

DEPARTAMENTO DE  
**MICROBiologia**  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

## Doenças periodontais

Prof. Dra. Marcia P.A.Mayer

Universidade de São Paulo  
Instituto de Ciências Biomédicas  
Departamento de Microbiologia  
Laboratório de Microbiologia Oral

## Doenças Periodontais

Inflamação dos tecidos de suporte do dente em resposta à microbiota.

Portanto depende da presença de

- microbiota distinta da encontrada na saúde
- e
- hospedeiro suscetível.

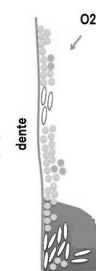


### Saúde Periodontal

- Placa esparsa;
- ausência de sangramento à sondagem
- Profundidade de sondagem - 1 a 3 mm
- sem perda óssea radiográfica



### Saúde Periodontal



O<sub>2</sub>, saliva, dieta

Controle mecânico de placa efetivo

Predominam anaeróbios facultativos – *Streptococcus e Actinomyces*

↑ fluido crevicular


*Streptococcus*

*Haemophilus/Aggr.*

*Actinomyces*


Modificado de Welsh et al., 2016

### Gengivite induzida pelo biofilme



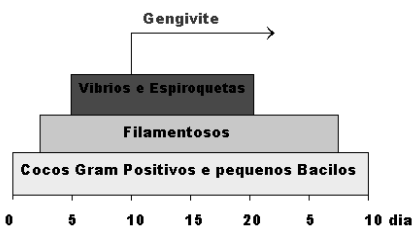
inflamação da gengiva marginal

- Aumento da quantidade total de placa
- evidência de inflamação: edema, sangramento induzido ou espontâneo (>10% sítios).
- PS ≤ 3mm
- Não há perda de inserção ou perda óssea radiográfica. Reversível.

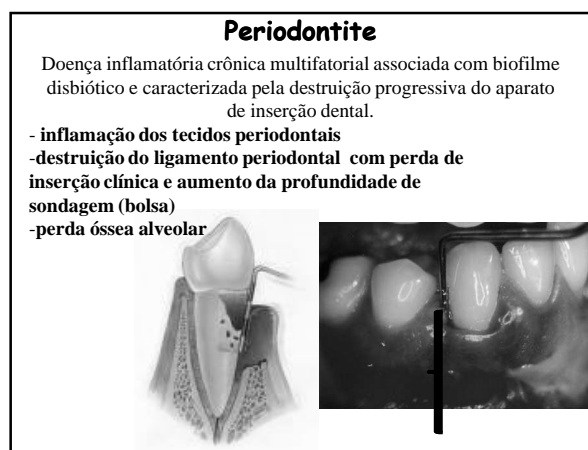
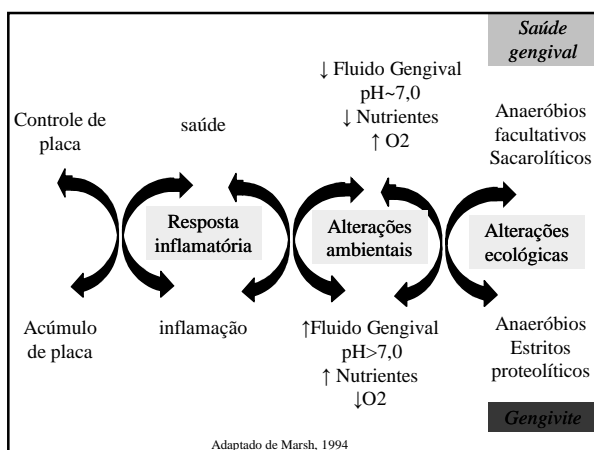
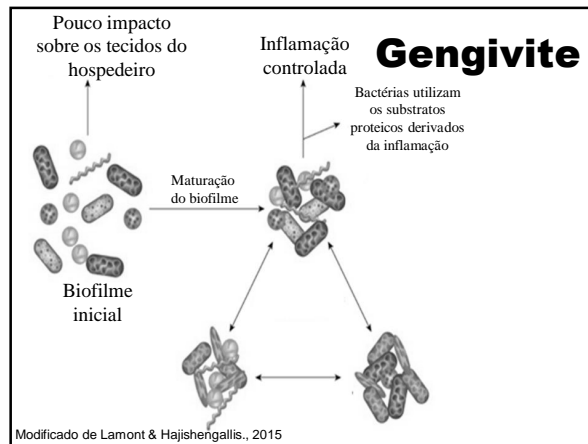
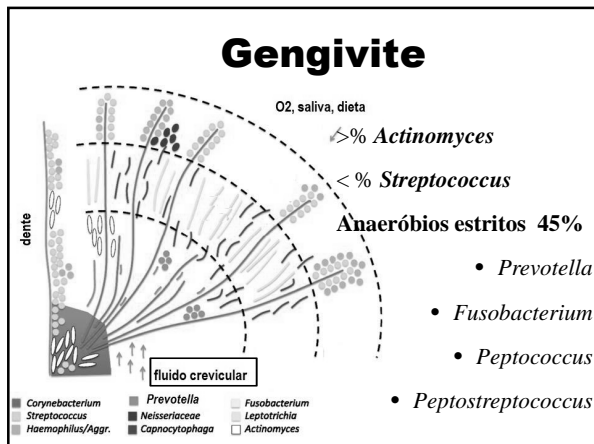


### Gengivite Experimental no Homem

Gengivite →



Løe, Theilade, Jensen; 1965



### Periodontite

- Acúmulo de placa dental e cálculo
- sinais clínicos de inflamação, sangramento à sondagem, supuração. Aumento da profundidade de sondagem (bolsa), perda de inserção clínica, reabsorção do osso alveolar

(a) (b)

### Periodontite

A Periodontite é classificada de acordo com seu:

