



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Antônio Roberto Garcia Júnior

**Estratégias vacinais no combate à doença periodontal:
uma revisão de literatura**

Araraquara
2024



UNESP - Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Antônio Roberto Garcia Júnior

**Estratégias vacinais no combate à doença periodontal:
uma revisão de literatura**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Graduação em Odontologia da
Faculdade de Odontologia de Araraquara, da
Universidade Estadual Paulista, para a
obtenção do grau de Cirurgião-dentista.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Rossa Júnior

Araraquara
2024

J95e

Júnior, Antônio Roberto Garcia

Estratégias vacinais no combate à doença periodontal : uma
revisão de literatura / Antônio Roberto Garcia Júnior. --
Araraquara, 2024

29 p.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Odontologia)
- Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de
Odontologia, Araraquara

Orientador: Carlos Rossa Júnior

1. Doenças Periodontais. 2. Vacinas. 3. Antígenos. I. Título.

**UNESP - Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Odontologia de Araraquara**

Antônio Roberto Garcia Júnior

**Estratégias vacinais no combate à doença periodontal:
uma revisão de literatura**

Orientador: Prof. Dr. Carlos Rossa Júnior

Assinatura Orientador:

Assinatura aluno:

Araraquara, 25 de outubro de 2024.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu melhor amigo e pai, Antônio Roberto Garcia, por me proporcionar um estudo longe de casa, nas melhores condições possíveis, e ter sido meu companheiro por todo esse tempo.

A minha mãe, Neiva de Almeida Coelho Garcia, agradeço a minha existência, por ter sido minha companheira de todos os dias, mas principalmente aos domingos até a rodoviária, e ter superado a minha ausência durante todo o período do curso.

A minha tia, Maria Fernanda de Camargo Vieira agradeço por me proporcionar sempre tudo o que precisasse com relação à faculdade e atendimentos, sempre de prontidão, além de todo o carinho, atenção, apoio, boa vontade, e preocupações sutis.

Agradeço a minha namorada Tatiane Maria de Souza por ter sido o meu fiel apoio, pela paciência, ideias, motivações, alegrias, e surpresas, que me proporcionou durante esses anos de curso, que passei muito distante.

A Milena Moraes de Carvalho, por todas as instruções, conhecimento compartilhado, ajudas, e esforço colocado para a realização desse trabalho, o que sem dúvida foi de grande proveito.

A minha dupla João Vitor Viel, gostaria de agradecer a parceria, durante todo o curso desde o primeiro ano, que superou muitos obstáculos.

Agradeço ao meu professor e orientador, Carlos Rossa Júnior, pela oportunidade em realizar esse TCC, e toda ajuda proporcionada para realização desse projeto.

Garcia Júnior AR. Estratégias vacinais no combate à doença periodontal: uma revisão de literatura [Trabalho de Conclusão de Curso – Graduação em Odontologia]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.

RESUMO

O Centro de Controle de Doenças (CDC) do governo norte-americano e o Ministério da Saúde do governo brasileiro definem “vacina” como um preparado utilizado para estimular a resposta imune contra doenças. Doenças periodontais são condições inflamatórias crônicas associadas a um estado de disbiose entre a microbiota do biofilme dental e a resposta do hospedeiro. As formas mais severas de doença periodontal afetam cerca de 11% da população mundial e são associadas à importante morbidade, com prejuízos para a qualidade de vida e também significativo impacto socioeconômico relacionado à necessidade de reabilitação devido à extração de dentes com extenso comprometimento funcional. O fator etiológico exógeno essencial na etiopatogênese das doenças periodontais é o desafio antigênico por parte de microrganismos do biofilme dental, incluindo suas toxinas, produtos do metabolismo e constituintes estruturais. Como condição inflamatória crônica iniciada e mantida por desafio microbiano, a utilização de vacinas como estratégia de manejo preventivo e até terapêutico das doenças periodontais tem sido considerada ao longo dos anos. Neste estudo, foi discutida a racionalidade do uso de vacinas para doenças periodontais e revisados estudos experimentais utilizando esta estratégia publicados em língua inglesa em periódicos indexados no PubMed/NCBI entre os anos de 1993 e 2023. Foram incluídos 11 estudos nesta revisão. Houve grande heterogeneidade quanto ao modelo experimental utilizado, tipo e via de administração das vacinas e desfechos avaliados. Em suma, os trabalhos demonstraram efeito protetor contra a perda óssea alveolar, redução de citocinas pró-inflamatórias nos tecidos gengivais, regulação da resposta imune celular, além da produção de anticorpos específicos contra os antígenos utilizados. Apesar da heterogeneidade, os resultados dos estudos revisados são otimistas quanto à utilização de vacinas como forma de prevenção da doença periodontal. Entretanto, novas pesquisas e ensaios clínicos são necessários para validar essas vacinas e garantir sua eficácia e segurança para uma aplicação futura na prática clínica.

