

Patógenos periodontais

Sobrevivência nos sítios subgingivais

P. gingivalis, T. denticola e T. forsythia

não colonizam animais livres de germes, mas requerem uma comunidade polimicrobiana, que vai alterar as condições ambientais, e dar condições para a colonização pelos patógenos.

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

Patógenos periodontais

Sobrevivência nos sítios subgingivais

➤ pH

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 oriundos do fluido gengival e da destruição tecidual (proteínas, ferro, glicoproteínas).

Os patógenos figuram entre as espécies enriquecidas após as alterações ambientais feitas pelo biofilme inicial

Tannerella forsythia

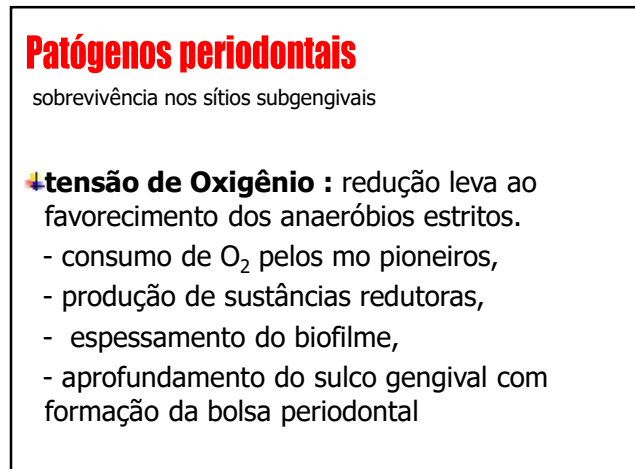
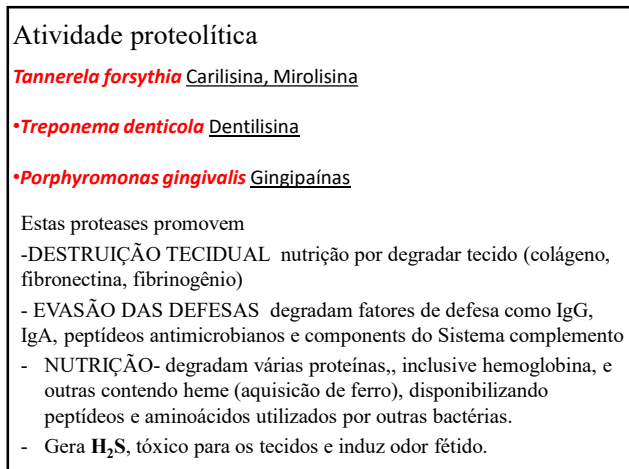
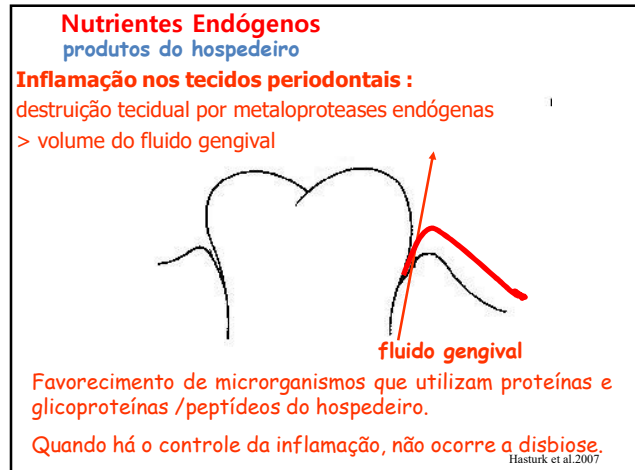
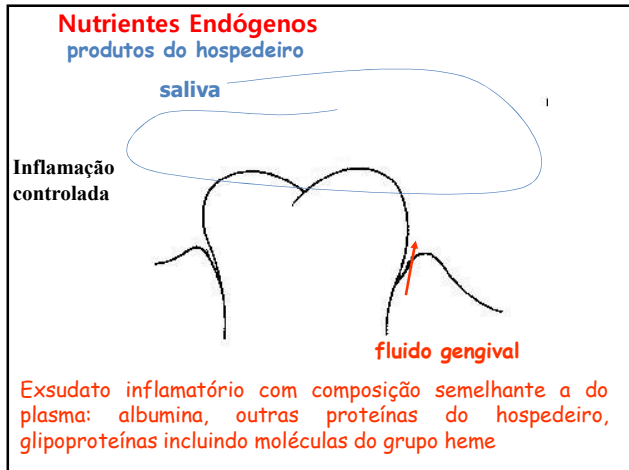
• Não sintetiza ácido N-acetil murâmico (Componente da parede celular - peptidoglicano). Utiliza de outros microrganismos (*P. micros*).

