

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 26/03/2020.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA**



Adriana Alicia Cabrera Ortega

Sinalização via Akt1 em células dendríticas modula a interação microbiota-hospedeiro e a reabsorção óssea inflamatória



ARARAQUARA

2018



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



Adriana Alicia Cabrera Ortega

Sinalização via Akt1 em células dendríticas modula a interação microbiota-hospedeiro e a reabsorção óssea inflamatória

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia – Área de concentração em Periodontia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista – UNESP, para obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Orientadora: Prof. Dra. Morgana R Guimarães Stabili

ARARAQUARA

2018

Cabrera Ortega, Adriana Alicia

Sinalização via Akt1 em células dendríticas modula a interação microbiota-hospedeiro e a reabsorção óssea inflamatória / Adriana Alicia Cabrera Ortega. – Araraquara: [s.n.], 2018

112 f. ; 30 cm

Tese (Doutorado em Odontologia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Morgana Rodrigues Guimarães Stabili

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Rossa Junior

1. Doenças periodontais 2. Células dendríticas 3. Proteínas proto-oncogênicas c-Akt 4. Imunidade inata 5. Imunidade adaptativa I. Título

Adriana Alicia Cabrera Ortega

Sinalização via Akt1 em células dendríticas modula a interação microbiota-hospedeiro e a reabsorção óssea inflamatória

COMISSÃO JULGADORA

TESE PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR

Presidente e Orientadora: Profa. Dra. Morgana Rodrigues Guimarães Stabili

2º examinador: Profa. Dra. Daniela Bazan Palioto

3º examinador: Prof. Dr. Sérgio Roberto Peres Line

4º examinador: Profa. Dra. Raquel Mantuaneli Scarel Caminaga

5º examinador: Profa. Dra. Alexandra Ivo de Medeiros

Araraquara, 26 de março de 2018.

DADOS CURRICULARES

ADRIANA ALICIA CABRERA ORTEGA

NASCIMENTO: 19.09.1987 – México, DF

FILIAÇÃO: Arturo Cabrera Mc. Gregor

Letícia Elizabeth Ortega Valencia

2005 – 2010: Curso de Graduação em Odontologia

Universidad Autónoma de Nuevo León - UANL

2012 – 2014: Curso de Pós-Graduação em Periodontia

Nível: Mestrado

Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2012 – 2014: Curso de Especialização em Implantologia

Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2014 – 2018: Curso de Pós-Graduação em Periodontia

Nível: Doutorado

Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

DEDICO ESTE TRABALHO À ...

Leticia Elizabeth Ortega Valencia e Arturo Cabrera Mc. Gregor

Mamãe, você sempre acreditou em mim, você me deu os melhores conselhos quando eu precisava e, embora você não esteja fisicamente comigo agora, você sempre estará em meu coração e cada um dos meus sonhos realizados serão dedicados à você, pois também são suas realizações.

Papi, sempre serei grata por tudo o que você fez por mim, você tem sido meu pilar e você me sustentou quando senti que estava colapsando, você me ensinou a ser forte e perseverante. Obrigado por andarem comigo, apoiando-me em tempos difíceis e rindo comigo nos felizes.

Muito obrigada aos dois por me darem seu apoio e amor incondicional, os AMO muito.

Vocês são o meu exemplo a seguir!

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço à **Deus**, por me permitir alcançar meus objetivos.

À minha irmã **Elizabeth Angélica Cabrera Ortega**, por me apoiar e cuidar sempre de mim, à minha sobrinha **Rebeca** e o meu cunhado **Moises**. Os amo muito!

À minha tia **María Elizabeth Cárdenas Cerda**, por ajudar-me antes de começar a faculdade. Você é como minha segunda mãe! Ao meu tio **Javier Cabrera Mc Gregor**, muito obrigada por tudo o que você fez por mim. Os amo muito!

À **Juan Gabriel González Rodríguez**, muitas coisas aconteceram durante este tempo, mas obrigada pela paciência, por sempre me apoiar e acreditar em mim. Essa conquista é de ambos, eu te amo!

À minha irmã de coração **Melissa Monsivais Alarcón**, muito obrigada pelo apoio, amo você!

À toda a **minha família**, que me apoia e acredita em mim, eu os amo!

Ao **Prof. Dr. Carlos Rossa Junior**, não tenho como agradecer todo o apoio que você me deu. Muito obrigada pelo incentivo em fazer o doutorado, pela paciência, por todo o aprendizado e pelo apoio. Com certeza você é peça chave na realização deste trabalho.

Ao **Dr. Dana Graves**, pela oportunidade de trabalhar no seu laboratório, pela colaboração no projeto e por todo o aprendizado.

À **Morgana Guimarães**, obrigada pelo incentivo em fazer doutorado, por toda a disponibilidade em ajudar na realização do trabalho e pela amizade.