#### Periodontites

- **ESTÁGIO** - relacionada com a severidade da doença (perda de inserção clínica em mm).
  - I - **1-2 mm** de perda de inserção interproximal no pior sítio ou perda radiográfica no terço coronal (< 15%).
  - II - **3-4 mm** de perda de inserção interproximal no pior sítio ou perda radiográfica no terço coronal (15-33%)
  - III - **5 mm ou mais** de perda de inserção interproximal no pior sítio ou perda óssea radiográfica se estendendo à metade ou ao terço apical da raiz
  - IV - **5 mm ou mais** de perda de inserção interproximal no pior sítio ou perda óssea radiográfica se estendendo à metade ou ao terço apical da raiz. Fatores que modificam o estágio: **perda dental de 5 ou mais dentes devido à periodontite. ...**

A Periodontite é classificada de acordo com seu

- **GRAU - risco de progressão da doença e seus efeitos na saúde sistêmica.**
  - Grau A – progressão lenta (razão % perda óssea/idade até 0,25 mm) e sem fatores de risco (tabagismo ou diabetes mellitus).
  - Grau B – progressão moderada (razão % perda óssea/idade 0,25-1 mm).

Fatores de risco : fumantes abaixo de 10 cigarros ao dia ou HbA1c < 7% em pacientes com diabetes.

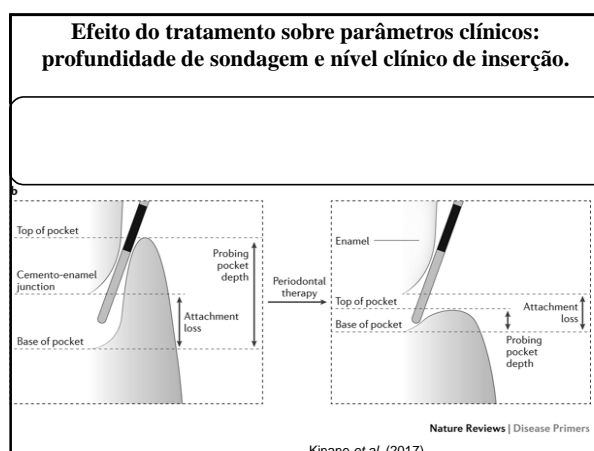
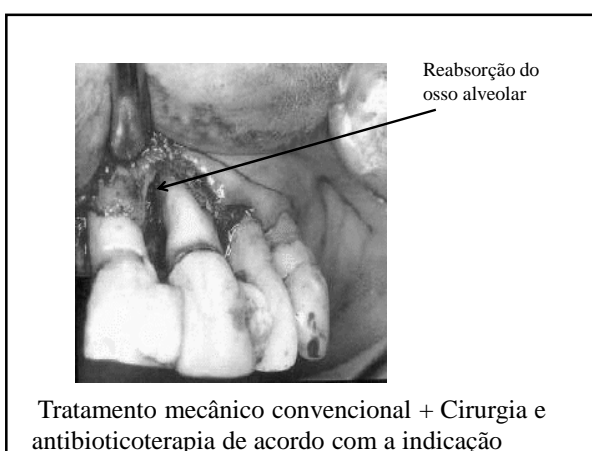
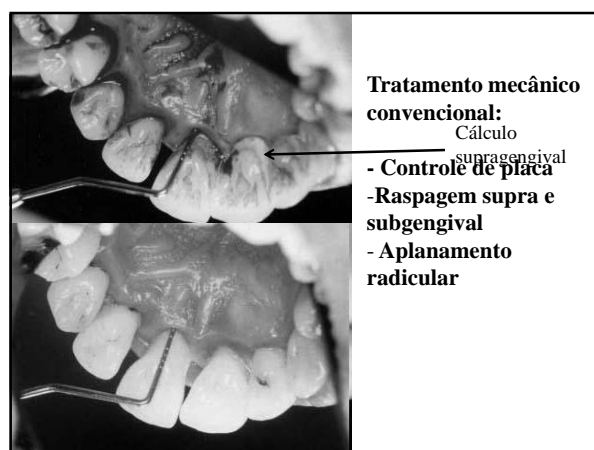
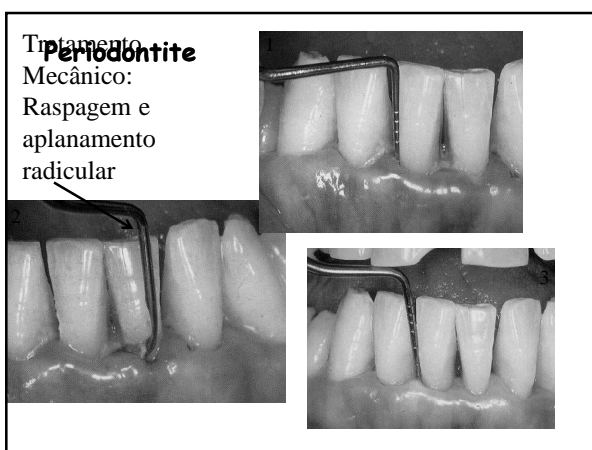
- Grau C – progressão rápida (razão % perda óssea/idade > 1 mm) . A destruição excede ao esperado para a quantidade de biofilme. Períodos de rápida progressão e/ou acometimento precoce da doença .