Treponema denticola

• *P. gingivalis* secreta ác. Isobutírico e glicina, utilizados por *T. denticola*.

• *Porphyromonas gingivalis*

T. denticola secreta ácido succínico utilizado por *P. gingivalis*

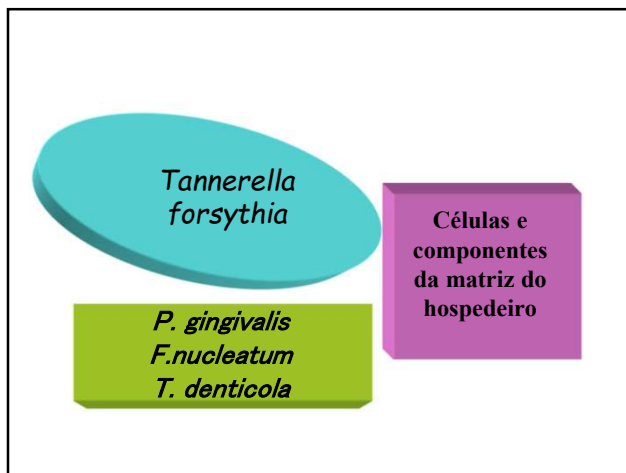
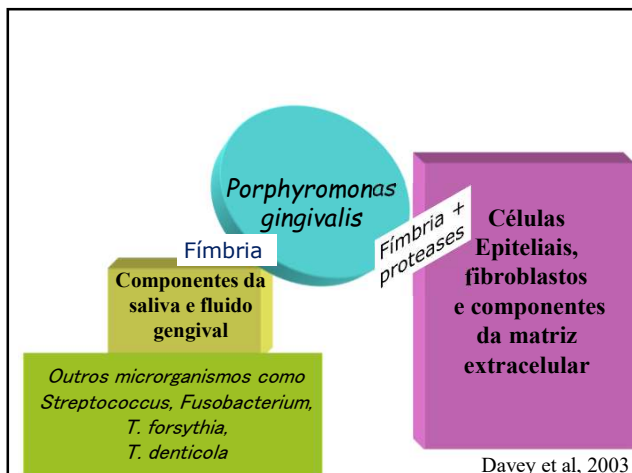
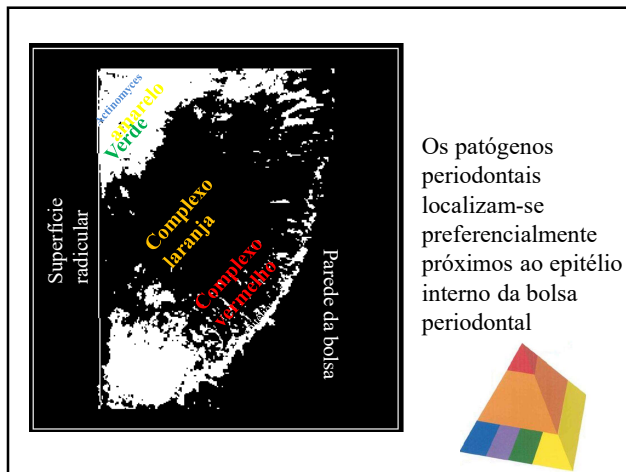


Patógenos periodontais

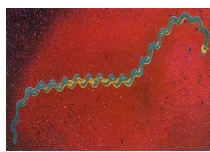
sobrevivência nos sítios subgingivais

adesão –

- Ao epitélio interno do sulco e bolsa: adesão às células epiteliais e a proteínas da matriz extra-celular (fibronectina, laminina, etc).
- Co-agregação aos organismos pioneiros (como *Streptococcus*), intermediários (como *Fusobacterium nucleatum*), ou tardios no biofilme maduro.



Treponema denticola



Adesinas na extremidade da célula

Células
epiteliais e fibroblastos
componentes da matriz do
hospedeiro

Porphyromonas gingivalis
Tannerella forsythia

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.