Ao **Prof. Dr. Pedro Paulo Chaves de Souza**, obrigada pela disponibilidade em ajudar no projeto, abrindo as portas do seu laboratório.

À **Vinicius Paiva**, Muito obrigada por tudo! Por sempre me escutar, me ajudar, pelas altas risadas. Construímos uma amizade para a vida toda. Você tornou-se meu irmão. Adoro você!

À **Livia Finoti**, Com certeza você tornou-se uma pessoa muito importante na minha vida. Muito obrigada por tudo minha linda, pela parceria nos momentos bons e ruins, por toda a ajuda, por me escutar e ser uma amiga incondicional. Ganhei mais uma irmã. Amo você!

Aos meus queridos amigos *Cristiane Fratus* e *João Antonio Souza*, Muito obrigada pela amizade. Adoro vocês!

À minha querida amiga *Miriam Magro*, muito obrigada pela amizade ao longo da minha estadia no Brasil, que com certeza continuará mesmo estando longe. Adoro você!

À *Patty Maquera*, obrigada pelo apoio, pela amizade, altos papos e risadas.

À *Tiago Fonseca*, obrigada pelo apoio e pela amizade ao longo dos anos e não posso esquecer da parceria para comer!

À *Marcelo* e *Débora Mattos*, muito obrigada por todo o apoio que eu recebi de vocês desde o primeiro momento que os conheci, pela amizade ao longo da minha estadia na Philadelphia, que com certeza continuará mesmo estando longe. Adoro vocês!

Aos colegas e amigos da Pós-Graduação... *Alejandro, Audry, Carolina, Bruno, Camila, Cássio, Cindy, Cristian, Elton, Felipe, Fernanda Castanheira, Fernanda Florian, Giovanna, Gláucia, Guilherme, Kahena, Kennia, Lauriê, Lélis, Luis, Luiz, Marcell, Mariana, Mauricio, Miriam, Natália, Natalie, Patrícia, Paulinha, Rafael, Sâmara, Suzane, Vinícius Ibiapina, Vinícius Paiva.*

Aos meus *amigos do México*, que apesar de distantes sempre me apoiaram, e forneceram todo o ânimo para alcançar minhas metas.

Aos meus queridos amigos do circo, *Amanda, Camila, Carol, Daniel, Dayane, Erick, Grasielle, Jillian, Mariana, Thais* por me acolherem durante minha jornada e tornarem mais felizes os meus dias.

Aos *amigos da UPENN*, obrigada pela disponibilidade de me ajudar, e pela amizade.

Ao *Prof. Dr. Renato Leonardo e família*, agradeço pela recepção como se fosse parte de sua família, e por estarem sempre preocupados com meu bem estar. Um grande abraço.

Aos *Professores Dr. Mario Tanomaru e Dra. Juliane Tanomaru*, agradeço pelo apoio, e pela amizade.

Aos Professores Doutores do Curso de Doutorado em Periodontia... *Adriana Marcantonio, Carlos Rossa, Daniela Zandin, Elcio Marcantonio, Joni Augusto, José Eduardo, Morgana Guimarães, Silvana Orrico*. Agradeço pelos ensinamentos nesses dois anos.

Aos queridos *José Alexandre Garcia, Cristiano Afonso Lamounier* e *Renan* pela acessibilidade e disponibilidade em atender toda e qualquer necessidade. Agradeço pela paciência.

Aos funcionários e amigos do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia e da Periodontia... *Claudinha, Isabela, Suleima* e *Regina Lúcia*. Agradeço toda atenção, disponibilidade e pela amizade!

À *Diretoria da FOAr-UNESP* por toda a estrutura proporcionada à realização deste curso.

À *FAPESP* (2015/10100-8) pelo apoio financeiro durante a realização do Doutorado e o estágio no exterior.

Ao *Brasil* e todas as pessoas que me acolheram durante minha jornada.

Cabrera Ortega AA. Sinalização via Akt1 em células dendríticas modula a interação microbiota-hospedeiro e a reabsorção óssea inflamatória [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2018.

