

Doença periodontal e aterosclerose: uma revisão de 5 anos da resposta do hospedeiro frente ao desafio microbiano da *porphyromonas gingivalis* via imunidade inata através do receptor *Toll-like*

Periodontal disease and atherosclerosis: a review of five years ahead of the host response to microbial challenge of *porphyromonas gingivalis* via innate immunity through *Toll-like* receptor

Marcelo de Azevedo Rios¹, Paulo Sérgio Flores Campos², Roberto José Meyer Nascimento³

¹ Doutorando em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde - Universidade Federal da Bahia; ² Professor Associado do Departamento de Propedêutica e Clínica Integrada da Faculdade de Odontologia - Universidade Federal da Bahia; ³ Professor Titular do Departamento de Biointeração do Instituto de Ciências da Saúde - Universidade Federal da Bahia

RESUMO

Introdução: A doença periodontal é uma entidade infecciosa e inflamatória bastante comum em adultos. Recentes pesquisas, focando na participação da imunidade inata através de receptores tipo *Toll*, concernente a relação entre doença periodontal, especialmente relacionada com a *Porphyromonas gingivalis*, e aterosclerose estão disponíveis. **Objetivo:** realizar uma revisão crítica da literatura acerca da inter-relação *Porphyromonas gingivalis* X aterosclerose X receptores tipo *Toll*. **Métodos:** uma busca na base de dados PUBMED através da associação das seguintes palavras-chave: *Porphyromonas gingivalis*, aterosclerose e receptores tipo *Toll*; *Porphyromonas gingivalis*, doença cardiovascular e receptores tipo *Toll*; *Porphyromonas gingivalis*, doença cardíaca e receptores tipo *Toll*. Artigos de revisão (exceto meta-análises) foram excluídos, e o período de investigação foi 2006 a 2011. Apenas artigos que apresentassem, no mesmo texto, a relação entre *Porphyromonas gingivalis*, aterosclerose e receptores tipo *Toll* foram selecionados. **Resultados:** Um total de 25 artigos retornou da busca inicial, remanesceram sete que preenchem os critérios de inclusão. **Conclusão:** Pesquisas de laboratório arrolados nesse texto demonstraram que reações imunes inatas foram capazes de causar dano endotelial e participar na aterogênese. Uma ligação entre o processo e a presença de *Porphyromonas gingivalis*, uma bactéria periodontal putativa, foi verificada. Todos os trabalhos analisados mostraram clara evidência de que a *Porphyromonas gingivalis*, relacionada à doença periodontal, participa em diferentes momentos da aterogênese e a imunidade inata parece desempenhar um papel importante em todo o processo. Contudo, os estudos revisados foram conduzidos em ambiente laboratorial e devem ser testados em ensaios clínicos em humanos, usando desenhos variados, de modo a tornar o conhecimento aplicável na rotina clínica. **Palavras-chave:** Periodontite. Aterosclerose. Imunidade.

ABSTRACT

Background: Periodontal disease is an infectious and inflammatory entity quite common in adults. Recent research focusing on the involvement of innate immunity via *Toll-like* receptor concerning its relationship with periodontal disease, especially related to *Porphyromonas gingivalis*, and atherosclerosis area available. **Aim:** To perform a 5-year critical review of literature on the crosslink *Porphyromonas gingivalis* X atherosclerosis X *Toll-like* receptor. **Methods:** PUBMED selection was conducted following key-word associations: *Porphyromonas gingivalis*, atherosclerosis and *Toll-like* receptor; *Porphyromonas gingivalis*, cardiovascular disease and *Toll-like* receptor; *Porphyromonas gingivalis*, heart disease and *Toll-like* receptor. Review papers (except meta-analysis) were excluded, and the time-set of investigation was defined from 2006 to 2011. Only articles that presented in the same text the association between *Porphyromonas gingivalis*, atherosclerosis and *Toll-like* receptor at the same time were used for the analysis. **Results:** A total of 25 general papers regarding the key-searchers *Porphyromonas gingivalis*, atherosclerosis and *Toll-like* receptor were retrieved from the search. Among those, seven researches focusing on the desirable association were found. **Conclusion:** Lab research conclusions from reviewed papers demonstrated that intrinsic innate immune reactions were capable of causing damage in endothelium and participate in atherogenesis. A link between the process and the presence of *Porphyromonas gingivalis*, a putative periodontal pathogen was verified. All analyzed papers showed clear evidence that *Porphyromonas gingivalis* related to periodontal disease participates in different moments of atherogenesis, and innate immune system seems to play a key role in the entire process. Nevertheless, those studies were made under lab conditions, and must be tested in clinical human basis, using different designs, so that knowledge becomes feasible during clinical routine. **Key-words:** Periodontitis. Atherosclerosis. Immunity.