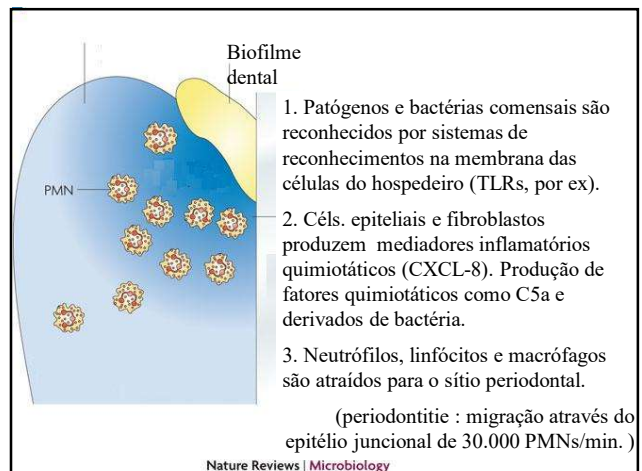
Fatores de colonização

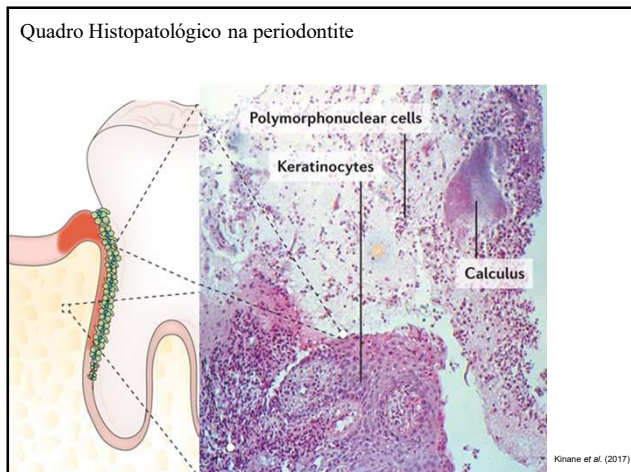
Sobrevivência nos sítios subgingivais

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 à **destruição tecidual** e não ocorre a fase de resolução da inflamação e reparo tecidual.





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

Microrganismos 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

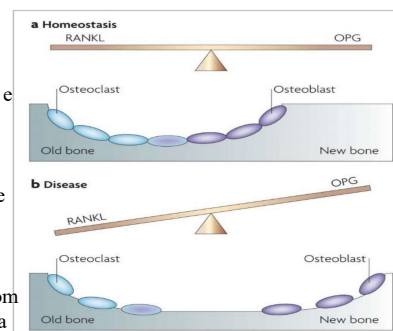
P. gingivalis – induz a resposta inflamatória destrutiva, mas impede a resposta protetora que visa a eliminação do patógeno.

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

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

P. gingivalis, *T. forsythia* e *T. denticola* induzem inflamação com destruição do ligamento periodontal e reabsorção óssea.

- Induzem osteoclastogênese (> Produção de RANKL e < produção de osteoprotegerina)
- Induzem a produção de metaloproteases endógenas
- Produzem proteases com atividade colagenolítica



Inibição da atividade de leucócitos

Mecanismo de paralisa de quimiocina induzido por *P. gingivalis*

Sinalização pró-inflamatória

- Bactérias orais como *F. nucleatum* se ligam a TLRs 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 CXCL-8.
- Redução da síntese de CXCL-8 : redução da migração de neutrófilos para o local da infecção.

Ativação do Complemento

P. gingivalis ativa o complemento

Vias: Via lectinas, Via clássica, Via alternativa

Resíduos manose, LPS, ác. teicoico

C5b- C9: *Lise de patógenos*

C3: *Opsonização fagocitose*

C4a, C3a, C5a: *anafilotoxina*

www.researchgate.net/publication/268216499

C3 → C3a *Anafilatoxina* / C3b *Opsonização fagocitose*

C3b → C3a / C5b

C5b → C5a *Anafilatoxina Ativa monócitos quimiotaxia* / C5b-9

C6, C7, C8, C9

Complexo de ataque à Membrana C5b-9 *Lise de patógenos*

anafilotoxina : liberação de mediadores vasoativos de mastócitos

Subversão da defesa mediada pelo Complemento

1. Ligação a reguladores negativos de ativação de C

Lipoproteína T.denticola H, *Arg Gingipaina P. gingivalis*

C4BP: proteína ligante de C4b

C3 convertase

Fator H ou C4BP ligados à superfície das bactérias - reduzem a ativação do complemento/favorecem a degradação de C3

Potempa et al., 2008; Mc Dowell et al., 2009.

