactérias na presença de soro humano (Figura 1B).

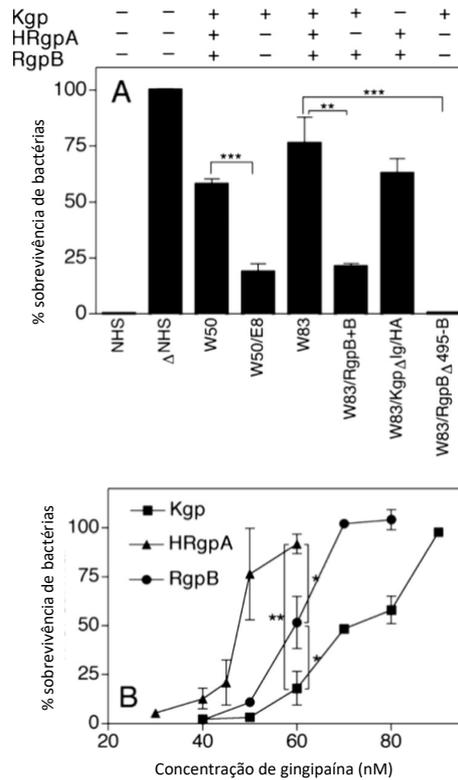


Figura 1. Sobrevivência de gingipaínas na presença de soro humano não desnaturado. A. Bactérias *P. gingivalis* foram incubadas com soro humano e depois semeadas em meio rico. Ao final de 12 horas, as colônias foram contadas para inferir a porcentagem de sobrevivência das bactérias (dados relativos à condição  $\Delta$ NHS – soro inativado). B. O mesmo experimento foi feito, porém enzimas recombinantes, identificadas no gráfico, foram adicionadas à mistura de soro e bactérias nas concentrações indicadas na abscissa do gráfico.

Vendo esse resultado, os autores do trabalho, levantaram a hipótese de que as gingipaínas poderiam estar interferindo no sistema complemento ou na atividade de anticorpos. O experimento da Figura 2 foi feito para testar quais desses fatores era influenciado pelas enzimas.

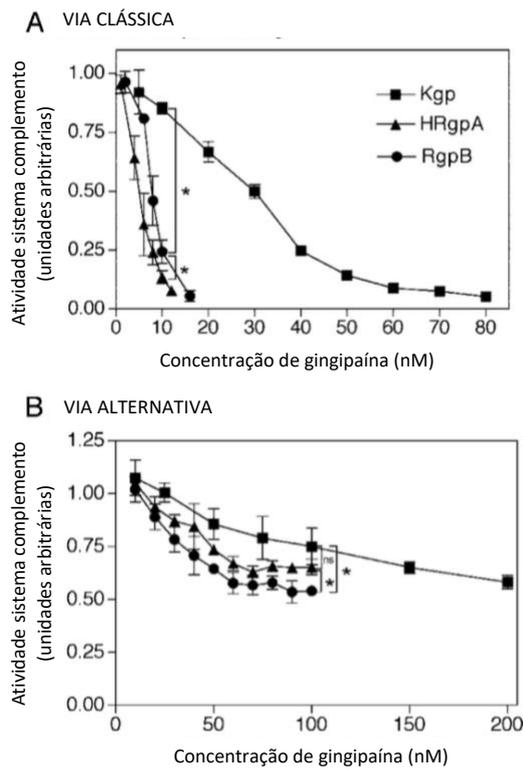


Figura 2. Atividade do sistema complemento definida experimentalmente na presença de concentrações crescentes de gingipaína. Nesse caso, a atividade do sistema complemento foi determinada pela lise de hemácias de carneiro, na presença de soro humano ou na ausência de soro humano. Nos dois casos, as concentrações indicadas de cada uma das enzimas foram adicionadas ao experimento.

Finalmente, tendo observado o resultado da Figura 2, os autores levantaram a hipótese de que as gingipaínas teriam papel na degradação de proteínas do sistema complemento. Essa hipótese foi testada no experimento mostrado na Figura 3.

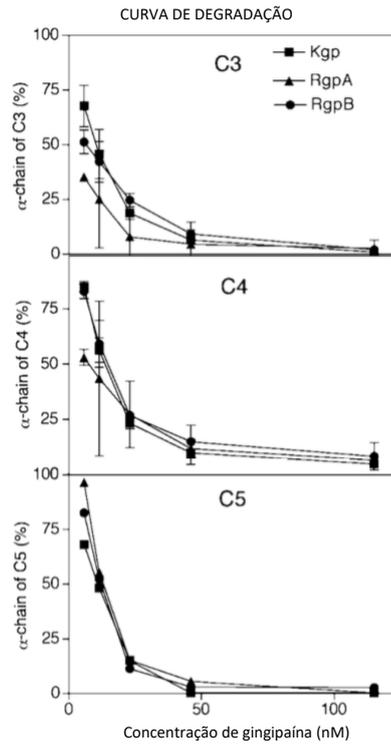


Figura 3. Quantificação da degradação das proteínas C3, C4 e C5 do sistema complemento incubadas com as concentrações indicadas de cada uma das gingipaínas.

Responda:

- qual o mecanismo de escape imunológico das *P. gingivalis* descrito nesse conjunto de experimentos?
- o que você esperaria encontrar de resultado, caso a via das lectinas fosse testada nesses experimentos?
- que elemento do soro é responsável pela ativação do sistema complemento? Que via de ativação é essa?
- se você tivesse acesso a um banco de moléculas e inibidores muito variável, que tipo de tratamento você poderia sugerir para pacientes com infecção por *P. gingivalis*?