Palavras – chave: Doenças Periodontais. Vacinas. Antígenos.

Garcia Júnior AR. Vaccination strategies in combating periodontal disease: a literature review [Trabalho de Conclusão de Curso – Graduação em Odontologia]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.

ABSTRACT

The Center for Disease Control (CDC) of the north-american government and the Ministry of Health of the brazilian government define “vaccine” as a preparation used to stimulate the immune response against diseases. Periodontal diseases are inflammatory conditions associated with a dysbiosis between microorganisms of the dental biofilm and the host response. It is estimated that severe forms of periodontal disease affect 11% of humans and this condition is associated with significant morbidity, negative impacts on the quality of life and also with an important socio-economical burden to society as it frequently involves extraction of teeth and subsequent functional and esthetic rehabilitation. Since the microbial challenge is the essential exogenous etiological factor for periodontal diseases, enhancing the immune response to the microbial antigenic challenge through vaccines seems biologically reasonable. In fact, the use of vaccines for preventive and therapeutic purposes in periodontal diseases have been studied for decades. In this study, the rationale of vaccines for periodontal diseases was discussed alongside with a review of experimental studies investigating periodontal disease vaccines. The literature search included selected studies published in the PubMed/NCBI database between 1993 and 2023. Eleven studies were included in this review. There was considerable heterogeneity in terms of the experimental models used, vaccine types and administration routes, and the outcomes assessed. In summary, the studies demonstrate attenuation of alveolar bone resorption, reduction of pro-inflammatory cytokines in gingival tissues, stimulation of cellular immune responses with increased production of specific antibodies against the antigens. Despite the heterogeneity, the results from the reviewed studies are optimistic regarding the use of vaccines as a preventive measure for periodontal disease. However, further research and clinical trials are needed to validate these vaccines and ensure their efficacy and safety for future clinical application.

Keywords: Periodontal Diseases. Vaccines. Antigens.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. PROPOSIÇÃO	10
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	11
4. DISCUSSÃO	21
5. CONCLUSÃO	26
REFERÊNCIAS	27

1. INTRODUÇÃO

A doença periodontal (DP) é uma condição inflamatória que afeta os tecidos ao redor dos dentes, incluindo gengiva, cemento, ligamento periodontal e osso alveolar^{1,2}. Ela pode variar de gengivite (uma forma mais leve da doença, em que não há destruição ativa do osso alveolar de suporte) à periodontite (em que a inflamação dos tecidos de suporte está associada à reabsorção ativa do osso alveolar de suporte)³. Em casos extremos, a progressão da periodontite pode levar à mobilidade dental e severo prejuízo da função, levando à necessidade de extração. A DP é uma doença multifatorial, ocasionada primariamente pelo desequilíbrio entre a microbiota bucal e a resposta imunológica do hospedeiro^{1,3}. Essa disbiose está associada à alteração na composição do biofilme microbiano, com aumento da prevalência de espécies bacterianas periodontopatogênicas, em especial de espécies anaeróbias e microaerófilas Gram-negativas^{1,4}. A interação dinâmica entre essas bactérias periodontopatogênicas e a resposta imune (influenciada por fatores genéticos, epigenéticos e ambientais) irá resultar na manifestação clínica da DP^{1,2}.

O complexo microbiano vermelho de Socransky & Haffajee, é composto por três principais espécies bacterianas associadas à periodontite: *P. gingivalis*, *T. forsythensis*, e *T. denticola*^{1,5}. Evidências suportam que estas espécies bacterianas desempenham um papel significativo na progressão da doença e, assim, sua presença no biofilme é considerada um fator de risco de maior severidade e agressividade da doença periodontal^{2,5}. Outros grupos de bactérias, como *F. nucleatum*, também parecem ter uma participação importante na instalação da doença periodontal, proporcionando condições ecológicas para a instalação das espécies periodontopatogênicas, ao possibilitar a coagregação de colonizadores iniciais e tardios (como as bactérias do complexo vermelho), levando à formação de um biofilme altamente complexo².