Subversão da defesa mediada pelo Complemento

2. Degradação de componentes do Complemento por proteases

- Arg Gingipaína de *P.gingivalis* / Interpaína A de *P.intemedia* /
- Dentilisina de *T. denticola* degradam C3 e C3b
- Carilisina de *T. forsythia* degrada C4 e a lecitina ligante de manose

Lamond & Hajengalis, 2015

Subversão da defesa mediada pelo Complemento

3. Gíngipaína de *P. gingivalis* age como C5 convertase, e cliva C5b.

C5 *Gingipaína* C5 convertase
 C5a *Anafilatoxina*
 C5a *Ativa monócitos*
 C5a *Quimiotaxia*
 C5a *Sinalização C5aR –TLR2*
 C6
 C7
 C8
 C9
 Complexo de ataque à Membrana C5b-C9
Lise de patógenos

Lamond & Hajengalis, 2015

Parede de Bactéria Gram Negativa

Endotoxina (LPS)

LPS geralmente é reconhecido por TLR4

- A ativação de TLR4 induz a Liberação de mediadores inflamatórios que promovem a atração de neutrófilos e macrófagos, fagocitose e morte do mo.

Membrana citoplasmática
 peptideoçglicano
 Porina

Inibição da atividade de leucócitos

LPS modificado de *P. gingivalis*

LPS de *P. gingivalis*

- antagonista de TLR4 (previne a ativação de TLR4)
- reconhecido por TLR2.
- **Sinalização TLR2 - C5aR**
 ativação da inflamação/reabsorção óssea,
 ✓ Produção de citocinas inflamatórias
 mas sem eliminar os microrganismos
 ✓ bloqueio da fagocitose e da produção de NO por neutrófilos e macrófagos.

Inibição da atividade de leucócitos

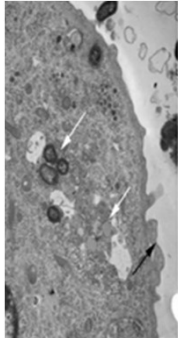
P. gingivalis

Internaliza em macrófagos por mecanismos dependentes da fimbria FIMA

Internaliza em células dendríticas por mecanismos dependentes da fimbria Mfa1

E tem mecanismos que favorecem a sua sobrevivência dentro do macrófago e de CD.

Macrófagos estimulados por *P. gingivalis* W83. seta branca: *P. gingivalis* internalizado pelo macrófago; seta preta: *P. gingivalis* aderido à superfície do macrófago. Yang et al., 2018




Inibição da atividade de leucócitos

Fatores que impedem o reconhecimento por fagócitos

- Cápsula
Porphyromonas gingivalis

P. gingivalis capsulados são mais virulentos em modelo animal que *P. gingivalis* sem cápsula



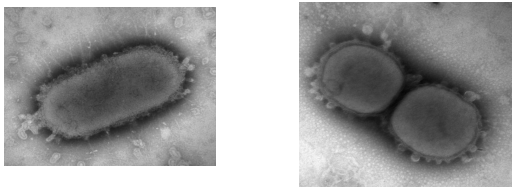
Inibição da atividade de leucócitos

Regulação de Fatores que impedem o reconhecimento por fagócitos

P. gingivalis

inflamação temperatura ↑

↓ Fimbria FIMA ↑ cápsula

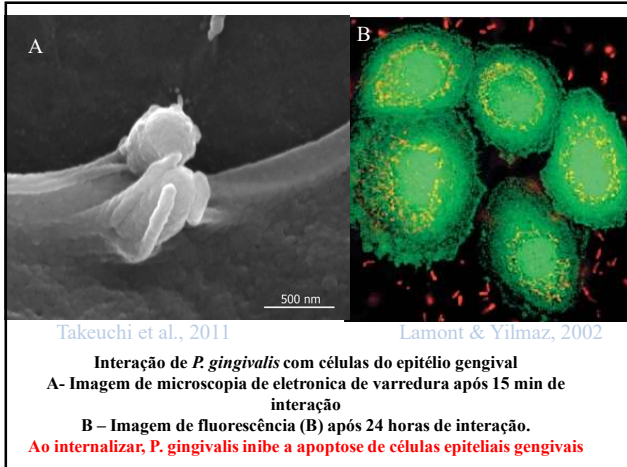


Internalização em células não fagocíticas:

fibroblastos , células epiteliais

citoplasma é um nicho apropriado para escapar das defesas do hospedeiro

Tannerella forsythia
Porphyromonas gingivalis
Treponema denticola



P. gingivalis

Estratégias de evasão das defesas do hospedeiro

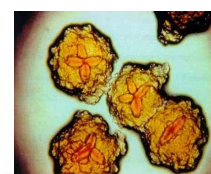
- *Proteases* que degradam moléculas de defesa como peptídeos antimicrobianos, fatores do sistema complemento, anticorpos.
- Inibe a ativação do complemento (*ligação com C4BP*).
- Subverte o complemento (<MAC e >C5a) *Gingipaina*
 - > inflamação destruição tecidual e
 - < eliminação de MOs por fagocitose ou lise
- *Promove C5aR-TLR2 cross talk* – bloqueio da fagocitose e da morte intracelular por neutrófilos (*C5a + LPS atípico* - ativa TLR2)
- Internaliza e sobrevive em células epiteliais, fibroblastos, macrófagos (*F1MA*) e células dendríticas (*Mfa1*).
- Produz *cápsula*- dificulta o reconhecimento pelo hospedeiro
- Regula a expressão de fatores bacterianos associados ao reconhecimento pelo hospedeiro (+ de fímbria e – de cápsula) em condições de inflamação .
- Promove Paralisia de quimiocinas – *serino fosfatase SerB*

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



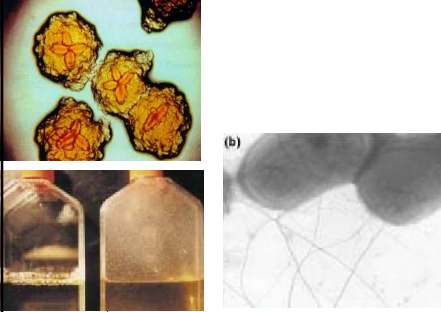
Aggregatibacter actinomycetemcomitans



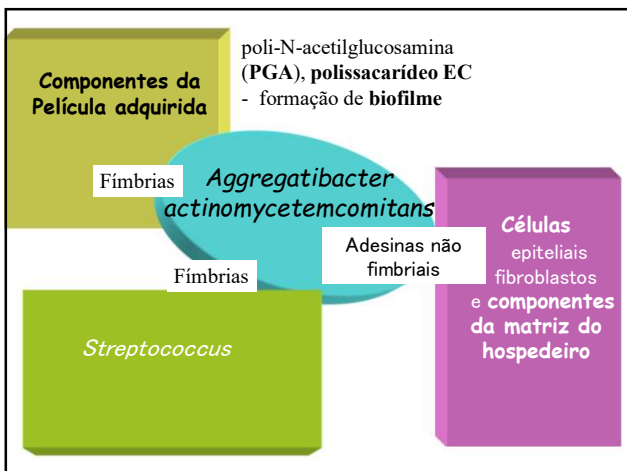
- Cocobacilo
- Gram negativo,
- Anaeróbio Facultativo,
- Sorotipos virulentos b e c
- Apresenta um clone de maior virulência fortemente associado a PGrauC PMI, Originado na África Central.
- Associado a periodontite de progressão rápida (Agressiva).
- Em humanos, pacientes com Aa detectável tem maior destruição óssea que os pacientes Aa negativos (Fine et al., 2007)

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

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

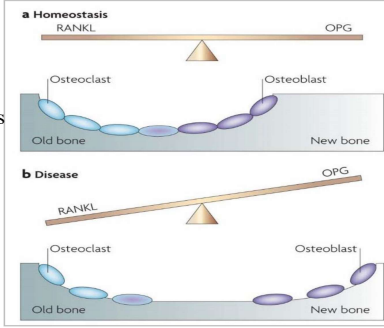


**Fímbrias de *A. actinomycetemcomitans*:
adesão ao dente, formação de biofilme**



***A. actinomycetemcomitans* induz inflamação com destruição de ligamento periodontal e reabsorção óssea**

- CDT induz osteoclastogênese (> Produção de RANKL)
- Induz produção de metaloproteases endógenas
- Produz collagenase
- LPS e Polissacarídeo Capsular (CPA) inibem a síntese de colágeno. LPS aumenta a fagocitose de colágeno por fibroblastos.
- CPA e a proteína secretada CagE induzem apoptose de osteoblastos