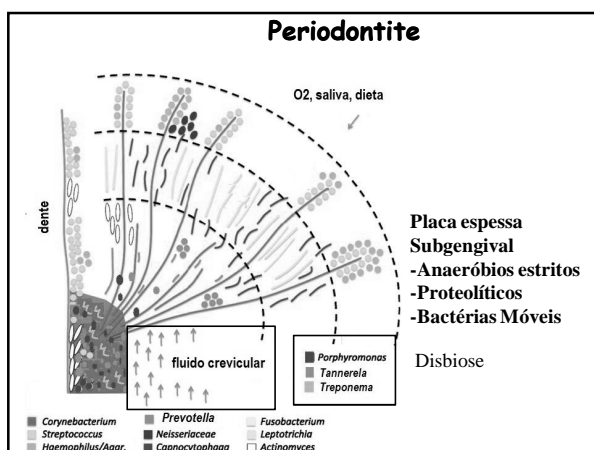
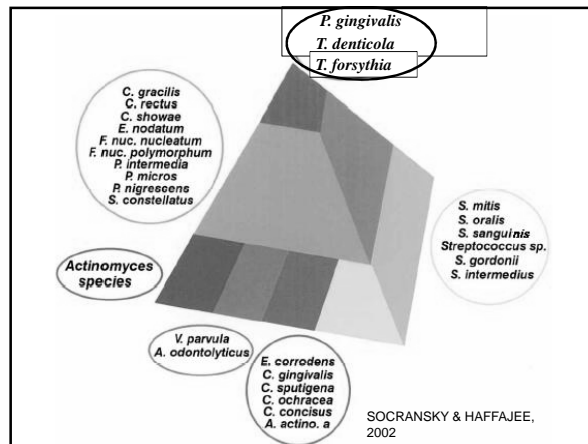
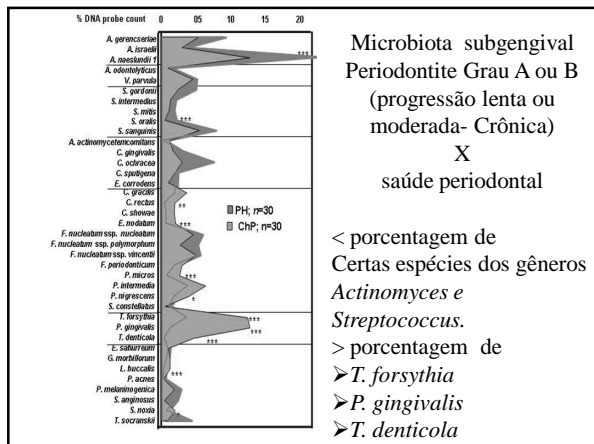
Fatores de risco : tabagismo (10 ou mais cigarros/dia) ou pacientes com diabetes mellitus (HbA1c igual ou superior a 7%).

**Periodontite** **Periodontites**

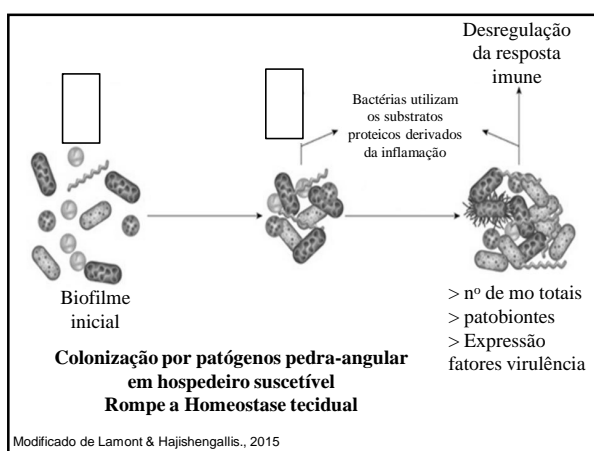
A Periodontite é classificada de acordo com sua

- Extensão:
  - generalizada (30% dos dentes ou mais),
  - localizada (até 30% dos dentes afetados),
  - padrão molar/incisivo.



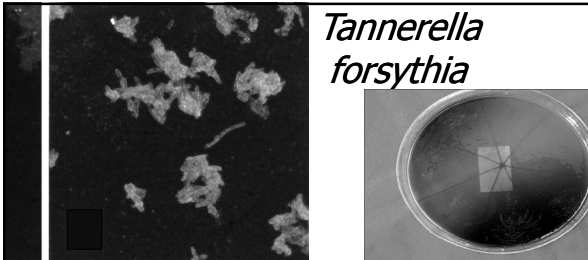


- Periodontite**
- Rateio Móvel/Imóvel 1:1
  - 20 X mais espiroquetas que na saúde
  - Anaeróbios estritos 90%
    - *Porphyromonas gingivalis*
      - *Tannerella forsythia*
      - *Treponema denticola*
- É resultado de desequilíbrio da microbiota periodontal (disbiose).



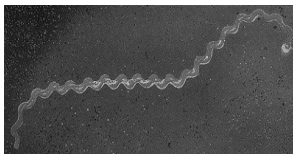
***Porphyromonas gingivalis***

- ✓ cocobacilo Gram negativo
- ✓ anaeróbio estrito
- ✓ imóvel
- ✓ Proteolítico
- ✓ Assacarolítico
- ✓ Manipula a resposta imune – patógeno pedra fundamental



**Tannerella forsythia**

- ⚡ bacilo Gram negativo com extremidades afiladas
- ⚡ imóvel
- ⚡ anaeróbio estrito
- ⚡ proteolíticos
- ⚡ Não sintetiza ácido N-acetil murâmico



**Treponema denticola**

- ✓ espiralado
- ✓ Gram negativo
- ✓ móvel
- ✓ anaeróbio estrito
- ✓ proteolítico
- ✓ Muito exigente quanto a anaerobiose e fatores de crescimento (a maioria dos Treponemas não foi ainda cultivada)

**Patógenos periodontais**

Sobrevivência nos sítios subgingivais

- ⚡ pH
- ⚡ disponibilidade de nutrientes
- ⚡ tensão de Oxigênio
- ⚡ adesão aos tecidos ou a outros microrganismos
- ⚡ Subversão das defesas do hospedeiro

**sulco gengival normal**

**pH ↑** ↪ Sucessão

**bolsa periodontal**

O pH da bolsa periodontal é mais básico do que do biofilme supragengival e do biofilme subgingival de sítio saudável.