RESUMO

Células dendríticas têm papel crucial na patogênese das doenças periodontais por orquestrarem a resposta imune adaptativa e por seu papel como precursoras de osteoclastos. A sinalização via Akt tem importante papel em processos como metabolismo, proliferação, apoptose e também na resposta imune. Evidências indicam que Akt1 tem papel de regulador endógeno negativo da resposta inflamatória; porém pode tanto estimular quanto inibir a osteoclastogênese. Considerando que as células dendríticas participam tanto da inflamação/resposta imune quanto do *turnover* do tecido ósseo como células precursoras de osteoclastos, propusemos avaliar através de um estudo in vivo o papel da atividade de Akt1 na inflamação associada a interações microbiota-hospedeiro, bem como investigar in vitro os efeitos desta via de sinalização sobre os diferentes eventos biológicos das células dendríticas. Para o estudo in vivo foi utilizado um modelo de doença periodontal experimental induzida por *P. gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*, em um modelo de animais transgênicos com deleção gênica condicional. Os desfechos avaliados foram: inflamação (morfometria), reabsorção óssea (μ CT), osteoclastogênese (IHC), anticorpos específicos para *P.gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum* (ELISA). No estudo in vitro foi avaliado o papel da via de sinalização Akt1 sobre as seguintes atividades das células dendríticas: proliferação, apoptose, atividade fagocitária, migração, apresentação de antígeno e osteoclastogênese. Resultados do estudo in vivo demonstraram que a sinalização via Akt1 em células dendríticas parece ter um papel importante na patogênese da doença periodontal, podendo modificar a intensidade da resposta imune adaptativa assim como sua diferenciação osteoclástica, modificando assim o *turnover* fisiológico do osso alveolar. Adicionalmente, é possível concluir que a sinalização via Akt é necessária para o desenvolvimento das funções biológicas (proliferação, fagocitose, apresentação de antígeno e diferenciação osteoclástica) das células dendríticas.

Palavras-chave: Doenças periodontais. Células dendríticas. Proteínas proto-oncogênicas c-Akt. Imunidade inata. Imunidade adaptativa.

Cabrera Ortega AA. Akt1 Signaling in dendritic cells modulates host-microbial interaction and inflammatory bone resorption [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2018.

ABSTRACT

Dendritic cells play a crucial role in the pathogenesis of periodontal diseases by orchestrating the adaptive immune response and their role as osteoclast precursors. Akt signaling plays an important role in processes such as metabolism, proliferation, apoptosis and also in the immune response. Evidence indicates that Akt1 plays a role of negative endogenous regulator of the inflammatory response; but can both stimulate and inhibit osteoclastogenesis. Considering that dendritic cells participate in both inflammation/immune response and turnover of bone tissue as osteoclast precursor cells, we have proposed to evaluate in a vivo study the role of Akt1 activity in inflammation associated with microbiota-host interactions, as well as to evaluate in vitro the role of the Akt1 signaling pathway in dendritic cell biology. In vivo study was employed a model of experimental periodontal disease induced by *P. gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* in transgenic animals model with conditional gene deletion. The outcomes evaluated were: inflammation (morphometry), bone resorption (μ CT), osteoclastogenesis (IHC), antibodies specific for *P.gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* (ELISA). In vitro study was evaluated the role of Akt1 signaling pathway on the following outcomes related to dendritic cell biology: proliferation, apoptosis, phagocytic activity, migration, antigen presentation and osteoclastogenesis The results showed that signaling via Akt1 in dendritic cells seems to play an important role in the pathogenesis of periodontal disease, modifying the intensity of the adaptive immune response as well as its capacity in osteoclastic differentiation, thus modifying the physiological turnover of the alveolar bone. Futhermore, it is possible to conclude that Akt signaling is necessary for the development of biological functions (proliferation, phagocytosis, antigen presentation and osteoclast differentiation) of dendritic cells.

Keywords: Periodontal diseases. Dendritic cells. Proto-oncogene proteins c-Akt. Innate immunity. Adaptive immunity.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Akt: Protein kinase B / Proteína quinase B

APCs: Antigen-presenting cells / células apresentadoras de antígeno

Bcl-2: B-cell lymphoma 2/ Célula-B de linfoma 2

BMDCs: Bone marrow derived dendritic cells / Células dendríticas derivadas da medula óssea

BSA: Bovine serum albumin / Albumina do soro bovino

CCL-19: Chemokine (C-C motif) ligand 19/ Ligando de quimiocina (motivo C-C) 19

CCR10: C-C chemokine receptor type 10 / C-C recetor de quimiocinas tipo 10

CCR5: C-C chemokine receptor type 5 / C-C recetor de quimiocinas tipo 5

CCR6: C-C chemokine receptor type 6 / C-C recetor de quimiocinas tipo 6

CCR7: C-C chemokine receptor type 7 / C-C recetor de quimiocinas tipo 7

CCR9: C-C chemokine receptor type 9 / C-C recetor de quimiocinas tipo 9

CD34: Cluster of Differentiation 34 / Conjunto de Diferenciação 34

CXCL8: Interleukin 8 / Interleucina 8

DAMPs: Damage-associated molecular patterns / Padrões moleculares associados ao dano