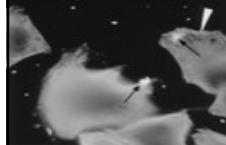
a Homeostasis
RANKL (left) / OPG (right) - Balance

b Disease
RANKL (left) / OPG (right) - Imbalance (RANKL > OPG)

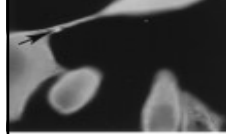
A. actinomycetemcomitans**Subversão das defesas do hospedeiro****Estratégias de evasão das defesas do hospedeiro**

- ❖ Internalização em células epiteliais (sobrevivência).
- ❖ Produção de cápsula
- ❖ Resistência a morte intracelular mediada por Oxigênio
- ❖ Resistência a ação do sistema Complemento
- ❖ Produção de duas exotoxinas:
 - Leucotoxina
 - Toxina Distensora Citoletal

A. actinomycetemcomitans
 Internalizados (flecha preta) e aderidos (flecha branca em células epiteliais.



passagem célula-célula sem contato com o meio externo



A. actinomycetemcomitans
 invade células não fagocíticas (epiteliais e fibroblastos)

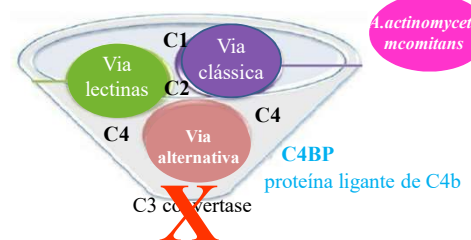
- Migra através do epitélio da bolsa
- Não é reduzido pelo tratamento mecânico convencional (requer antibioticoterapia)
- Ao internalizar, induz apoptose das células epiteliais gengivais

LPS causa aumento do espaço intercelular (Belibasakis et al., 2020)

Brisset & Fives Taylor, 1999

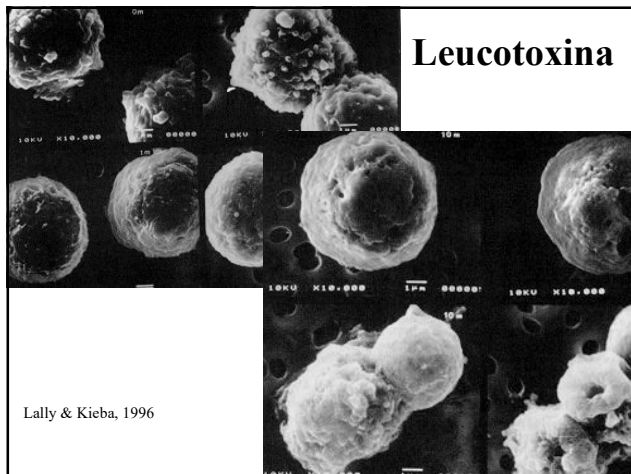
Inibição da atividade de leucócitos***Aggregatibacter actinomycetemcomitans*****Leucotoxina**

- Exotoxina que leva a **Destruição de Neutrófilos e Macrófagos de Humanos e outros primatas. Associada a superfície da célula bacteriana e secretada.**
- **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**

Subversão da defesa mediada pelo Complemento**Ligação a reguladores negativos de ativação de C**

Fator C4BP ligados à superfície das bactérias - reduzem a ativação do complemento/favorecem a degradação de C3

Belibasakis et al., 2019



Inibição da atividade de leucócitos

Toxina Distensora Citoletal

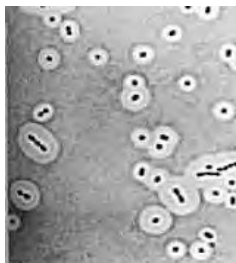
Exotoxina produzida por muitas espécies de bactérias Gram negativas, patógenos de mucosas.