INTRODUÇÃO

A doença periodontal é conhecida como uma entidade inflamatória e infecciosa, em que ambos: bactéria (em um biofilme microbiano) e a resposta do hospedeiro atuam conjuntamente durante sua história

Recebido: 30 de setembro de 2011; revisado: 20 de dezembro de 2011.
Correspondência / Correspondence: Marcelo de Azevedo Rios. Rua Parati, nº 135, apto. 501 A, Reserva Alphaville, Alphaville 1, Paralela. 401701-015. Salvador, Bahia, Brasil. Tel.: (71) 3369-0414. E-mail: celoperio@uol.com.br

natural, podendo culminar com a perda dentária. Durante o curso da periodontite, componentes bacterianos e o sistema imune podem participar de uma reação sistêmica, em que muitos outros órgãos podem ser afetados, incluindo o coração, os pulmões, o osso e o útero.

Em particular, complicações cardiovasculares podem surgir em paciente com periodontite, ou podem ser complicadas por ela. Doença vascular, infarto, isquemia e aterosclerose podem ter a periodontite como fator de risco, ou em menor extensão, como um fator contributivo para a falência cardíaca, durante o curso daquelas patologias.

A partir dos relatos clássicos de Matilla et al. (1989), a plausibilidade biológica começou a ser construída. Duas revisões sistemáticas importantes foram publicadas por Beck e Offenbacher (2001) e Scannapieco, Bush e Paju (2003) sobre a aterosclerose, doença cardíaca e periodontite. Em que pese o fato de terem sido revisões sistemáticas sem meta-análise, muitos eventos mostram uma correlação entre aterosclerose e doença periodontal.

Mais recentemente, uma meta-análise sobre os marcadores da exposição bacteriana sistêmica na doença periodontal e risco de doença cardiovascular foi realizado por Mustapha et al. (2007). Dez publicações selecionadas foram obtidas das bases de dados PUBMED, *Cochrane Controlled Trials Register*, EMBASE, e SCOPUS. Os autores concluíram que a doença periodontal, com elevada exposição bacteriana, estava associada com doenças coronarianas e a aterogênese precoce, sugerindo que o nível de exposição bacteriana sistêmica a partir da periodontite é a exposição biologicamente pertinente relacionada com o risco aterosclerótico.

Em relação à bactéria que poderia ser implicada na doença aterosclerótica e/ou falência endotelial, muitos estudos clássicos como os de Herzberg e Meyer (1996), Deshpand, Khan, Genco (1998), Chiu (1999) e Haraszthy et al. (2000), e recentes como os de Pollreis et al. (2010) e Börgeson et al. (2011) frequentemente apontam para *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) como o patógeno periodontal putativo envolvido nessa relação.

A doença periodontal mais comum em humano é a periodontite crônica. Durante sua história natural, o biofilme e a resposta do hospedeiro desempenham um importante papel na progressão e manifestação clínica da doença. Com relação à composição do biofilme microbiano, muitas bactérias frequentemente colonizam o dente, especialmente *Pg*. Uma ligação natural entre a presença dessa bactéria e a aterosclerose tem-se tornado clara nas últimas duas décadas. (DEMMER; DESVARIEUX, 2006)

Em paralelo, a resposta imune inata e adaptativa é usualmente encontrada durante o curso de periodontite e da doença cardiovascular relacionada

com bactérias. Recentemente, atenção especial tem sido dada ao papel da resposta imune inata e sua relação com muitas doenças em humanos, tais como a periodontite e a doença cardiovascular. Dessa forma, o envolvimento sistêmico por *Pg*, através de receptores tipo *Toll* (TLR), oriundo da doença periodontal parece ter um papel importante na patogênese da doença cardiovascular, relacionada particularmente a aterosclerose.

Meurman, Sanz e Janket (2004) realizaram uma revisão bastante ampla de avaliações descritivas, estudos transversais, longitudinais e de caso-controle sobre a relação entre doença periodontal e cardiovascular. Seguindo a discussão acerca dos desenhos de estudo investigados, os autores pontuaram que existe uma forte relação entre periodontite e aterosclerose. No escopo do texto de Meurman, Sanz e Janket (2004) observa-se que bactéria periodontal era frequentemente mostrada como decisiva, e mais uma vez a *Pg* aparecia como a mais fortemente envolvida na relação entre periodontite e aterosclerose.

Em um estudo usando amostras de aneurismas de aorta, Wada e Kamisaki (2010) demonstraram um diferença importante entre pacientes com periodontite e indivíduos saudáveis, especialmente com relação a proliferação de músculo liso. Pacientes com periodontite pareciam desenvolver uma taxa maior de proliferação dessas células. Um ano depois, Hokamura e Umemura (2010) realizaram uma revisão sobre o papel da *Pg* na hiperplasia da camada íntima vascular da aorta, usando administração endovenosa de *Pg* em ratos. Os resultados não apenas confirmaram as suspeitas prévias, mas também sugeriram fortemente que a disseminação hematogênica de *Pg* é um evento causador do desenvolvimento de hiperplasia aórtica em pacientes com doença periodontal.