*P. gingivalis* se desenvolve em pH acima de 8,0

**Patógenos periodontais**

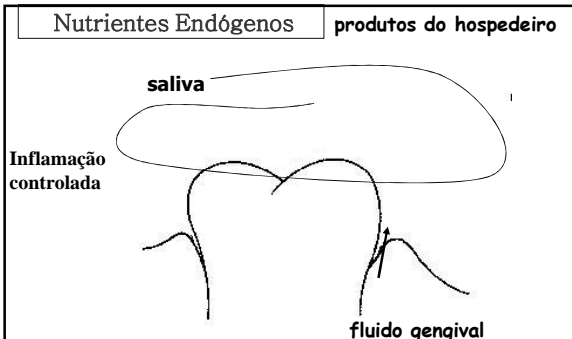
sobrevivência nos sítios subgingivais

- ⚡ disponibilidade de nutrientes:

**O biofilme maduro favorece microrganismos que necessitam de nutrientes produzidos por outros membros da microbiota.**

**A inflamação favorece microrganismos que precisam de nutrientes do fluido gengival**

Nutrientes Endógenos      produtos do hospedeiro



saliva


Inflamação controlada

fluido gengival

composição semelhante a do plasma: albumina, outras proteínas do hospedeiro, glicoproteínas incluindo moléculas do grupo heme

Nutrientes Endógenos      produtos do hospedeiro

**Inflamação gengival : aumenta o volume do fluido gengival**



fluido gengival

Favorecimento de microrganismos que utilizam proteínas e glicoproteínas do hospedeiro.

**Tannerella forsythia**

- Proteolítica – proteínas do fluido gengival
- Não sintetiza ácido N-acetil murâmico (Componente da parede celular -peptideoglicano)

**P. gingivalis**

- Proteolítica- proteínas do fluido gengival
- necessita de hemina e menadione – obtidas do fluido gengival ou do metabolismo de outros microrganismos como dos gêneros *Veillonella* e *Campylobacter*.

**Patógenos periodontais**

sobrevivência nos sítios subgengivais

↓ **tensão de Oxigênio** : redução leva ao favorecimento dos anaeróbios estritos.

- consumo de O<sub>2</sub> pelos mo pioneiros,
- produção de substâncias redutoras,
- espessamento do biofilme,
- aprofundamento do sulco gengival com formação da bolsa periodontal

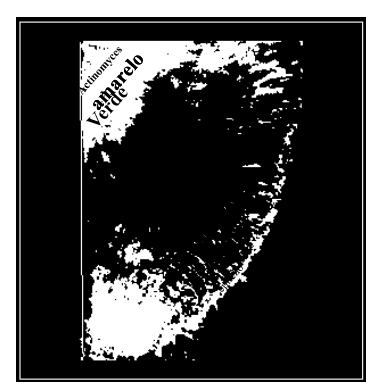
**Patógenos periodontais**

sobrevivência nos sítios subgengivais


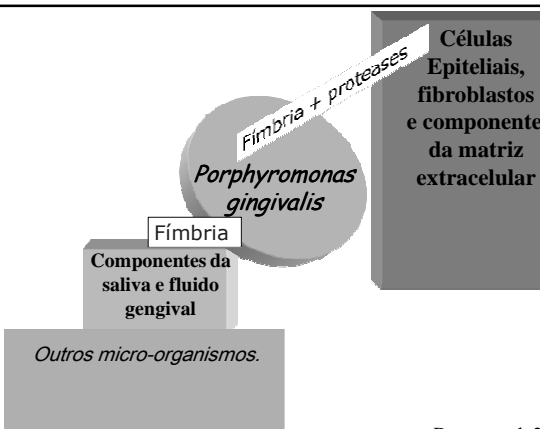
↓ **adesão** –

Ao epitélio interno do sulco e bolsa: adesão às células epiteliais e a proteínas da matriz extra-celular

Co-agregação aos organismos pioneiros (como *Streptococcus*) ou intermediários como *Fusobacterium nucleatum*) no biofilme maduro.



Os patógenos periodontais se ligam ao epitélio e localizam-se preferencialmente próximos ao epitélio interno da bolsa periodontal.

*Porphyromonas gingivalis*

Fímbria + proteases

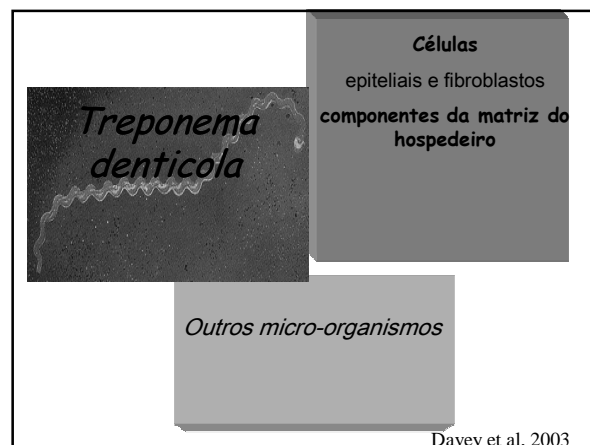
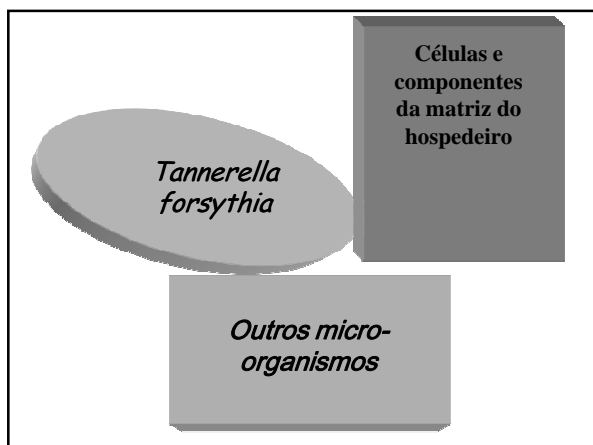
Células Epiteliais, fibroblastos e componentes da matriz extracelular

Fímbria

Componentes da saliva e fluido gengival

Outros micro-organismos.