DAPI: 4',6-diamidino-2-phenylindole / 4', 6-diamidino-2-fenilindole

DCs: Dendritic cells / Células dendríticas

DMSO: Dimethyl sulfoxide/ Dimetilsulfóxido

DNA: Deoxyribonucleic acid / Ácido desoxirribonucleico

DTT: Dithiothreitol / Ditiotreitól

EDTA: Ethylenediamine tetraacetic acid / Ácido etilendiaminotetracético

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay / Ensaio de imunoabsorção enzimática

FasL: Fas Ligand / Ligante Fas

FBS: Fetal bovine serum / Soro fetal bovino

Fn: *Fusobacterium nucleatum*

GM-CSF: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor / Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos

H&E: Hematoxylin-Eosin / Hematoxilina-Eosina

HC: Histochemistry /Histoquímica

HRP: Horseradish peroxidase / Peroxidase obtida a partir da raiz forte

IL-1: Interleukin 1 / Interleucina 1

IL-10: Interleukin 10 / Interleucina 10

IL-4: Interleukin 4 / Interleucina 4

IL-6: Interleukin 6 / Interleucina 6

iNOS: inducible isoform of nitric oxide synthase / Isoforma induzível da sintase do óxido nítrico

JCE: Cement-enamel junction / Junção cimento-esmalte

KO: Knockout / Nocaute

LPS Lipopolysaccharide / Lipopolissacarídeo

MAPKinase: Mitogen-activated protein kinase / Proteína quinase ativada por mitógenos

mDCs: Myeloid dendritic cells / Células dendríticas mielóides

MHC: Major histocompatibility complex / complexo principal de histocompatibilidade

NF- κ B: Factor nuclear kappa B / Fator de transcrição nuclear kappa B

NK: Natural killer cells / Células exterminadoras naturais

OPG: Osteoprotegerin / Osteoprotegerina

PBMCs: peripheral blood mononuclear cells / células mononucleares no sangue periférico

PBS: Phosphate buffered saline / Solução salina tamponada com fosfato

pDCs: Plasmacytoid dendritic cells / Células dendríticas plasmocitóides

Pg: *Porphyromonas gingivalis*

PI3-kinase: Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase / Fosfatidilinositol-4,5-bifosfato 3-kinase

PMNs: Polymorphonuclear neutrophils / Neutrófilos polimorfonucleares

PVDF: Polyvinylidene difluoride / Difluoreto de polivinilideno

RANKL: Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand / Ligante do receptor do ativador do fator nuclear Kappa B

ROI: Region of interest / Região de interesse

Runx2: Runt-related transcription factor 2 / Fator 2 de transcrição relacionado com Runt

TBS: Tris-buffered saline / Solução salina tamponada com Tris

TGF-beta: Transforming growth factor beta/ Fator de transformação do crescimento beta

TLRs: Toll like receptors / Receptores do tipo toll

TNF-alfa: Tumor necrosis factor alpha / Fator de necrose tumoral alfa

TNF: Tumor necrosis factor / Fator de necrose tumoral

TRAP: Tartrate-resistant acid phosphatase / Fosfatase ácida resistente ao tartarato

Treg: Regulatory T cell / células T regulatórias

UFC: Colony forming unit / Unidade de formação de colônias

μCT: Microcomputed tomography / Microtomografia computadorizada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1 Células Dendríticas e Regulação da Resposta Imune nas Doenças Periodontais.....	21
2.2 Sinalização Via Akt1 na Resposta Imune e Função de Células Dendríticas.....	23
3 PROPOSIÇÃO	26
3.1 Hipótese	26
3.2 Objetivos Específicos	26
4 PUBLICAÇÕES	27
4.1 Publicação 1	27
4.2 Publicação 2	48
4.3 Publicação 3	69
5 CONCLUSÕES	92
REFERÊNCIAS.....	93
APÊNDICES	97
ANEXOS	109

1 INTRODUÇÃO

Até os anos 60, o desenvolvimento da resposta imune era atribuído basicamente aos macrófagos devido às suas propriedades de fagocitar antígenos. Já se reconhecia a relevância dos linfócitos como mediadores da resposta imune tardia ou adaptativa, no entanto não se sabia como estes linfócitos localizados nos linfonodos eram ativados pelos antígenos fagocitados pelos macrófagos. Na década de 70, os trabalhos de Steinman e Cohn¹⁻⁴ identificaram células distintas de macrófagos na função e aparência, com expressão de níveis elevados de moléculas MHC classe II (major histocompatibility complex) necessárias à apresentação de antígenos extracelulares, apresentando projeções citoplasmáticas semelhantes à dendritos, e com uma quantidade relativamente menor de lisossomos e atividade fagocitária menos intensa.