Quando a participação da imunidade inata foi investigada por Wang et al. (2010), outro importante achado sobre a relação entre patógenos periodontais putativos e aterosclerose, especialmente relacionada ao papel do receptor tipo *Toll* (TLR), durante a história natural da aterosclerose e sua modificação pelo desafio microbiano foi mostrado. Foi avaliado o potencial da *Pg* em explorar ambos: TLR e os fragmentos C5a do complemento, como caminhos para modificar a função de macrófagos, e concluiu-se que *Pg* pode danificar a imunidade inata durante o curso das doenças periodontal e aterosclerótica. Aparentemente, *Pg* pode gerar um distúrbio na imunidade inata, relacionado com receptores tipo *Toll*.

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo realizada uma investigação nas publicações dos últimos 5 anos sobre a relação entre *Pg*, aterosclerose e TLR, e discutir os resultados de pesquisas recentes disponíveis da base de dados PUBMED.

MÉTODOS

Como protocolo, uma seleção de publicações no PUBMED foi realizada, usando a ferramenta de busca no endereço www.ncbi.nlm.nih.gov, para as seguintes associações de palavras-chaves: *Pg*, *atherosclerosis* and

TLR; *Pg*, *cardiovascular disease* and *TLR*; *Pg*, *heart disease* and *TLR*.

Para racionalização, a pergunta de investigação foi: A resposta imune inata por TLR contra *Pg* possui

Tabela 1 – Resumo das pesquisas obtidas na base de dados PUBMED, com base nos critérios de inclusão.

Autor (ano)	Objetivos	Métodos	Resultados	Conclusões
Lappin, Sherrabeh and Erridge (2011) Artigo 1	Quantificar a abundância de estimulantes de TLR 2 e 4 na saliva humana	Bioensaio com a medida da ativação de NF-κB em células embrionárias renais deficientes em TLR, transfectadas com TLR 2 3 4 humanos e calibradas com lipopeptídeo bacteriano sintético (Pam(3) CSK(4)) ou LPS de <i>E. coli</i> LPS. A saliva de 20 pacientes normais e com doença periodontal foram usados para estabelecer a faixa normal de estimulantes de TLR	A mediana dos estimulantes solúveis de TLR 2 e 4 foram mais altos na saliva de pacientes com periodontite quando comparados com indivíduos saudáveis; 3450X77 ng/ml Pam(3) CSK(4) equivalentes (p<0.0001) e 138X7 ng/ml LPS equivalentes, respectivamente (p<0.0001). Os níveis de estimulantes salivares de TLR em indivíduos saudáveis permaneceram estáveis por muitos dias. Seis amostras de bactérias bucais G ⁻ , incluindo <i>T. forsythensis</i> , <i>L. enzymogenes</i> , <i>P. intermedia</i> , <i>P. oris</i> and <i>Pg</i> , não estimularam sinalização dependente de TLR4.	Quantidades elevadas de estimulantes salivares para TLR podem representar um novo mecanismo pelo qual a periodontite aumenta o risco de desenvolvimento de doença cardiovascular e resistência insulínica
Hayashi et al. (2010) Artigo 2	Demonstrar que aterosclerose inflamatória modificada para patógenos ocorre em mecanismos dependentes e independentes de TLR-2	Estudo em ratos geneticamente modificados para apresentar em deficiência de apolipoproteína E (ApoE ^{-/-})	A infecção por <i>Pg</i> em ratos apresenta um acúmulo funcional de macrófagos, bem como de mediadores inflamatórios como CD40, induzidos por TLR-2, além de citocinas pró-inflamatórias (IL 1 e IL 6) nas lesões de aterosclerose. A expressão desses mediadores inflamatórios foi reduzida nas lesões de aterosclerose infectadas com <i>Pg</i> , em ratos com TLR-2 (TLR-2 ^{-/-}) deficiente.	Esse estudo provê um mecanismo de conexão entre o receptor da imunidade inata e a aterosclerose acelerada por patógeno, através de uma bactéria de relevância clínica e biológica.
Madan e Amar (2008) Artigo 3	Verificar o papel do TLR-2 na aterosclerose associada com dieta com alto teor de gordura e/ou bactéria em ratos ApoE ^{+/+} ;TLR-2	Ratos ApoE ^{+/+} -TLR2 ^{+/+} , ApoE ^{+/+} -TLR2 ^{+/-} and ApoE ^{+/+} -TLR ^{-/-} com 10 semanas de idade foram alimentados com dieta rica em gordura. Todos os ratos foram inoculados, por via endovenosa, um vez por semana por 24 semanas consecutivas, com 50 ml <i>Pg</i> viva (107 CFU) ou veículo (solução salina). Os animais foram sacrificados 24 semanas após a primeira inoculação.	Ratos ApoE ^{+/+} -TLR2 ^{+/+} mostraram um aumento significativo em lesões ateroscleróticas na aorta proximal e na árvore aórtica quando comparado aos ratos ApoE ^{+/+} TLR ^{+/+} e ApoE ^{+/+} TLR ^{-/-} , em todas as condições de dieta. Eles também apresentaram mudanças profundas na composição da placa, como evidenciado pelo aumento do infiltrado macrófagico e a apoptose, conteúdo lipídico aumentado e decréscimo das células musculares lisas, refletindo em um fenótipo instável de placa. Os níveis de SAA dos ratos ApoE ^{+/+} -TLR2 ^{+/+} foram significativamente maiores do que aqueles ratos ApoE ^{+/+} -TLR ^{+/-} e ApoE ^{+/+} -TLR2 ^{+/-} . A análise de citocinas do soro revelaram níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias no ratos ApoE ^{+/+} -TLR2 ^{+/+} quando comparados com ratos ApoE ^{+/+} -TLR2 ^{+/-} e TLR2 ^{+/+} independente da dieta ou desafio microbiano. Ratos ApoE ^{+/+} -TLR2 ^{+/+} injetados semanalmente por 24 semanas com FSL-1 (um agonista do TLR2) também demonstraram um aumento significativo nas lesões de aterosclerose, SAA e os níveis de citocinas séricas quando comparados com ratos ApoE ^{+/+} -TLR2 ^{+/+} submetidos ao mesmo tratamento. Finalmente, espectrometria de massa de amostras da aorta identificou 6 proteínas sobre-reguladas mais que 2 vezes mais alta em ratos ApoE ^{+/+} -TLR2 ^{+/+} alimentados com dieta altamente gordurosa e inoculados com <i>Pg</i> quando comparados com outro grupo	Deficiência genética de TLR-2 reduz a aterosclerose associada com a dieta e/ou patógenos, em ratos ApoE ^{+/+} -, juntamente com diferenças na composição da placa, sugerindo maior estabilidade estrutural, enquanto que a ativação do ligante específico para TLR-2 serve de gatilho para a aterosclerose. Os dados apresentados oferecem novos elementos na fisiopatologia envolvida na aterosclerose e abre o caminho para novas intervenções farmacológicas objetivando a redução da aterosclerose

