



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIX SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS **SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2025**

Estudo da indução da via de sinalização MAPK38 para produção de citocinas em células humanas pela proteína recombinante HmuY de *Porphyromonas gingivalis*

Lara Alves Coimbra¹; Soraya Castro Trindade²; Rebeca Bulhosa Santos³; Paulo Cirino de Carvalho Filho⁴; Yuri Andrade de Oliveira⁵; Isaac Suzart Gomes Filho⁶

1. Bolsista PROBIC/UEFS, ODONTOLOGIA, e-mail: laraacoiimbra@gmail.com

2. Orientadora, DEPARTAMENTO DE SAÚDE, e-mail: soraya@uefs.br

3. Pesquisadora, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA/UFBA, e-mail: biorebecabulhosa@gmail.com

4. Pesquisador, DEPARTAMENTO DE SAÚDE, e-mail: pauloccfilho@gmail.com

5. Pesquisador, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA, yuriandrade.odont@gmail.com

6. Pesquisador, DEPARTAMENTO DE SAÚDE, e-mail: isuzart@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: Sistema de Sinalização da MAPK38; Periodontite;
Porphyromonas Gingivalis

INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória crônica multifatorial caracterizada pela destruição dos tecidos de sustentação dentária, atingindo grande parte da população mundial (Papapanou et al., 2018). No Brasil, apenas 5,3% dos indivíduos entre 65 e 74 anos e 33,55% dos adultos entre 35 e 44 anos não apresentaram alguma periodontopatia (BRASIL, 2024). Condições como diabetes e doença renal crônica aumentam a suscetibilidade à periodontite, que, por sua vez, pode agravar doenças sistêmicas, incluindo Alzheimer, doenças respiratórias (Parihar et al., 2025; Xiong et al., 2024; Figueiredo et al., 2023; Abou-Bakr et al., 2022), dislipidemia e doenças cardiovasculares (Gomes-Filho et al., 2022). Seu fator etiológico principal é o biofilme subgingival disbiótico, associado à resposta imunoinflamatória exacerbada do hospedeiro (Papapanou et al., 2018; Smalley; Olczac, 2016). Nesse contexto, *Porphyromonas gingivalis* atua como patógeno-chave, induzindo inflamação por meio da liberação de toxinas e estímulo contínuo da resposta imune (Renjith Rajan; Shaila, 2023).

Entre seus antígenos, a proteína HmuY tem sido destacada pela capacidade de induzir produção de citocinas inflamatórias e participar da patogênese da periodontite (Calheira et al., 2021; Gomes-Filho et al., 2021a; Gomes-Filho et al., 2021b). A ativação de citocinas após estímulo antigênico ocorre principalmente pelas vias MAPK (Cargnello; Roux, 2012), compostas por ERK, JNK e p38 (Miller; Turk, 2018). Assim, o presente estudo buscou investigar a ativação da via MAPK p38 frente ao estímulo de rHmuY e observar sua influência sobre diferentes perfis celulares, mensurando citocinas de assinatura, como IL-17 (Th17), IL-10 (Treg), IL-4 (Th2) e IFN- γ (Th1), a fim de contribuir para a compreensão da patogênese da periodontite e apontar possibilidades de sua modulação.

MATERIAL E MÉTODOS

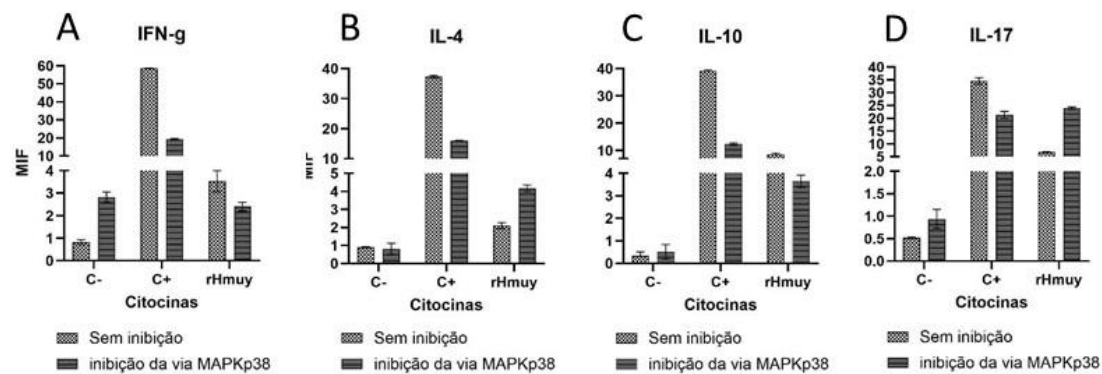
O estudo integrou o projeto “Avaliação das vias de sinalização MAPKp38, JNK e ERK1/2 na periodontite”, aprovado pelo CONSEPE (Resolução nº 005/2021) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Feira de Santana – CEP/UEFS (CAAE 46267915.8.0000.0053). Foram utilizados testes de inibição da via MAPK p38 e de produção de citocinas sob estímulo da proteína recombinante HmuY (rHmuY) em células THP-1 (88081201, Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha), linhagem monocítica usada como modelo de macrófagos humanos.