Células dendríticas (DCs) tem origem hematopoiética e representam o exemplo prototípico de células apresentadoras de antígeno (Antigen-presenting cells, APCs), tendo papéis fundamentais no reconhecimento de antígenos e na resposta imune inata, bem como na ativação e modulação da resposta adaptativa⁵. Atualmente, especialmente com base em suas características fenotípicas, são reconhecidas diversas populações distintas de células dendríticas, dependendo de sua localização ou “nicho” nos quais exercem função imunomodulatória. Assim, são reconhecidas populações de células dendríticas circulantes (periféricas), cutâneas, intestinais, pulmonares e hepáticas. Porém, apenas no início da década de 90 começaram a surgir evidências indicando que, além de sua função estimulatória da imunidade, as células dendríticas também podem ter função inibitória na resposta imune por meio de mecanismos de tolerância⁶. Esta função tolerogênica/inibitória das células dendríticas pode ter implicações importantes tanto na patogênese quanto na terapia de algumas doenças e condições, como a artrite reumatoide, asma e o diabetes tipo I.

Existem evidências sugerindo a existência de células precursoras comuns (CD34+) derivadas do sangue/medula óssea que podem gerar células dendríticas, granulócitos e macrófagos. Conceitualmente, as células dendríticas tem origem hematopoiética a partir de precursores localizados na medula óssea, os quais originam as células dendríticas periféricas que 'semeiam' diferentes órgãos e tecidos, inicialmente como células imaturas^{7,8}. Alguns autores descrevem mais de um subtipo de células dendríticas em um mesmo 'nicho', como células dendríticas cutâneas⁹, e até mesmo células dendríticas periféricas (que são raras entre as células mononucleares no sangue periférico (PBMCs – peripheral blood mononuclear

cells), perfazendo menos de 1% dos números totais de leucócitos) que podem ser 'mielóides' (mDC, alta atividade fagocítica, e expressão de diversos receptores do tipo toll (TLRs – toll like receptors), sendo capazes de reconhecer antígenos bacterianos e virais)^{10,11}, e as células dendríticas plasmocitóides (pDC, derivadas de precursores linfóides e que expressam predominantemente TLR-7 e -9, reconhecendo primariamente antígenos virais e com elevada produção de interferon)^{12,13}. Monócitos CD14+ também podem gerar DCs nas condições adequadas (na presença do fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) e Interleucina 4 (IL-4)), o que implica que a população de células monocíticas pode servir como fonte de precursores de células dendríticas, que se diferenciam em condições externas / de microambiente apropriadas. Além destas possibilidades, também existem evidências indicando que DCs possam se originar de precursores linfocíticos, os quais poderiam originar também células T, B e natural killer (NK), dependendo das condições e estímulos externos (microambiente). É possível que estas diferentes origens resultem em distintos 'subtipos' de DCs que podem apresentar diferenças fenotípicas e funcionais. Por exemplo, DCs de origem linfóide expressam o marcador CD8 e podem exercer efeito supressor sobre células T por meio da indução de apoptose via ligante Fas (FasL – Fas Ligand), diferentemente de DCs de origem mielóide (CD8-) que não exercem este efeito supressor¹⁴. Mesmo quando derivadas do precursor mielóide comum (caracterizado pela expressão do marcador CD34) pelo estímulo com GM-CSF e TNF, aquelas diferenciadas a partir de células monocíticas (CD14+) são capazes de suportar a proliferação e diferenciação de linfócitos B, enquanto as DCs originadas de células CD14- não tem esta capacidade¹⁵.

Independentemente de sua origem, as DCs usualmente apresentam um fenótipo inicial denominado 'imaturo', no qual apresentam grande capacidade fagocitária, porém baixa capacidade de estimular linfócitos. A exposição e fagocitose de antígenos, juntamente com condições específicas do microambiente em que se encontram (exposição a mediadores inflamatórios e fatores de crescimento) induzem o processo de maturação das DCs, caracterizado por profundas mudanças fenotípicas, incluindo a sua migração de tecidos não-linfóides para tecidos linfóides ou corrente sanguínea (por meio do aumento da expressão de alguns receptores de quimiocinas como CCR7, relacionada à localização/atração das células aos linfonodos e inibição da expressão de outros receptores de quimiocinas, como CCR5 e CCR6, relacionados à localização/atração à sítios com inflamação ativa), drástica redução da capacidade fagocítica e marcante capacidade estimulatória de linfócitos, incluindo a apresentação de antígenos via MHC classe II, de moléculas co-estimulatórias e de citocinas

associadas à polarização fenotípica de células T. O Quadro 1 apresenta os marcadores específicos da polarização fenotípica das DCs.