A abordagem terapêutica da DP enfoca primariamente a remoção do fator etiológico exógeno essencial: o biofilme microbiano dental. Métodos mecânicos de remoção do biofilme envolvem escovação dental pelo próprio paciente, bem como remoção profissional, através de raspagem e alisamento radicular, com o uso de instrumentos manuais ou elétricos, conhecida coletivamente como tratamento básico ou terapia relacionada à causa^{2,4}. Atualmente, quando não há uma resposta

satisfatória ao tratamento básico, usualmente são consideradas formas de intervenções cirúrgicas que facilitem o acesso para a instrumentação mecânica² e/ou a administração sistêmica de antimicrobianos, de forma que a essência da abordagem terapêutica (redução/modificação do biofilme microbiano dental) permanece inalterada. Outros tratamentos podem ser empregados de forma adjuvante à terapia periodontal básica e cirúrgica, como a utilização da terapia fotodinâmica antimicrobiana (com a finalidade de matar as bactérias periodontopatogênicas do biofilme); fotobiomodulação (auxiliando no processo de cicatrização)⁴, mantido o foco na redução/modificação do biofilme microbiano dental. Cirurgias regenerativas com enxertos ósseos ou de tecidos moles também podem ser empregadas com o intuito de reparar sequelas causadas pela doença¹, sendo estas abordagens terapêuticas não relacionadas à causa ou etiopatogênese da doença.

Embora essa abordagem terapêutica focada na redução/modificação do biofilme microbiano dental seja bastante eficaz, frequentemente os resultados obtidos são 'transitórios' devido à recidiva, considerando que não é possível eliminar o biofilme microbiano dental e que a ocorrência da disbiose é um processo dinâmico e, até o momento, imprevisível. Assim, pode-se dizer que o tratamento periodontal como é realizado atualmente não proporciona uma "proteção duradoura", visto que grande parte do sucesso a longo prazo dessa terapia depende de múltiplos fatores, incluindo a colaboração consciente do paciente no controle caseiro do biofilme. Nesse contexto, vacinas poderiam ajudar não apenas na prevenção de recidivas (interrompendo progressão), mas também na prevenção primária das doenças periodontais (interferindo, assim, no seu desenvolvimento)^{6,7}. O sequenciamento do genoma bacteriano, relacionando fatores de virulência principalmente das bactérias *P. gingivalis* e outras bactérias do complexo vermelho de Socransky & Haffajee, para a produção de vacinas, é uma estratégia relativamente recente e inovadora para a prevenção de instalação da doença, promovendo uma resposta protetora do hospedeiro que evitaria/minimizaria a colonização do biofilme microbiano dental por estas bactérias e, assim, preveniria a instalação de casos mais severos com reabsorção do osso alveolar de suporte ⁶. Diversos aspectos das vacinas, desde sua composição, atuação específica, relação de antígenos e capacidade de induzir a imunização passiva nos indivíduos são amplamente pesquisados na literatura e seguem progressivamente em testes de laboratório, em diversas formulações⁸⁻¹¹.

Dessa forma, as vacinas periodontais são estudadas e formuladas visando, principalmente, induzir uma resposta imunológica contra as bactérias do complexo vermelho, tendo como alvos uma grande variedade de antígenos, incluindo oligopeptídeos, proteínas, fímbrias, lipopolissacarídeos, gengipaínas ou as próprias células bacterianas^{9,12,13}. A consequente combinação desses antígenos possibilita a produção de vacinas bivalentes ou multivalentes mais eficazes, melhorando a prevenção e reduzindo chances de recidivas¹¹. Contudo, uma vacina bivalente ou multivalente para a doença periodontal ainda é considerada de difícil realização, devido à complexidade da microbiota envolvida na doença periodontal. Por outro lado, a utilização de antígenos específicos pode promover a indução de uma resposta imune mais eficiente¹⁴. Assim, reconhecendo a importância do tema, esse trabalho tem como objetivo revisar a literatura referente a estudos experimentais investigando vacinas para a doença periodontal publicados entre 2013 e 2023.

2. PROPOSIÇÃO

Esse trabalho tem como objetivo avaliar a literatura referente a estudos experimentais investigando vacinas para doença periodontal publicados no período de 2013 a 2023 (base de dados NCBI/PubMed).