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

Inibição da atividade de leucócitos

Fatores que impedem o reconhecimento por fagócitos

- Cápsula
A. actinomycetemcomitans

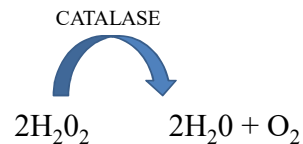


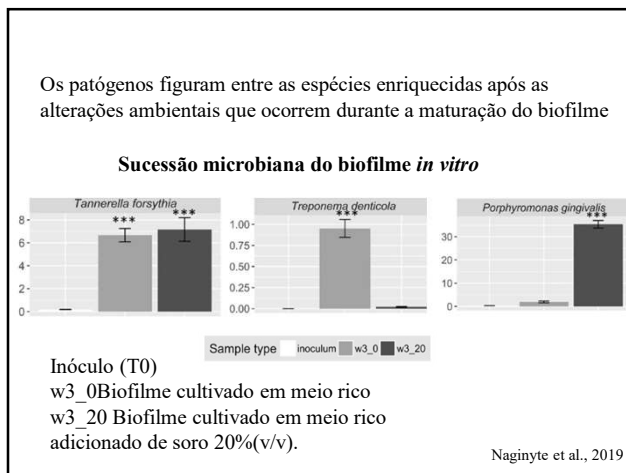
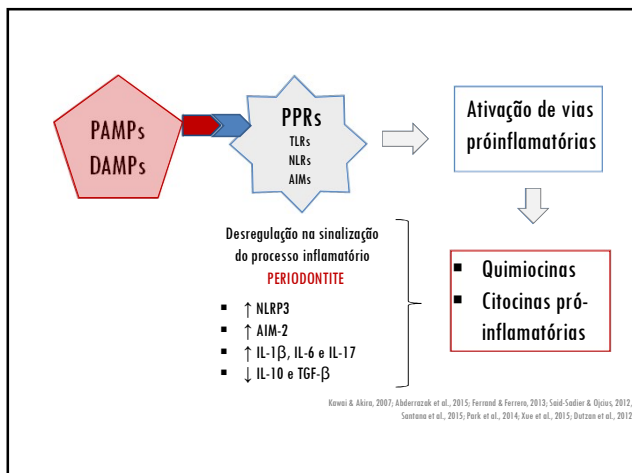
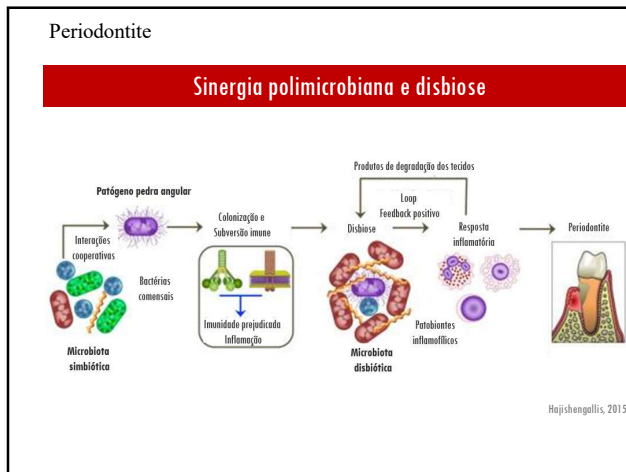
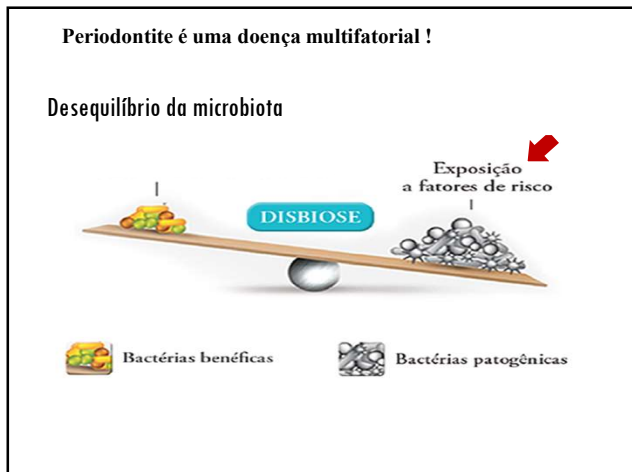
Inibição da atividade de leucócitos

A. actinomycetemcomitans

Estratégias de evasão das defesas do hospedeiro

- Resistência à morte mediada por oxigênio no interior de fagócitos





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)

Perfil de quimiocinas (A) e citocinas (B) na saliva em indivíduos com periodontite Grau B e Grau C (MIP) e seus controles. Kawamoto et al., 2020



Pacientes com periodontite Grau C MIP diferem de seus controles saudáveis nos níveis salivares de diversas quimiocinas.