Quadro 1 - Marcadores mais comuns e genéricos associados à maturação e polarização fenotípica/ativação de células T por DCs (dados de humanos e camundongos, incluindo diversos subtipos de DCs)^{5, 16}

Marcadores / Fenótipo	Maturação	CD8/CTL	Th1	Th2/Treg (DC regulatórias)
MHC II	+++	+	+++	+++
MHC I	+	+++	+/-	+/-
CD80	+++	+++	+++	+++
CD86	+++	+++	+++	+++
CD40	+++	+	+++	+++
CCR7	+++	++	+++	+++
CD1a, b, c	+		+/-	+
CD11c	+		+	++
CD11b	+		+++	+
CD8	+/-	+++		
CD4	+/-	-	+/-	+/-
IL-12	++	+++	+++	+
IL-10	++	+/-	+	+++

Fonte: Elaboração própria.

Interessante notar que além destes sinais “comuns” à ativação da resposta imune adaptativa, evidências mais recentemente indicam que as células dendríticas expressam um “4o sinal” de ativação de células T, representado pela “orientação” ou “direcionamento” ("homing") da célula T presente no linfonodo ao tecido ou órgão de interesse. Por exemplo, no intestino TGF-beta e ácido retinóico produzido pela células dendríticas induzem a expressão de CCR9 nas células T, o qual é importante para o “homing” destas células ao intestino¹⁷. De forma similar, células dendríticas cutâneas liberam metabolitos de vitamina D que induzem a expressão de CCR10 pelas células T, o qual é importante para o 'homing' destas células para a pele¹⁸.

De forma geral as informações e evidências apresentadas nesta seção implicam as células dendríticas como um tipo celular fundamental na regulação da resposta imune adaptativa.

5 CONCLUSÕES

- A sinalização via Akt1 em células dendríticas parece ter um papel importante na patogênese da doença periodontal, podendo modificar a intensidade da resposta imune adaptativa assim como sua capacidade na diferenciação osteoclástica, modificando assim o *turnover* fisiológico do osso alveolar
- A sinalização via Akt é necessária para o desenvolvimento das funções biológicas (proliferação, fagocitose, apresentação de antígeno e diferenciação osteoclástica) das células dendríticas.

REFERÊNCIAS

1. Steinman RM, Witmer MD. Lymphoid dendritic cells are potent stimulators of the primary mixed leukocyte reaction in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1978; 75(10): 5132-6.
2. Steinman RM, Kaplan G, Witmer MD, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. V. Purification of spleen dendritic cells, new surface markers, and maintenance in vitro. *J Exp Med*. 1979; 149(1): 1-16.
3. Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med*. 1973; 137(5): 1142-62.
4. Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. II. Functional properties in vitro. *J Exp Med*. 1974; 139(2): 380-97.
5. Gordon JR, Ma Y, Churchman L, Gordon SA, Dawicki W. Regulatory dendritic cells for immunotherapy in immunologic diseases. *Front Immunol*. 2014; 5: 7.
6. Steinman RM. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu Rev Immunol*. 1991; 9: 271-96.
7. Caux C, Ait-Yahia S, Chemin K, de Bouteiller O, Dieu-Nosjean MC, Homey B, et al. Dendritic cell biology and regulation of dendritic cell trafficking by chemokines. *Springer Semin Immunopathol*. 2000; 22(4): 345-69.
8. Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu YJ, et al. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol*. 2000; 18: 767-811.
9. Henri S, Poulin LF, Tamoutounour S, Ardouin L, Guilliams M, de Bovis B, et al. CD207+ CD103+ dermal dendritic cells cross-present keratinocyte-derived antigens irrespective of the presence of Langerhans cells. *J Exp Med*. 2010; 207(1): 189-206.
10. Steinman RM, Inaba K. Myeloid dendritic cells. *J Leukoc Biol*. 1999; 66(2): 205-8.
11. MacDonald KP, Munster DJ, Clark GJ, Dzionek A, Schmitz J, Hart DN. Characterization of human blood dendritic cell subsets. *Blood*. 2002; 100(13): 4512-20.
12. Gilliet M, Cao W, Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cells: sensing nucleic acids in viral infection and autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol*. 2008; 8(8): 594-606.
13. Colonna M, Trinchieri G, Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. *Nat Immunol*. 2004; 5(12): 1219-26.
14. Suss G, Shortman K. A subclass of dendritic cells kills CD4 T cells via Fas/Fas-ligand-induced apoptosis. *J Exp Med*. 1996; 183(4): 1789-96.
15. Caux C, Vanbervliet B, Massacrier C, Dezutter-Dambuyant C, de Saint-Vis B, Jacquet C et al. CD34+ hematopoietic progenitors from human cord blood differentiate along two independent dendritic cell pathways in response to GM-CSF+TNF alpha. *J Exp Med*. 1996; 184(2): 695-706.