Davey et al, 2003



Davey et al, 2003

### Fatores de colonização

Sobrevivência nos sítios subgingivais

⚡ Subversão das defesas do hospedeiro:

Inflamação é caracterizada por:

- Fatores quimiotáticos - atraem células da resposta imune
- Neutrófilos, macrófagos e linfócitos. Promovem opsonização, fagocitose e morte de Mo (produtos oxigênio reativos, enzimas, Anticorpos).
- Mediadores como NO e leucotrienos promovem vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular

A diagram of a tooth showing a "Biofilme dental" (dental biofilm) on the surface. Below the gum line, several "PMN" (polymorphonuclear cells) are depicted, indicating an inflammatory response.

1. Patógenos e bactérias comensais são reconhecidos por sistemas de reconhecimento
2. Cél. epiteliais e fibroblastos produzem mediadores inflamatórios como IL-8.
3. Neutrófilos e posteriormente macrófagos são atraídos para o sítio periodontal.

Nature Reviews | Microbiology

A detailed diagram of the inflammatory response in periodontitis. It is divided into "Innate response" and "Adaptive response".

**Innate response:** Shows bacteria triggering a "Rapid response" involving Keratinocyte, NK cell, Neutrophil, and Dendritic cell. These cells release IL-1, IL-8, and TNF. This leads to "Polymorphonuclear cells" and "Keratinocytes" in the tissue, and "Calculus" formation.

**Adaptive response:** Shows a B cell (CD40) and a T cell (IL-1, TGFβ, TNF) interacting. The T cell produces IL-4, IL-10, and IL-12. This leads to CD4+ T cells (IL-4, TGFβ, IL-10, IFNγ) and CD8+ T cells. The CD4+ T cells produce IL-4 and TGFβ, which contribute to "Reabsorção óssea" (bone resorption) via RANKL and "Degradação do ligamento periodontal" (periodontal ligament degradation) via metalloproteinases.

**Inflamação:**  
 Reabsorção óssea – RANKL – diferenciação de osteoclastos  
 Degradação do ligamento periodontal – metaloproteinases.

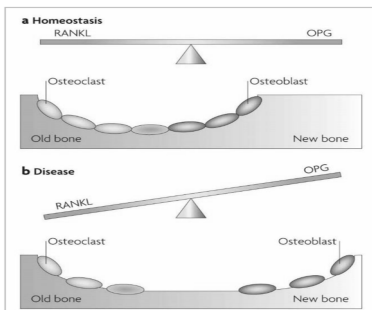
Nature Reviews | Disease Primer  
 Kinane et al. (2017)

A quebra da homeostase leva a resposta inflamatória com produção de:

- Citocinas pro-inflamatórias (IL-1β, TNF-α)
- Quimiocinas (como IL-8 que atrai PMNN)
- Espécies oxigênio reativas
- Metaloproteases de matriz, incluindo Colagenases
- Mediadores lipídicos como prostaglandina
- RANKL (ligante de RANK)/redução da produção de Osteoprotegerina – reabsorção óssea.

### Destruição tecidual (tecido ósseo)

A quebra da homeostase leva a produção de fatores que induzem a osteoclastogênese e (> Produção de RANKL e < produção de osteoprotegerina)



Após o reconhecimento pelas células do hospedeiro, ocorre ativação da resposta do hospedeiro, que difere de acordo com o estímulo

Micro-organismos comensais – induzem resposta limitada *Streptococcus gordonii*

*Fusobacterium nucleatum* – induz a produção de quimiocinas e citocinas inflamatórias, que levam a uma resposta que elimina o organismo

*P. gingivalis* – induz a resposta inflamatória destrutiva, mas impede a resposta protetora que visa a eliminação do patógeno.

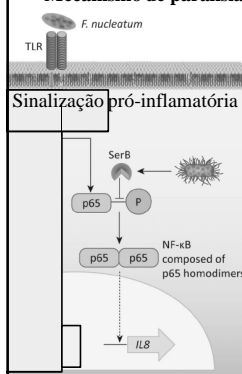
### Fatores de colonização

Sobrevivência nos sítios subgingivais

↓ Subversão das defesas do hospedeiro:

Os patógenos evadem das defesas do hospedeiro, sobrevivendo e se beneficiando da inflamação (infilomofílicos). Na periodontite, a inflamação crônica persiste levando a destruição tecidual e não ocorre o reparo tecidual.

### Mecanismo de paralisia de quimiocina induzido por *P. gingivalis*



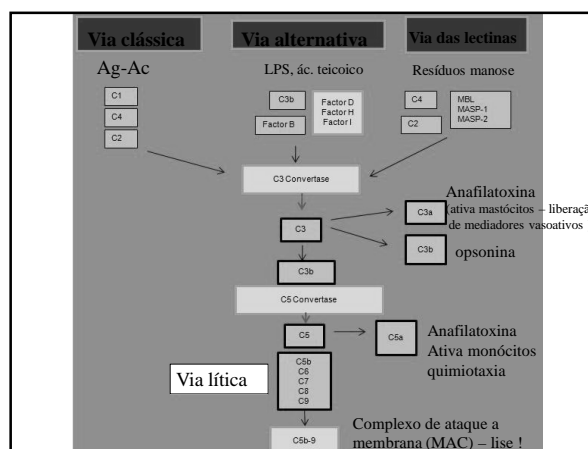
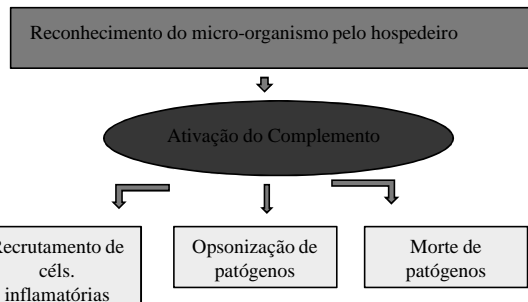
Bactérias orais como *F. nucleatum* se ligam a TLRs na superfície de células epiteliais e ativam as vias de sinalização inflamatórias.