As células foram expostas ao inibidor pirimidilimidazol para bloqueio da via MAPK p38 e cultivadas em meio RPMI suplementado com antibiótico e antimicótico por 48h, a 37 °C, em atmosfera de 5% de CO₂, com estímulo de rHmuY. Os controles foram compostos por células sem estímulo (negativo), estimuladas com pokeweed (positivo) e mantidas sem inibição. A quantificação de IL-17, IL-10, IFN- γ e IL-4 no sobrenadante foi realizada por citometria de fluxo com beads magnéticas (BD Biosciences, USA), adquiridas no citômetro FACScalibur e analisadas pelo programa FCAP Array v.2.0 (Soft Flow, Hungary). Os dados foram avaliados quanto à normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, sendo aplicados testes paramétricos (T de Student, ANOVA com Games-Howell) ou não paramétricos (Mann-Whitney, Kruskal-Wallis seguido de Mann-Whitney com Bonferroni). Considerou-se significativo $p \leq 0,05$, utilizando-se o software SPSS 21.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta é a primeira investigação sobre a ativação da via MAPK p38 em resposta à proteína HmuY, uma molécula de membrana que tem um papel crucial na sobrevivência de *Porphyromonas gingivalis* em ambientes com disponibilidade limitada de ferro (Kosno; Sieminska; Olczac, 2022). Esta bactéria é capaz de promover uma subversão no sistema imunitário do hospedeiro, levando à disbiose periodontal (Smiga et al., 2023). A proteína HmuY parece induzir a produção de citocinas (Santos-Lima, 2019), a exemplo de IFN-g e IL-10, encontrados no presente estudo, e que dependem da ativação de vias de sinalização intracelular, incluindo a MAPKp38. Tanto IFN-g quanto IL-10 participam no processo de patogênese da periodontite, na ativação da resposta imune celular, seja na sua regulação, como um mecanismo de escape bacteriano, na interação patógeno-hospedeiro (Neurath; Kesting, 2024, Pan; Wang; Chen, 2019). Através desse estudo, foi possível perceber que o bloqueio da via p38 levou a uma redução na produção de IL-10 e IFN-g e um aumento na produção de IL-17 e IL-4 nas células cultivadas com rHmuY. A elevação da produção de IL-17 e IL-4 com o bloqueio da via MAPKp38 observada no estudo pode ser devida à ativação de vias alternativas, fenômeno conhecido como compensação celular.

Grafico 1. A: Produção de IFN-g sem inibição e com inibição da via MAPK p38; **B:** Produção de IL-4 sem inibição e com inibição da via MAPK p38; **C:** Produção de IL-10 sem inibição e com inibição da via MAPK p38; **D:** Produção de IL-17 sem inibição e com inibição da via MAPK p38.



Legenda: C-= controle negativo, C+= controle positivo, MIF=Média de intensidade de fluorescência, IFN-g= interferon gama, IL-4= interleucina 4, IL-10= interleucina 10, IL-17= interleucina 17.

CONCLUSÃO

Diante do que foi percebido, podemos afirmar que células cultivadas com rHmuY utilizam a via MAPK p38 para a produção de IL-10 e IFN-g induzida por rHmuY. Esta via não foi crucial na produção de IL-17 e IL-4.