16. Shortman K, Liu YJ. Mouse and human dendritic cell subtypes. *Nat Rev Immunol*. 2002; 2(3): 151-61.
17. Weiner HL, da Cunha AP, Quintana F, Wu H. Oral tolerance. *Immunol Rev*. 2011; 241(1): 241-59.
18. Sigmundsdottir H, Pan J, Debes GF, Alt C, Habtezion A, Soler D, et al. DCs metabolize sunlight-induced vitamin D3 to 'program' T cell attraction to the epidermal chemokine CCL27. *Nat Immunol*. 2007; 8(3): 285-93.
19. Miles B, Abdel-Ghaffar KA, Gamal AY, Baban B, Cutler CW. Blood dendritic cells: "canary in the coal mine" to predict chronic inflammatory disease? *Front Microbiol*. 2014; 5: 6.
20. Palucka K, Banchereau J. How dendritic cells and microbes interact to elicit or subvert protective immune responses. *Curr Opin Immunol*. 2002; 14(4): 420-31.
21. Carrion J, Scisci E, Miles B, Sabino GJ, Zeituni AE, Gu Y, et al. Microbial carriage state of peripheral blood dendritic cells (DCs) in chronic periodontitis influences DC differentiation, atherogenic potential. *J Immunol*. 2012; 189(6): 3178-87.
22. Cutler CW, Teng YT. Oral mucosal dendritic cells and periodontitis: many sides of the same coin with new twists. *Periodontol 2000*. 2007; 45: 35-50.
23. Li X, Yang A, Huang H, Zhang X, Town J, Davis B, et al. Induction of type 2 T helper cell allergen tolerance by IL-10-differentiated regulatory dendritic cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2010; 42(2): 190-9.
24. Kanaya S, Nemoto E, Ogawa T, Shimauchi H. *Porphyromonas gingivalis* fimbriae induce unique dendritic cell subsets via Toll-like receptor 2. *J Periodontal Res*. 2009; 44(4): 543-9.
25. Cury PR, Carmo JP, Horewicz VV, Santos JN, Barbuto JA. Altered phenotype and function of dendritic cells in individuals with chronic periodontitis. *Arch Oral Biol*. 2013; 58(9): 1208-16.
26. Kaneko T, Okiji T, Kaneko R, Suda H. Characteristics of resident dendritic cells in various regions of rat periodontal ligament. *Cell Tissue Res*. 2008; 331(2): 413-21.
27. Alnaeeli M, Penninger JM, Teng YT. Immune interactions with CD4⁺ T cells promote the development of functional osteoclasts from murine CD11c⁺ dendritic cells. *J Immunol*. 2006; 177(5): 3314-26.
28. Zhao L, Kaneko T, Okiji T, Takagi M, Suda H. Immunoelectron microscopic analysis of CD11c-positive dendritic cells in the periapical region of the periodontal ligament of rat molars. *J Endod*. 2006; 32(12): 1164-7.
29. Kikuchi T, Willis DL, Liu M, Purkall DB, Sukumar S, Barbour SE, et al. Dendritic-NK cell interactions in *P. gingivalis*-specific responses. *J Dent Res*. 2005; 84(9): 858-62.
30. Dereka XE, Tosios KI, Chrysomali E, Angelopoulou E. Factor XIIIa⁺ dendritic cells and S-100 protein⁺ Langerhans' cells in adult periodontitis. *J Periodontal Res*. 2004; 39(6): 447-52.