Pacientes com Periodontite Grau B diferem de seus controles saudáveis nos níveis salivares de diversas citocinas.

As diferenças entre os fenótipos de periodontite devem-se a diferenças no microbioma oral ou a diferenças na resposta do hospedeiro ??

Risco às doenças periodontais

A doença periodontal é multifatorial

Condições que alteram o quadro inflamatório

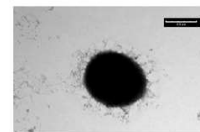
- ❖ diabetes tipo 1
- ❖ diabéticos tipo 2 sem equilíbrio glicêmico
- ❖ fumo – alteração na resposta imune
 - aumento na colonização por patógenos
- ❖ stress, ansiedade, depressão- resposta exacerbada
- ❖ Síndrome de Down

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

Micrografia (TEM)
P. gingivalis



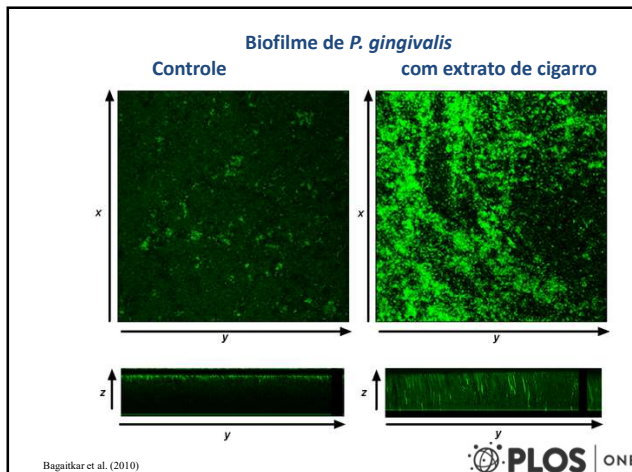
Sem fumo:
Apresenta cápsula



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

Bagatkar et al. (2010)

PLOS ONE



Bibliografia

- 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;27:409–419.
- Camille Zenobia & George Hajishengallis (2015) Porphyromonas gingivalis virulence factors involved in subversion of leukocytes and microbial dysbiosis, *Virulence*, 6:3, 236-243, DOI: 10.1080/21505594.2014.999567
- Hajishengallis G, Kajikawa T, Hajishengallis E, Maekawa T, Reis ES, Mastellos DC, Yancopoulou D, Hasturk H and Lambris JD (2019) Complement-Dependent Mechanisms and Interventions in Periodontal Disease. *Front. Immunol.* 10:406. doi: 10.3389/fimmu.2019.00406
- Richard J. Lamont, Hyun Koo and George Hajishengallis. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. (2018) *Nature Reviews Microbiology* doi 10.1038/s41579-018-0089-x.
- Lamont, R. J., & Hajishengallis, G. (2015). Polymicrobial synergy and dysbiosis in inflammatory disease. *Trends in Molecular Medicine*, 21(3), 172–183. doi:10.1016/j.molmed.2014.11.004
- Ishihara K. Virulence factors of Treponema denticola. *Periodontology 2000*, Vol. 54, 2010, 117–135.
- Herbert BA, Novince CM, Kirkwood KL. Aggregatibacter actinomycetemcomitans, a potent immunoregulator of the periodontal host defense system and alveolar bone homeostasis. *Mol Oral Microbiol.* 2016 Jun;31(3):207-27. doi: 10.1111/omi.12119.
- Kilian M The oral microbiome - friend or foe? *Eur J Oral Sci.* 2018 Oct;126 Suppl 1:5-12. doi: 10.1111/eos.12527.
- Belibasakis GN, Maula T, Bao K, Lindholm M, Bostanci N, Oscarsson J, Ihalin R, Johansson A. Virulence and Pathogenicity Properties of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Pathogens.* 2019 Nov 6;8(4):222. doi: 10.3390/pathogens8040222.