<p>Nakamura et al. (2008) Artigo 4</p>	<p>Investigar o potencial papel da <i>Pg</i> na interação endotélio/monócito.</p>	<p>Uma fração do LPS foi extraída de uma cultura de <i>Pg</i>, sob condições anaeróbias e comparada com aquela obtida a partir de amostras de <i>E. coli</i> strain (JM109). Células endoteliais umbilicais humanas (HUVECs) foram incubadas na presença do LPS da <i>Pg</i> ou da <i>E. coli</i> por vários períodos e ensaios de adesão de células mononucleares foram conduzidas sob fluxo.</p>	<p>A adesão de células mononucleares às HUVECs tratadas com LPS de <i>Pg</i> atingiu seu pico após 24 h de incubação, ao passo que aquelas tratadas com LPS de <i>E. coli</i> o fizeram em 4 h. Um ensaio de imunofluorescência revelou que o LPS da <i>Pg</i> sobre-regulou ICAM-1 e VCAM-1 em HUVECs. Anticorpos contra ICAM-1 e TLR-2, mas não para TLR-4, atenuaram a adesão facilitada de células mononucleares às HUVECs.</p>	<p>A infecção crônica por <i>Pg</i> pode facilitar o recrutamento de monócitos para o endotélio vascular através da sobre-regulação sustentada de ICAM-1 e VCAM-1. TLR-2 pode contribuir para a aterogênese por meio da transdução de sinal do LPS da <i>Pg</i>.</p>
<p>Triantafyllou et al. (2007) Artigo 5</p>	<p>Determinar TLR associado funcionalmente a PRRs no reconhecimento inato e na resposta ao LPS de <i>H. pylori</i> ou <i>Pg</i></p>	<p>Células humanas do endotélio vascular ou células HEK-293 manipulada para expressar PRRs avaliadas através de siRNA de interferência ou a expressão recombinante de PRRs de cooperação.</p>	<p>Ativação celular induzida por LPS de <i>H. pylori</i> e <i>P. gingivalis</i> é mediada através de TLR-2. A ativação de células do endotélio vascular humano foi encontrada como sendo dependente de grande número de lipídios e requereu a formação de receptores heterotópicos complexos compreendendo TLR2, TLR1, CD36 e CD11b/CD18.</p>	<p>Os LPS a partir dessas amostras de bactérias foram capazes de antagonizar TLR4. Essa atividade antagonista do LPS de <i>H. pylori</i> e <i>P. gingivalis</i>, bem como de sua capacidade em ativar TLR2 pode estar associada com suas habilidades em contribuir com o processo de aterosclerose.</p>
<p>Erridge, Spickett and Webb (2007) Artigo 6</p>	<p>Determinar se endotoxinas não enterobacterianas podem estimular a ativação de células arteriais coronarianas</p>	<p>A secreção de IL-8, a adesão de monócitos e a expressão de seletina-E foram mensuradas em veias umbilicais humanas (HUVECs) e em células endoteliais arteriais coronarianas (HCAECs) desafiadas in vitro por endotoxinas altamente purificadas de bactérias do hospedeiro: <i>E. coli</i>, <i>Pg</i>, <i>P. aeruginosa</i>, e <i>B. fragilis</i>.</p>	<p>HCAECs mas não HUVECs expressaram TLR-2 e foram responsivas a endotoxinas não enterobacterianas. A transfecção de células HEK-293 com TLR deficiente foi com TLR-2 ou TLR-4/MD2, enquanto a endotoxina da <i>E. coli</i> usou apenas o TLR-4 para sinalizar as endotoxinas, endotoxinas deglicosiladas (lipídio A), e todo o conjunto de bactérias de outras espécies, mortas pelo calor, estimularam a sinalização através de TLR-2 mas não de TLR-4. O bloqueio de TLR2 com anticorpos neutralizantes preveniu a ativação de HCAEC por endotoxinas não enterobacterianas. A comparação de cada endotoxina com a da <i>E. coli</i> revelou que endotoxinas não enterobacterianas são fortemente subestimadas pelos ensaios, os quais tem sido usados em todos os estudos prévios, para estimar a concentração de endotoxina no plasma.</p>	<p>Endotoxinas circulantes de bactérias não enterobacterianas podem ser um fator contributivo subestimado para a ativação endotelial e aterosclerose em indivíduos em risco de carga aumentada de endotoxina no plasma.</p>
<p>Harokopaki et al. (2006) Artigo 7</p>	<p>Investigar o papel da fimbria da <i>Pg</i> em estimular a adesão de monócitos às células endoteliais e a migração transendotelial.</p>	<p>Monócitos foram purificados a partir do sangue periférico de voluntários humanos. Foram estudadas a adesão de monócitos a ligantes imobilizados ou transmigrações de células endoteliais e ensaios imunoenzimáticos de PI3K, CD11b/CD18</p>	<p>As fímbrias estimularam a adesão de monócitos às HUVEC e a transmigração através de monocamadas de HUVEC; as duas atividades requereram sinalização por TLR2 e Rac1e foram dependentes de ICAM-1, e a verificação de alta afinidade de CD11b/CD18 de monócitos estimuladas por <i>Pg</i> melhorou a transmigração endotelial quando comparada com monócitos estimulados com mutantes isogênicos não relacionados as fímbrias</p>	<p>A fimbria da <i>Pg</i> ativa um novo caminho pró-adesivo em monócitos humanos envolvendo TLR2, Rac1, PI3K, e CD11b/CD18, o qual pode constituir um mecanismo de base para a conexão entre <i>Pg</i> e o processo inflamatório aterosclerótico.</p>