REFERÊNCIAS

- PAPAPANOU, P.N. *et al.* 2018. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 world Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol.* 89 Suppl 1:S173-S182. doi: 10.1002/JPER.17-0721.
- BRASIL. 2024. Ministérios da Saúde Secretaria de Atenção Primária a Saúde. Departamento de Estratégias e Políticas de Saúde Comunitária. *SB Brasil 2023 . Pesquisa Nacional de Saúde Bucal: Relatório Final.* Brasília. Ministério da Saúde.
- PARIHAR, A.S. *et al.* 2025. Evaluation of the Combined Effects of Tobacco and Diabetes on Periodontal Health Outcomes in India: A Longitudinal Cohort Study. *J Pharm & Bioal Sci*, 17, S544-S546.
- XIONG K., *et al.* 2024. Periodontitis aggravates COPD through the activation of $\gamma\delta$ T cell and M2 macrophage. *mSystems*, 9(2):e0057223.
- FIGUEIREDO, AS. *et al.* 2023. Relação Entre a Doença Periodontal e a Doença de Alzheimer – Revisão Da Literatura. *Rev. Flum. Odontol. (online)*, 2(64):08-18.
- ABOU-BAKR A., *et al.* 2022. The frequency of periodontitis in end-stage renal disease on hemodialysis in a sample of Egyptian population: multi-center clinical cross-sectional study. *BMC Oral Health*, 22(1):1.
- GOMES-FILHO, I. S. *et al.* 2022 Periodontitis is a factor associated with dyslipidemia. *Oral Dis*, 28(3):813-823.

SMALLEY, J. W.; OLCZAK, T. 2016. Heme acquisition mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*- strategies used in a polymicrobial community in a heme-limited host environment. *Mol Oral Microbiol*, 32(1):1-23.

RENJITH, A.; RAJAN, N.; SHAILA, S. 2023. Protein and mRNA expression of interleukin-33 in periodontally diseased and healthy individuals and impact of nonsurgical periodontal therapy in salivary IL-33 levels. *J Indian Soc Periodontol*. 27(1):45-50. doi: 10.4103/jisp.jisp_390_21.

CALHEIRA, M. C. et al. 2021. Immunoassay standardization for the detection of immunoglobulin A (IgA) against *Porphyromonas gingivalis* antigens in saliva of individuals with and without leprosy. *AMB Express*, 11:1-7.

GOMES-FILHO, I. S. et al. 2021a. Mothers' high glycemic levels and the association between periodontitis and low birth weight. *J. Periodontol*, 1:1-8.

GOMES-FILHO, I. S. et al. 2021b. Periodontitis is a factor associated with dyslipidemia. *Oral Dis*, 24: Ahead of print.

CARGNELLO M.; ROUX P. P. 2012. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiol Mol Biol Rev.*, 75(1):50-83, 2011. Erratum in: *Microbiol Mol Biol Rev*, 76(2):496.

MILLER C. J.; TURK B. E. 2018. Homing in: Mechanisms of Substrate Targeting by Protein Kinases. *Trends Bioch Sci*, 43(5):380-394.

KOSNO, J.; SIEMIŃSKA, K.; OLCZAK, T. 2022. Unique Properties of Heme Binding of the *Porphyromonas gingivalis* HmuY Hemophore-like Protein Result from the Evolutionary Adaptation of the Protein Structure. *Molecules*, 27(5):1703. doi: 10.3390/molecules27051703.

ŚMIGA, M.; ŚLĘZAK, P.; WAGNER, M.; OLCZAK, T. 2023. Interplay between *Porphyromonas gingivalis* Hemophore-Like Protein HmuY and Kgp/RgpA Gingipains Plays a Superior Role in Heme Supply. *Microbiol Spectr*, 11(2):e0459322. doi: 10.1128/spectrum.04593-22. Epub ahead of print.

SANTOS-LIMA E. K. N., et al. 2019. Production of interferon-gamma, interleukin-6, and interleukin-1 β by human peripheral blood mononuclear cells stimulated with novel lys-gingipain synthetic peptides. *J Periodontol*, 90(9):993-1001.

NEURATH, N.; KESTING, M. 2024. Cytokines in gingivitis and periodontitis: from pathogenesis to therapeutic targets. *Front Immunol*, 15:1435054. doi: 10.3389/fimmu.2024.1435054.

PAN, W.; WANG, Q.; CHEN, Q. 2019. The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *Int J Oral Sci*, 11, 30.
<https://doi.org/10.1038/s41368-019-0064-z>.