3. REVISÃO DA LITERATURA

Esta revisão abordará artigos experimentais selecionados a partir da base de dados NCBI/PubMed. Os trabalhos serão apresentados em ordem cronológica e analisados quanto ao modelo experimental de doença periodontal, forma de administração e tipo de vacina, para posterior discussão.

Fan et al.¹⁵ realizaram um estudo com vacinas do tipo DNA *rgpA* (um dos genes responsáveis pela codificação da proteinase Rgp - importante fator de virulência produzido por *P. gingivalis*), com a finalidade de avaliar sua imunogenicidade e proteção em periimplantite experimental. Para o estudo, utilizaram 15 cães machos da raça beagle, os quais foram submetidos a extrações de segundos e terceiros pré-molares mandibulares bilateralmente, os quais foram substituídos por implantes. Após três meses, esses animais foram subdivididos em três grupos, A, B e C. Os grupos A e C foram imunizados com plasmídeo de DNA contendo o gene *rgpA* e apenas o vetor plasmidial vazio (sem o gene), respectivamente. As vacinas foram administradas de forma intramuscular na perna dianteira e subcutânea no abdômen (200 µg cada) e intranasal (100 µg). O grupo B foi imunizado por sua vez com 13×10^9 *P. gingivalis* mortas por calor, sendo 40% de células injetadas por via intramuscular na perna dianteira, 40% por via subcutânea no abdômen e 20% por via intranasal. As vacinas foram realizadas 3, 3,5 e 4 meses após a instalação dos implantes. Duas semanas depois da última imunização, foram inseridas ligaduras de algodão infiltradas com *P. gingivalis* na região submarginal ao redor do pescoço dos implantes, com a finalidade de induzir periimplantite (substituídas a cada 2 semanas, durante 1,5 mês). Foram realizadas avaliações clínicas em todos os grupos a fim de avaliar a profundidade e sangramento à sondagem ao redor dos implantes a cada duas semanas após a colocação dos fios. Durante o período de cada teste, também foram realizadas medições em amostras salivares e soro dos cães, a fim de analisar a imunoglobulina secretora (sIgA) e imunoglobulina G (IgG) específica para a *P. gingivalis*, respectivamente, por ensaio imunoenzimático.

Como resultados, observou-se que os grupos A e B apresentaram uma elevação dos níveis de IgG e sIgA em comparação ao grupo C. A análise de secções histológicas de tecidos e implantes revelou que a periimplantite/ perda óssea alveolar foi significativamente menor no grupo A em comparação aos grupos B e C. Dessa forma, o estudo mostra que ambas imunizações com DNA *rgpA* e bactérias mortas

são eficazes para a produção de IgG e sIgA, porém, apenas a imunização com DNA *rgpA* parece ser mais protetora em relação à reabsorção óssea neste modelo experimental.

Wang et al.¹⁶ investigaram se a vacinação com *P. gingivalis* seria capaz de prevenir a periodontite e se este efeito estaria relacionado à modulação do desequilíbrio Th17/Treg. O estudo contou com nove camundongos fêmeas C57BL/6, divididas em três grupos (infectado simulado, vacinado simulado e grupo vacinado). Os camundongos foram vacinados com bactérias fixadas por formalina ($2,5 \times 10^8$ bactérias/camundongo em um volume de 100 μ L) ou vacinados simuladamente com PBS estéril. Os animais foram vacinados semanalmente, por um período de três semanas consecutivas. Uma semana após a última vacinação os animais foram submetidos ao desafio bacteriano, recebendo 1×10^9 *P. gingivalis* oralmente, ressuspensas em 100 μ L de PBS estéril com 2% de carboximetilcelulose.

Houve um menor infiltrado de células inflamatórias nos tecidos gengivais marginais dos animais vacinados, bem como uma redução da perda de inserção dos tecidos periodontais e de reabsorção óssea. Além disso, foi reduzido o percentual de células T CD4⁺RANKL⁺ e de células Th17, havendo um aumento de células Treg. Esses dados sugerem que a imunização com *P. gingivalis* forneceria um efeito protetor contra a periodontite, o qual está associado à diminuição de células Th17 e da produção de interleucina (IL)-17A, bem como ao aumento de células Treg, juntamente com a produção aumentada de IL-10 e fator de crescimento transformador- β 1 (TGF- β 1).