uma relação consistente com doença periodontal e aterosclerose?

Artigos de revisão (exceto meta-análises) foram excluídos, e o período de busca foi definido entre 2006 e 2011. Estudos clínicos randomizados (ECRs), longitudinais, cohort (LC), e estudos de caso-controle

(ECC) foram incluídos. Foram selecionados estudos que incluíam aterosclerose, doença periodontal e *Pg*. Apenas pesquisas que focaram estes três elementos ao mesmo tempo foram incluídas neste estudo, independente de as investigações terem sido realizadas em humanos ou animais.

RESULTADOS

Um total de 25 trabalhos relacionados com as palavras-chaves *Pg*, *atherosclerosis* e *TLR* foram obtidos da busca inicial. Dentre eles, seis eram artigos de revisão, doze não apresentaram no mesmo escopo, a associação entre *Pg*, aterosclerose e TLR. Os sete artigos restantes estavam enquadrados nos critérios de inclusão. A tabela 1 resume os sete estudos selecionados.

DISCUSSÃO

Todos os setes estudos expressaram, por diferentes métodos, uma forte participação da interação *Pg* e TLR como principal mecanismo envolvido na aterosclerose em pacientes com periodontite. Os estudos mais recentes selecionados registraram a quantidade de TLR 2 e 4 na saliva. O caminho pelo qual *Pg* pode ser reconhecida pela imunidade inata tem sido bem explorado, especialmente a partir de seu LPS o TLR humanos ativando NF-κB. Os artigos 1 e 2 explicam, de modo semelhante, como as interações TLR- *Pg* podem determinar o estabelecimento precoce da aterosclerose.

Uma leitura mais amíúde dos artigos 4, 5 e 6 identificou uma metodologia similar: o uso de uma população celular muito jovem de células endoteliais. Diferentemente dos artigos 1 e 2, os 4, 5 e 6 trabalharam com diferentes células do lúmen vascular obtidas do rim (HEK293 – artigo 5), veia umbilical (artigo 4) e ambas veias umbilicais e artéria coronária (artigo 6).