31. King CG, Kobayashi T, Cejas PJ, Kim T, Yoon K, Kim GK, et al. TRAF6 is a T cell-intrinsic negative regulator required for the maintenance of immune homeostasis. *Nat Med.* 2006; 12(9): 1088-92.
32. Chiu YC, Lin CY, Chen CP, Huang KC, Tong KM, Tzeng CY, et al. Peptidoglycan enhances IL-6 production in human synovial fibroblasts via TLR2 receptor, focal adhesion kinase, Akt, and AP-1- dependent pathway. *J Immunol.* 2009; 183(4): 2785-92.
33. Lai Y, Li D, Li C, Muehleisen B, Radek KA, Park HJ, et al. The antimicrobial protein REG3A regulates keratinocyte proliferation and differentiation after skin injury. *Immunity.* 2012; 37(1): 74-84.
34. Ma B, Dela Cruz CS, Hartl D, Kang MJ, Takyar S, Homer RJ, et al. RIG-like helicase innate immunity inhibits vascular endothelial growth factor tissue responses via a type I IFN-dependent mechanism. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011; 183(10): 1322-35.
35. Chang JD, Sukhova GK, Libby P, Schwartz E, Lichtenstein AH, Field SJ, et al. Deletion of the phosphoinositide 3-kinase p110gamma gene attenuates murine atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007; 104(19): 8077-82.
36. Zhang Y, Wang X, Yang H, Liu H, Lu Y, Han L, et al. Kinase AKT controls innate immune cell development and function. *Immunology.* 2013; 140(2): 143-52.
37. van de Laar L, van den Bosch A, Boonstra A, Binda RS, Buitenhuis M, Janssen HL, et al. PI3K-PKB hyperactivation augments human plasmacytoid dendritic cell development and function. *Blood.* 2012; 120(25): 4982-91.
38. van de Laar L, Buitenhuis M, Wensveen FM, Janssen HL, Coffey PJ, Woltman AM. Human CD34-derived myeloid dendritic cell development requires intact phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B-mammalian target of rapamycin signaling. *J Immunol.* 2010; 184(12): 6600-11.
39. Jia Y, Loison F, Hattori H, Li Y, Erneux C, Park SY, et al. Inositol trisphosphate 3-kinase B (InsP3KB) as a physiological modulator of myelopoiesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105(12): 4739-44.
40. Boronkai A, Bellyei S, Szigeti A, Pozsgai E, Bognar Z, Sumegi B, et al. Potentiation of paclitaxel-induced apoptosis by galectin-13 overexpression via activation of Ask-1-p38-MAP kinase and JNK/SAPK pathways and suppression of Akt and ERK1/2 activation in U-937 human macrophage cells. *Eur J Cell Biol.* 2009; 88(12): 753-63.
41. Androulidaki A, Iliopoulos D, Arranz A, Doxaki C, Schworer S, Zacharioudaki V, et al. The kinase Akt1 controls macrophage response to lipopolysaccharide by regulating microRNAs. *Immunity.* 2009; 31(2): 220-31.
42. Strassheim D, Asehnoune K, Park JS, Kim JY, He Q, Richter D, et al. Phosphoinositide 3-kinase and Akt occupy central roles in inflammatory responses of Toll-like receptor 2-stimulated neutrophils. *J Immunol.* 2004; 172(9): 5727-33.
43. Chen J, Tang H, Hay N, Xu J, Ye RD. Akt isoforms differentially regulate neutrophil functions. *Blood.* 2010; 115(21): 4237-46.
44. Arranz A, Doxaki C, Vergadi E, Martinez de la Torre Y, Vaporidi K, Lagoudaki ED, et al. Akt1 and Akt2 protein kinases differentially contribute to macrophage polarization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012; 109(24): 9517-22.

45. Luyendyk JP, Schabbauer GA, Tencati M, Holscher T, Pawlinski R, Mackman N. Genetic analysis of the role of the PI3K-Akt pathway in lipopolysaccharide-induced cytokine and tissue factor gene expression in monocytes/macrophages. *J Immunol*. 2008; 180(6): 4218-26.
46. Arron JR, Vologodskaia M, Wong BR, Naramura M, Kim N, Gu H, et al. A positive regulatory role for Cbl family proteins in tumor necrosis factor-related activation-induced cytokine (trance) and CD40L-mediated Akt activation. *J Biol Chem*. 2001; 276(32): 30011-7.
47. Park D, Lapteva N, Seethammagari M, Slawin KM, Spencer DM. An essential role for Akt1 in dendritic cell function and tumor immunotherapy. *Nat Biotechnol*. 2006; 24(12): 1581-90.
48. Mortaz E, Lazar Z, Koenderman L, Kraneveld AD, Nijkamp FP, Folkerts G. Cigarette smoke attenuates the production of cytokines by human plasmacytoid dendritic cells and enhances the release of IL-8 in response to TLR-9 stimulation. *Respir Res*. 2009; 10: 47.
49. Yang FC, Chen S, Robling AG, Yu X, Nebesio TD, Yan J, et al. Hyperactivation of p21ras and PI3K cooperate to alter murine and human neurofibromatosis type 1-haploinsufficient osteoclast functions. *J Clin Invest*. 2006; 116(11): 2880-91.
50. Mukherjee A, Rotwein P. Selective signaling by Akt1 controls osteoblast differentiation and osteoblast-mediated osteoclast development. *Mol Cell Biol*. 2012; 32(2): 490-500.
51. Kwak HB, Sun HM, Ha H, Lee JH, Kim HN, Lee ZH. AG490, a Jak2-specific inhibitor, induces osteoclast survival by activating the Akt and ERK signaling pathways. *Mol Cells*. 2008; 26(5): 436-42.
52. Xiao W, Dong G, Pacios S, Alnammary M, Barger LA, Wang Y, et al. FOXO1 deletion reduces dendritic cell function and enhances susceptibility to periodontitis. *Am J Pathol*. 2015; 185(4): 1085-93.
53. Lutz MB, Kukutsch N, Ogilvie AL, Rossner S, Koch F, Romani N, et al. An advanced culture method for generating large quantities of highly pure dendritic cells from mouse bone marrow. *J Immunol Methods*. 1999; 223(1): 77-92.