Wilensky et al.¹⁷ avaliaram a eficácia da vacina com RgpA nativo e recombinante em modular a resposta imune local precoce e em atenuar a reabsorção óssea alveolar na periodontite experimental. Para o primeiro modelo, foram utilizados camundongos BALB/c fêmeas, que receberam duas câmaras de bobina de titânio subcutaneamente na região dorso-lombar (modelo de infecção). Uma semana antes e uma semana após a inoculação das câmaras, os animais foram imunizados com RgpA nativo, *P. gingivalis* mortas por calor, somente adjuvante ou solução salina (controles negativos). Duas semanas após a implantação das câmaras, os animais foram infectados através de uma injeção intra-câmara com 5×10^8 *P. gingivalis*. Para o segundo modelo, também foram utilizados camundongos BALB/c fêmeas, que foram imunizadas por via subcutânea com peptídeo RgpA recombinante ou $2,5 \times 10^8$ *P. gingivalis* mortas por calor, 3, 2 e 1 semana antes da infecção oral (5×10^{10} *P. gingivalis*

ou apenas veículo, repetido por 3 vezes com o intervalo de 2 dias). Ao final do período de experimentação todos os animais foram eutanasiados e tiveram seu soro e exsudato das câmaras analisados.

Quanto ao modelo de inflamação local, foi observado que a imunização com RgpA nativo modulou o padrão da resposta imune para uma resposta anti-inflamatória, com diminuição da produção de IL-1 β e maior produção de IL-4 nos exsudatos da câmara. Quanto ao modelo de periodontite, os autores observaram que os animais imunizados com RgpA recombinante apresentaram uma significativa redução da reabsorção óssea em comparação ao controle negativo e que o nível de proteção foi similar ao observado nos animais do grupo controle positivo (*P. gingivalis* mortas por valor). Os autores observaram, ainda, que a imunização com *P. gingivalis* resultou em maiores níveis de IgG comparado aos outros 2 grupos. Já a imunização com RgpA recombinante induziu IgG1, mas não IgG2a. Tais resultados indicam o potencial do RgpA em direcionar a resposta imunológica local para uma resposta anti-inflamatória e demonstram que a vacinação com RgpA recombinante protege contra a periodontite induzida por *P. gingivalis*.

Puth et al.¹⁸ tiveram como objetivo testar se a vacinação com Hgp44 juntamente com o adjuvante de flagelina seria eficaz na prevenção da periodontite, além de avaliar as respostas de anticorpos específicos para Hgp44 e verificar a eficácia preventiva da vacina contra a reabsorção óssea causada por infecções de *P. gingivalis*. Para o estudo, foram utilizados camundongos fêmeas BALB/c, que foram imunizados com antígenos bacterianos polipeptídicos. Os animais foram divididos em 3 grupos: imunizados com Hgp44 apenas, uma mistura de Hgp44 + flagelina ou somente PBS (controle). Foram realizados 2 estudos separadamente, um deles tendo como via de aplicação intranasal e o outro sublingual, contando com 3 aplicações, com intervalos de 2 semanas. A doença periodontal experimental foi induzida pela infecção da cavidade oral com cepas bacterianas vivas de *P. gingivalis* em 2% de carboximetilcelulose, com intervalo de dois dias a cada administração.

A administração por via intranasal de Hgp44 elevou os níveis de IgG no soro, comparado ao grupo controle enquanto a co-administração de flagelina potencializou as respostas de IgG sérica tanto para as vacinações intranasal quanto sublingual. A administração sublingual de Hgp44 isoladamente não induziu uma resposta de IgG significativa. Apesar disso, os resultados obtidos com a co-administração sugerem que a flagelina poderia ajudar a superar a baixa imunogenicidade das vacinas por via

sublingual. Na saliva, a administração de Hgp44 sozinha induziu níveis comparáveis de IgAs, por ambas as vias. A co-administração de flagelina potencializou significativamente a resposta de IgAs. Além disso, camundongos imunizados com a mistura de Hgp44 e flagelina, por ambas as vias, exibiram reduções significativas na reabsorção óssea alveolar. Esses resultados sugerem que a vacinação com Hgp44 e flagelina pode ser uma medida profilática eficaz contra doenças periodontais induzidas por *P. gingivalis*.