Essas diferentes populações celulares podem ter respostas distintas, seja relacionada com os possíveis efeitos da *Pg* e seu LPS em células endoteliais jovens, seja pelas interações entre o periodontopatógeno e células mais maduras. Acerca dos protocolos experimentais, o uso das células de artérias coronárias pode representar um importante modelo para testar a plausibilidade biológica da relação entre doença periodontal e aterosclerose, uma vez que esse modelo parece estar mais próximo de uma situação clínica real em humanos, como observado por Hayashi C et al. (2010) e Lappin, Sherrabeh e Erridge (2011).

Se aceitarmos que a aterosclerose começa muito precocemente na vida humana, estudando diferentes tipos celulares, separados em jovens e maduras, poderemos expor de que forma o desafio microbiano pode permitir a colonização e agressão ao tecido endotelial. Em paralelo, a doença periodontal pode começar na juventude e comumente desenvolve-se tendo a *Pg* como bactéria putativa. Ambas, doença periodontal e aterosclerótica revelam sua mais ampla sintomatologia na vida adulta, e se elas afetam um mesmo indivíduo, a quantidade de TLR-2 expressado durante a periodontite aumentaria o risco de complicações ateroscleróticas.

O artigo 4 investigou o potencial papel da *Pg* na interação monócito-endotélio através da resposta imune inata via TLR 2, e sua relação com a expressão de ICAM

e VCAM. Foi demonstrado por imunofluorescência que frações de LPS/*Pg* sobre-regularam ICAM-1 e VCAM-1. Como a aterosclerose é uma doença inflamatória na qual a adesão e invasão da íntima pelos monócitos é uma etapa crucial no seu estabelecimento, é possível que interações *Pg*/LPS/TLR 2 possam permitir uma ativação monocítica devido ao aumento na expressão de moléculas de adesão vascular.

Um objetivo similar foi traçado no artigo 6, no qual a adesão de monócitos foi investigada. Além disso, a secreção de IL-8 também foi avaliada. Células endoteliais de veias umbilicais e artérias coronárias foram usadas como fonte de tecido endotelial, e o comportamento dessas células antes do desafio por *Pg* via TLR 2 e 4. De maneira similar ao artigo 4, *Pg* e sua reação em cadeia com a resposta inata pode ser um elemento contributivo para a ativação endotelial e aterosclerose em indivíduos em risco de um aumento na carga de endotoxina plasmática.

Meurman, Sanz e Janket (2004), em minuciosa revisão crítica da literatura, apontaram um ponto convergente na maioria expressiva dos estudos revisados: a infecção parece modificar, ou até mesmo iniciar, a aterosclerose. Então, uma vez que esse achado singular está distribuído nos diferentes desenhos metodológicos, parece razoável assumir a doença periodontal como uma condição chave (com especial participação da *Pg*) no processo, particularmente quando a resposta do hospedeiro é investigada.

O artigo 5 objetivou avaliar se TLRs funcionalmente associados a PRRs envolvidos no reconhecimento inato e na resposta ao LPS de *H. pylori* ou da *Pg* estão envolvidos na patogenia da aterosclerose. *Pg* é normalmente encontrada em pacientes portadores de periodontite e representa um fonte infecciosa não intestinal de bactérias associadas a aterosclerose. Com tecnologia de siRNA, os autores demonstraram que a ativação celular mediada por LPS de *H. pylori* e *Pg* é mediada por TLR2. A ativação de células do endotélio vascular humano requer a formação de complexos heterotópicos compreendendo TLR2, TLR1, CD36 e CD11b/CD18.

Uma questão importante relacionada aos componentes do complexo entre TLR e integrina foi mostrada e discutida. CD 36 é um conhecido marcador aterosclerótico, e a CD11b e CD18 são, ambas, integrinas de leucócitos envolvidos na imunidade inata. Os outros estudos não discutiram esses receptores complexos. No artigo 7 (Harokopakis et al. 2006), foram usados métodos para investigar tanto o TLR quanto CD11 e 18. A adesão de monócitos a ligantes imobilizados ou a transmigração de células endoteliais foram investigadas por ensaios imunoenzimáticos para PI3K, CD11/CD18, usando monócitos do sangue periférico e cultura de células venosas umbilicais humanas.

No artigo 7, os autores foram capazes de provar que existe um novo percurso pró-adesivo em monócitos

humanos ativados a partir de *Pg*, claramente envolvendo TLR2, Racl, PI3K e CD11/CD18, o qual constitui um mecanismo básico que conecta a *Pg* ao processo inflamatório aterosclerótico. Resultados similares foram descritos no artigo 5.

É bem aceito no meio científico o *Bradford Criteria for Establishment of Causal Association* como o principal documento que congrega os cinco tópicos para o estabelecimento de relação causal, quais sejam: relação temporal, dose-resposta, força de associação, consistência e plausibilidade biológica. (HAROKOPAKIS et al., 2006)

Em Periodontia Médica, onde a doença periodontal é estudada em contexto sistêmico, os critérios de Bradford são rotineiramente usados para testar, esclarecer e provar que relações poderiam existir entre periodontite e o restante do corpo humano. Focando nas doenças cardiovasculares, a aterosclerose parece ser o evento mais comum no qual a periodontite pode ser listada como um provável fator de risco, ou pelo menos contributivo.