• *P. gingivalis* produz a serino fosfatase SerB (desfosforila um resíduo de serina na subunidade p65 de NF-κB)

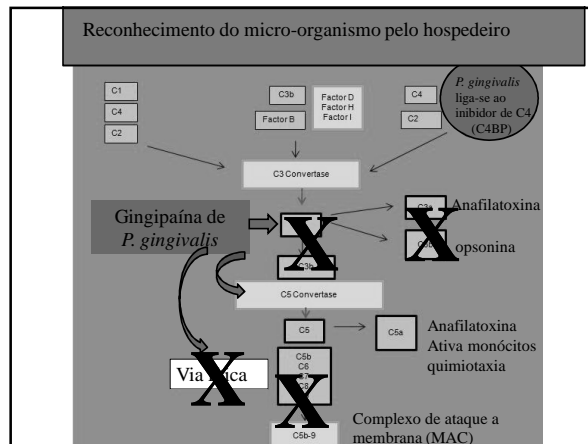
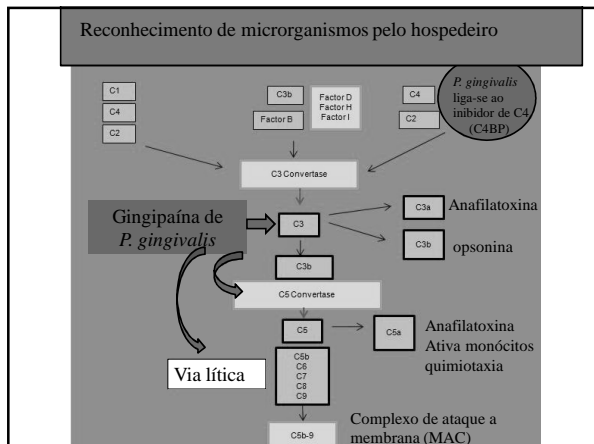
• SerB previne a ativação da via do NF-κB e assim reduz a transcrição do gene IL-8.

• Redução da síntese de IL-8 : redução da migração de células de neutrófilos para o local da infecção.

Sistema complemento : proteínas plasmáticas que reagem umas com as outras induzindo uma série de respostas inflamatórias para proteger contra agentes infecciosos.

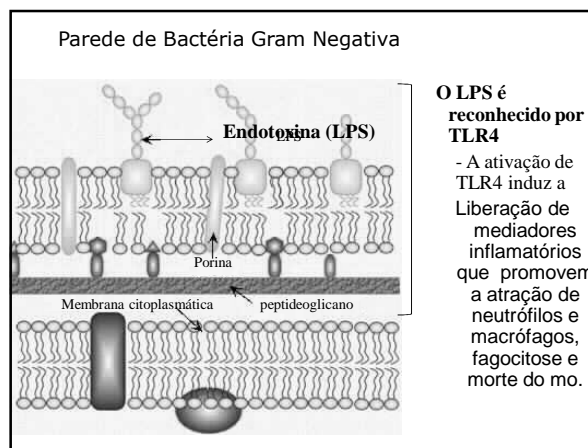






***P. gingivalis***

- **Altera a atividade do sistema Complemento**
  - Sequestra proteína circulante ligante de C4b (C4BP inibidora de C4)
  - **Gingipaína** -
  - Ativa mecanismos associados à inflamação e à reabsorção óssea, mas diminui a atividade de morte bacteriana induzida por fagócitos
  - **inativa C3** - opsonizante
    - age como C5 convertase (acúmulo de C5a – vasodilatação, recrutamento e ativação de leucócitos).
    - degrada C5b – não forma MAC ( não leva à lise das bactérias)



**Fatores de Evasão das Defesas do Hospedeiro**

LPS de *P. gingivalis* – antagonista de TLR4 (previne a ativação de TLR4)

*P. gingivalis* é reconhecido por TLR2.

- ativa a inflamação/reabsorção óssea,
- A ativação de TLR2/C5aR bloqueia a fagocitose e a produção de NO por neutrófilos e macrófagos.

**Fatores de Evasão das Defesas do Hospedeiro**

Inibição da atividade de neutrófilos e macrófagos

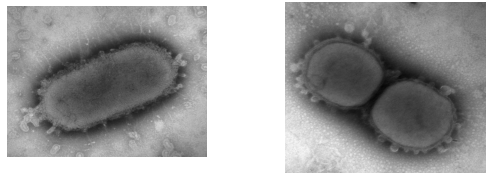
**Fatores que impedem o reconhecimento por fagócitos**

- **Cápsula**  
*Porphyromonas gingivalis*

Fatores que impedem o reconhecimento por fagócitos  
*P. gingivalis*

**inflamação temperatura ↑**

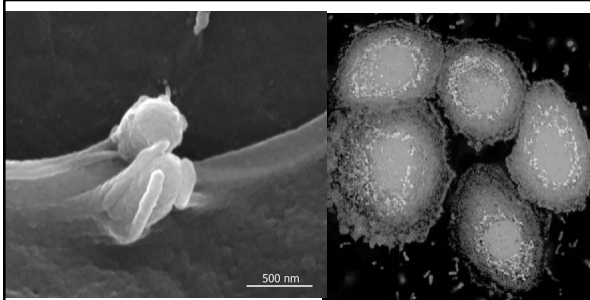
**↓ fimbrilina**      **↑ cápsula**



**Internalização em células não fagocíticas:**  
**fibroblastos , células epiteliais**

citoplasma é um nicho apropriado escapar das defesas do hospedeiro

*Tannerella forsythia*  
*Porphyromonas gingivalis*  
*Treponema denticola*



Takeuchi et al., 2011      Lamont & Yilmaz, 2002

Interação de *P. gingivalis* com células do epitélio gengival  
A- Imagem de microscopia de eletrônica de varredura após 15 min de interação  
B - Imagem de fluorescência (B) após 24 horas de interação.  
Inibição da apoptose