No campo da resposta imune inata, as pesquisas apresentadas acima trazem uma estreita conexão entre *Pg*, encontrada na periodontite, e TLR. Essa ligação parece ter um papel importante na reação inflamatória que promove a ativação endotelial capaz de determinar a formação de ateromas, e que interferiria na história natural da aterosclerose, como discutido por Gibson, Ukai e Genco (2008).

Apesar do fato de bactérias G- não utilizarem usualmente a interação com TLR2, *Pg* usa justamente esse caminho para estabelecer dano. Essa questão mostra como uma bactéria G- pode usar esse padrão para começar a agressão endotelial e desenvolver ateromas. Com esses resultados, visto na maioria dos artigos apresentados acima, um novo modelo de resposta imune inata contra bactérias G- deve ser considerado.

Se levarmos em conta, adicionalmente, a fisiopatologia da isquemia cerebral pela embolização de placas ateromatosas, será possível especular outras conexões entre a periodontite e o infarto cerebral anêmico. Por exemplo, como relatado previamente por Wu et al. (2000), pela mesma razão, o infarto anêmico cerebral pode compartilhar mecanismo de imunidade inata com a aterosclerose, doença periodontal e *Pg*.

Reações moleculares que permaneciam obscuras, comunicações inter-celulares, citocinas, receptores do hospedeiro ao biofilme periodontal tem sido revelados e a plausibilidade biológica desejável está agora cada vez mais próxima. Avanços em Imunologia trarão à prática clínica em Periodontia Médica e Cardiologia o sinergismo necessário para garantir procedimentos seguros e prevenção eficiente da aterosclerose e de suas complicações.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A caracterização funcional de TLRs tem estabelecido que a imunidade inata é um sistema competente que detecta a invasão de patógenos microbianos. Muitos caminhos naturais a partir da resposta inata e sua conexão com a imunidade adaptativa garantem a homeostase. Por outro lado, a participação de TLR da resposta inata em doenças inflamatórias tem sido proposta, e a aterosclerose inflamatória mediada por patógeno tem sido uma das mais investigadas.

Essa breve revisão apresentou mecanismo propostos e suas investigações científicas, esclarecendo as reações imunes inatas intrínsecas capazes de causar dano ao endotélio e promover o aparecimento de aterosclerose. Consensualmente, as pesquisas aqui elencadas mostraram uma conexão entre todos os processos e a presença de *Pg*, um patógeno periodontal putativo.

Todos os artigos analisados mostraram clara evidência de que a doença periodontal, focando na *Pg*, participa da aterogênese, e a imunidade inata parece ter um papel chave em todo o processo. Não obstante, os estudos aqui discutidos foram conduzidos em laboratório, e devem ser testados em humanos, usados diferentes desenhos, de modo a tornar o conhecimento factível à prática clínica.

O ponto principal obtido da leitura dos artigos selecionados, provavelmente, foi o caminho incomum de interação entre bactéria G- e TLR-2, destacado em cinco dos sete trabalhos acima. Protocolos experimentais para doença aterosclerótica, modulados por *Pg*, podem ser aplicados a outras entidades sistêmicas relacionadas à periodontite e, talvez, a outras condições onde bactérias G- possam estar envolvidas.

REFERÊNCIAS

- BECK, J. D.; OFFENBACHER, S. The association between periodontal diseases and cardiovascular diseases: a state-of-the-science review. *Ann. Periodontol.*, Chicago, v. 6, n. 1, p. 9-15, Dec. 2001.
- BÖRGESON, E. et al.. Lipoxin A4 Inhibits Porphyromonas gingivalis-Induced Aggregation and Reactive Oxygen Species Production by Modulating Neutrophil-Platelet Interaction and CD11b Expression. *Infect. Immun.*, Washington, v. 79, n. 4, p. 1489-1497, Apr. 2011.
- CHIU, B. Multiple infections in carotid atherosclerotic plaques. *Am. Heart J.*, St. Louis, v. 138, n. 5 Pt 2, p. S534-S536, Nov. 1999.
- DEMMER, R. T.; DESVARIEUX, M. Periodontal infections and cardiovascular disease: the heart of the matter. *J. Am. Dent. Assoc.*, Chicago, v. 137, p. 14S-20S, Oct. 2006.
- DESPAND, R. G.; KHAN, M. B; GENCO, C. A. Invasion of aortic and heart endothelial cells by *Porphyromonas gingivalis*. *Infect. Immun.*, Washington, v. 66, n. 11, p. 5337-5343, Nov. 1998.