*Estratégias de evasão das defesas do hospedeiro por P. gingivalis, para promover a disbiose e aumentar o potencial patogênico da comunidade microbiana.*

- ❖ Internaliza em células epiteliais ( sobrevivência ).
- ❖ Regulação negativa de fatores bacterianos associados ao reconhecimento pelo hospedeiro (fímbria) em condições de inflamação .
- ❖ Regulação positiva da cápsula em condições de inflamação – mascara os antígenos bacterianos reconhecidos pelo hospedeiro
- ❖ Inibe a Produção de IL-8 (induz o recrutamento de neutrófilos para o sítio de infecção) – serino fosfatase SerB
- ❖ LPS atípico que ativa TLR2 e não TLR4 ao contrário dos LPS da maioria dos Gram negativos – inflamação sem fagocitose e morte intracelular
- ❖ Gingipaina - Subverte o complemento > destruição tecidual e < lise de bactérias

***P. gingivalis***  
**patógeno pedra-angular**  
baixa %, mas tem a capacidade de levar disbiose (desequilíbrio) da microbiota – transição da microbiota comensal para microbiota patogênica

- **Manipula a resposta do hospedeiro** - induz resposta destrutiva, mas impede a resposta protetora que visa a eliminação do patógeno
- **Promove a melhor adaptação da microbiota disbiótica**

**Periodontite Grau C- Agressiva**  
Progressão rápida (razão % perda óssea/idade > 1 mm)  
Destruição incompatível com a quantidade de placa,  
Estabelecimento precoce,  
Agregação familiar  
**Generalizada**  
Acomete outros de Incisivos e Molares (>30% dos dentes são afetados)

**Padrão Molar Incisivo** (<30 % dos dentes são afetados, principalmente molares e incisivos)

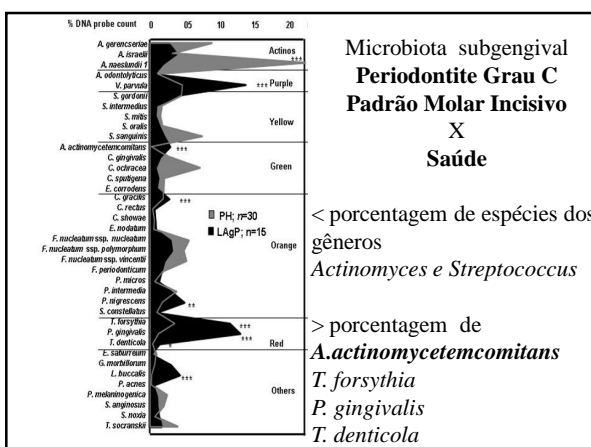
**Periodontite Grau C Padrão molar Incisivo**

**Placa esparsa  
Muita destruição**

Progressão rápida (razão % perda óssea/idade > 1 mm), precoce, agregação familiar

**Periodontite Grau C Padrão Molar Incisivo**

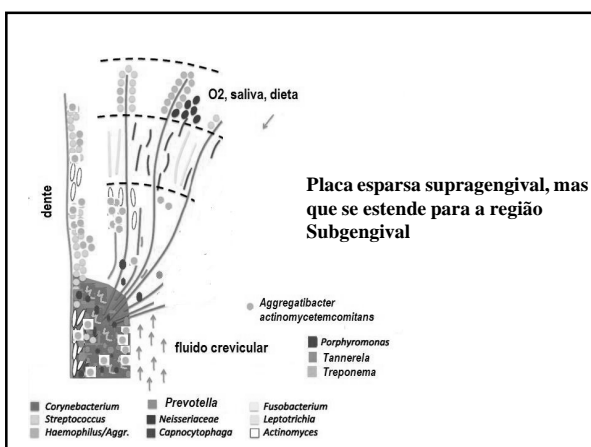
- Perda de inserção rápida e precoce- início 11 anos
- localizada - incisivos e molares (<30 % dos dentes são afetados)



**Aggregatibacter actinomycetemcomitans**

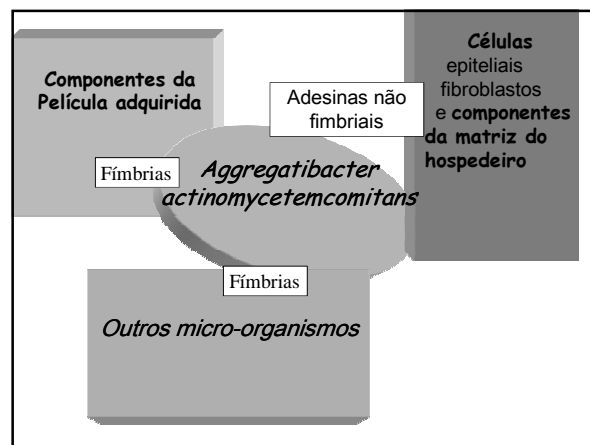
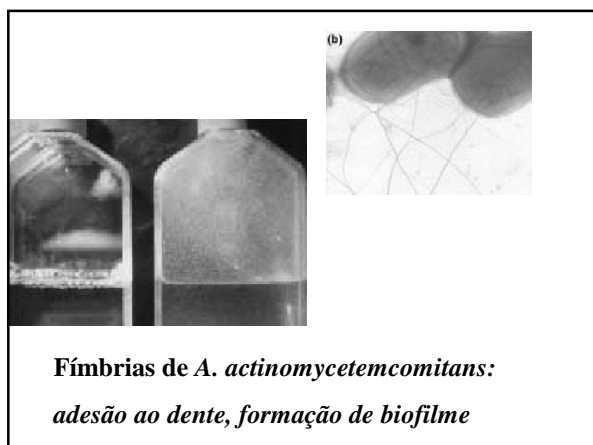
- Cocobacilo
- Gram negativo,
- Anaeróbios Facultativo,
- Sacarolítico

- Apresenta um clone de maior virulência fortemente associado a PPMI, Originado na África Central.