- ERRIDGE, C.; SPICKETT, C. M.; WEBB, D. J. Non-enterobacterial endotoxins stimulate human coronary artery but not venous endothelial cell activation via *Toll*-like receptor 2. **Cardiovasc. Res.**, London, v. 73, n. 1, p. 181-189, Jan. 2007.
- GIBSON, F. C.; UKAI, T.; GENCO, C. A. Engagement of specific innate immune signaling pathways during *Porphyromonas gingivalis* induced chronic inflammation and atherosclerosis. **Front. Biosci.**, Tampa, v. 13, p. 2041-2059, Jan. 2008.
- HARASZTHY, V. I. et al.. Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 71, n. 10, p. 1554-1560, Oct. 2000.
- HAROKOPAKIS, E. et al. TLR2 transmodulates monocyte adhesion and transmigration via Rac1- and PI3K-mediated inside-out signaling in response to *Porphyromonas gingivalis* fimbriae. **J. Immunol.**, Baltimore, v. 176, n. 12, p. 7645-7656, Jun. 2006.
- HAYASHI, C. et al. Pathogen-mediated inflammatory atherosclerosis is mediated in part via *Toll*-like receptor 2-induced inflammatory responses. **J. Innate Immun.**, Basel, v. 2, n. 4, p. 334-343, May 2010.
- HERZBERG, M. C.; MEYER, M. W. Effects of oral flora on platelets: possible consequences in cardiovascular disease. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 67, Suppl. 10, p. 1138-1142, Oct. 1996.
- HOKAMURA, K.; UMEMURA, K. Roles of oral bacteria in cardiovascular diseases - from molecular mechanisms to clinical cases: *Porphyromonas gingivalis* is the important role of intimal hyperplasia in the aorta. **J. Pharmacol. Sci.**, Tokyo, v. 113, n. 2, p. 110-114, Mar. 2010.
- LAPPIN, D. F.; SHERRABEH, S.; ERRIDGE, C. Stimulants of *Toll*-like receptors 2 and 4 are elevated in saliva of periodontitis patients compared with healthy subjects. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 38, n. 4, p. 318-325, Apr. 2011.
- MADAN, M.; AMAR, S. Toll-Like Receptor-2 Mediates Diet and/or Pathogen Associated Atherosclerosis: Proteomic Findings. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 3, n. 9, p. e3204, Sep. 2008.
- MATTILA, K. J. et al.. Association between dental health and acute myocardial infarction. **Br. Med. J.**, London, v. 298, n. 6676, p. 779-781, Mar. 1989.
- MEURMAN, J. H.; SANZ, M.; JANKET, S.J. Oral health, atherosclerosis, and cardiovascular disease. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, Boca Raton, v. 15, n. 6, p. 403-413, Nov. 2004.
- MUSTAPHA, I. Z. et al.. Markers of systemic bacterial exposure in periodontal disease and cardiovascular disease risk: a systematic review and meta-analysis. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 78, n. 12, p. 2289-2302, Dec. 2007.
- NAKAMURA, N. et al. Extended exposure of lipopolysaccharide fraction from *Porphyromonas gingivalis* facilitates mononuclear cell adhesion to vascular endothelium via *Toll*-like receptor-2 dependent mechanism. **Atherosclerosis.**, Amsterdam, v. 196, n. 1, p. 59-67, Jan. 2008.
- POLLREISZ, A. et al.. Receptor for advanced glycation endproducts mediates proatherogenic responses to periodontal infection in vascular endothelial cells. **Atherosclerosis.**, Amsterdam, v. 212, n. 2, p. 451-456, Oct. 2010.
- SCANNAPIECO, F. A.; BUSH, R.B.; PAJU S. Associations between periodontal disease and risk for atherosclerosis, cardiovascular disease, and stroke. A systematic review. **Ann. Periodontol.**, Chicago, v. 8, n. 1, p. 38-53, Dec. 2003.
- TRIANAFILOU, M. et al.. Lipopolysaccharides from atherosclerosis-associated bacteria antagonize TLR4, induce formation of TLR2/1/CD36 complexes in lipid rafts and trigger TLR2-induced inflammatory responses in human vascular endothelial cells. **Cell. Microbiol.**, Oxford, v. 9, n. 8, p. 2030-2039, Aug. 2007.
- WADA, K.; KAMISAKI, Y. Roles of oral bacteria in cardiovascular diseases — from molecular mechanisms to clinical cases: involvement of *Porphyromonas gingivalis* in the development of human aortic aneurysm. **J. Pharmacol. Sci.**, Tokyo, v. 113, n. 2, p. 115-119, May 2010.
- WANG, M. et al. Microbial hijacking of complement-Toll-like receptor crosstalk. **Sci. Signal.**, Washington, v. 3, n. 109, p. ra11, Feb. 2010.
- WU, T. et al.. Periodontal disease and risk of cerebrovascular disease: the first national health and nutrition examination survey and its follow-up study. **Arch. Intern. Med.**, Chicago, v. 160, n. 18, p. 2749-2755, Oct. 2000.