**Sobrevivência de *A. actinomycetemcomitans* nos sítios supra e subgingivais**

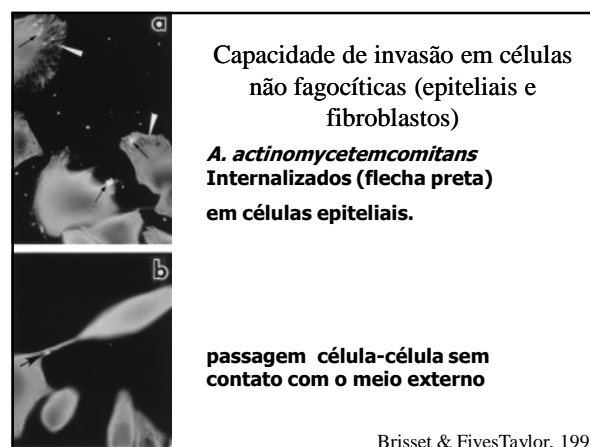
- ✚ pH - neutro
- ✚ disponibilidade de nutrientes – utiliza Carboidratos, lactato e proteínas
- ✚ tensão de Oxigênio – anaeróbico facultativo
- ✚ adesão à superfície do dente, a outros microrganismos e a células epiteliais
- ✚ Subversão das defesas do hospedeiro com indução de resposta destrutiva



***A. actinomycetemcomitans***  
**Subversão das defesas do hospedeiro**

**Estratégias de evasão das defesas do hospedeiro**

- ❖ Internalização em células epiteliais ( sobrevivência ).
- ❖ Produção de exotoxinas:
  - Leucotoxina
  - Toxina Distensora Citoletal

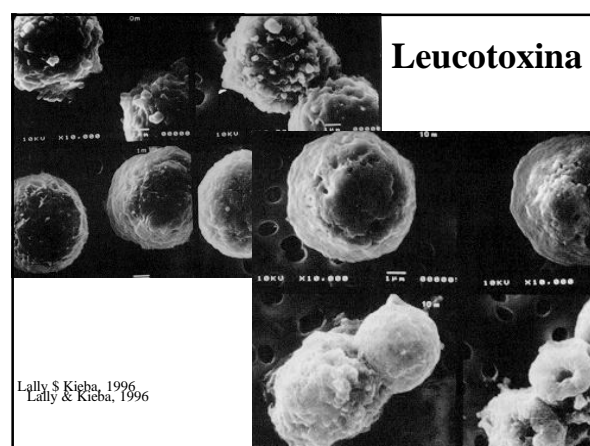


evasão das defesas do hospedeiro

***Aggregatibacter actinomycetemcomitans***

**Leucotoxina**

- Exotoxina que leva a **Destruição de Neutrófilos e Macrófagos de Humanos e outros primatas**
- **Formação de poros e lise osmótica da célula alvo**
- **Um clone produtor de altos níveis de leucotoxina é associado à periodontite agressiva em pacientes afro-descendentes**



evasão das defesas do hospedeiro  
*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

### Toxina Distensora Citoletal

Exotoxina produzida por muitas espécies de bactérias Gram negativas, patógenos de mucosas.

- inibe a proliferação de células epiteliais, fibroblastos
- Apoptose de linfócitos T.
- Inibe fagocitose por macrófagos.

### Risco às doenças periodontais

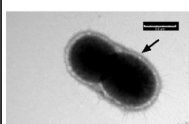
*A doença periodontal é multifatorial*

Condições que alteram o quadro inflamatório

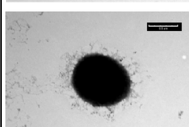
- ❖ diabetes tipo 1
- ❖ diabéticos tipo 2 sem equilíbrio glicêmico
- ❖ fumo – alteração na resposta imune
  - aumento na colonização por patógenos
- ❖ stress, ansiedade, depressão- resposta exacerbada
- ❖ Síndrome de Down

O cigarro leva a alterações na expressão de fatores de virulência de *P. gingivalis*.

Micrografia (TEM)  
*P. gingivalis*



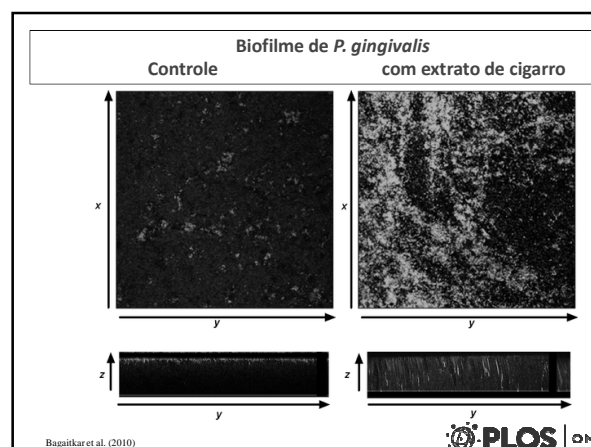
Com fumo:  
Apresenta cápsula



Sem fumo:  
• Não apresenta cápsula  
• apresenta fimbria (Forma mais biofilme)

Bagaikar et al. (2010)

PLOS ONE



Bagaikar et al. (2010)

PLOS ONE

### Risco às doenças periodontais

*A doença periodontal é multifatorial*

Condições que alteram o quadro inflamatório

#### Fatores genéticos

- Haplótipos de Interleucina-1 (IL-1) relacionados a maior expressão de IL-1 – Periodontite (Braosi et al., 2013)
- Haplótipos de Interleucina-4 (regula negativamente a função de macrófagos) (Finoti et al. 2013)
- Haplótipos de IL-8 (2X mais risco a periodontite) (Scarel Caminaga et al., 2011)