Huang et al.¹⁰ buscaram investigar a síntese de proteínas livres de células (CFPS) como uma plataforma para produzir alvos vacináveis adequados para testes de eficácia em um modelo murino de reabsorção óssea alveolar induzida por *P. gingivalis*. O estudo contou com 42 camundongos fêmeas BALB/c, que foram aleatoriamente separados em 5 grupos, sendo G1 o grupo controle, em que os animais não foram imunizados, nem infectados; G2, em que os animais não foram imunizados, mas sofreram o desafio oral com *P. gingivalis*; G3, que receberam a imunização de Mfa1+HA1+HA2 (combinação de fatores de virulência de *P. gingivalis*) em alúmen e o desafio oral; G4, imunização de Mfa1+HA1+HA2 combinada em lipídio monofosforil A (MPL), mais o desafio oral e G5, sendo feita a imunização de Mfa1+HA1+HA2 em meio salino (com o intuito de entender se as moléculas sozinhas fornecem proteção na ausência do adjuvante) e o desafio oral com *P. gingivalis*. As vacinas foram realizadas por via intramuscular e, de duas a quatro semanas após a primeira imunização, foram realizadas imunizações de reforço. O modelo experimental de periodontite utilizado visou proporcionar condições de colonização e proliferação de *P. gingivalis* e foi realizado duas semanas após a completa imunização. Após um esquema de 3 dias de antibioticoterapia profilática com Sulfametoxazol + Trimetoprim para supressão da microbiota endógena, os animais receberam 1×10^{10} *P. gingivalis* + 2% de carbometilcelulose em solução salina, aplicadas gentilmente sobre a gengiva, 3 vezes ao longo de 1 semana.

O soro dos animais foi coletado para avaliar se a imunização (bem como os adjuvantes) foram eficazes na produção de uma resposta antígeno-específica. Os autores verificaram, quanto à produção de IgG, que os grupos não imunizados apresentaram baixos níveis de IgG específica para Mfa1, HA1 e HA2 antes do desafio oral e que todos os animais vacinados apresentam resposta antígeno-específica para IgG. Houve uma maior produção de IgG específica para Mfa1 nos animais que tiveram MPL como adjuvante. Os autores demonstraram também que não houve diferenças

entre os grupos para a produção IgG para HA1. As vacinas com adjuvantes se mostraram mais eficazes em induzir a produção de IgG para HA2 comparado às vacinas sem adjuvantes. Além disso, todos os grupos apresentaram uma resposta aumentada para IgG quando comparados ao grupo 1. Quanto aos tipos de adjuvantes, concluiu-se que MPL foi o melhor em produzir resposta específica para Mfa1, enquanto alúmen e MPL foram similares produzindo resposta para HA2. Os animais do G2, não imunizados e que receberam o desafio oral, tiveram apenas um sutil aumento nos níveis de IgG para os 3 fatores de virulência, bem abaixo dos níveis alcançados com as imunizações. Quanto à doença periodontal, os animais do grupo 2 (não imunizados, mas infectados via oral) desenvolveram reabsorção óssea estatisticamente significativa, comparados ao grupo não imunizado e não infectado. Animais imunizados apresentaram menor reabsorção óssea, comparados ao grupo 2. Entre os adjuvantes, não houve diferenças para perda óssea, indicando uma resposta protetora similar entre os grupos. Além disso, a presença do adjuvante nas vacinas não resultou em proteção adicional, comparado ao grupo vacinado sem o adjuvante. Os resultados obtidos com esse estudo sugerem a vacinação com CFPS como uma opção para a doença periodontal e reforçam o potencial para novas abordagens a serem consideradas.

Puth et al.⁸ desenvolveram uma vacina bivalente para aplicação via transmucosa que consistiu em uma mistura de proteínas de fusão de flagelina B com fatores de virulência das bactérias *P. gingivalis* (FlaB-tFomA) e *F. nucleatum* (Hgp44-FlaB) comparando os resultados da vacina monovalente com a vacina bivalente (incluindo a proteína de fusão como antígeno). Para esse estudo, foram utilizados camundongos fêmeas BALB/c, que foram imunizados por via intranasal com 1,1 µg de tFomA (tA), 5,1 µg de FlaB-tFomA (BtA), 4 µg de Hgp44 (H), 8 µg de Hgp44-FlaB (HB), ou com uma mistura de 5,1 µg of FlaBtFomA + 8 µg of Hgp44-FlaB (BtA + HB), três vezes em intervalos de 2 semanas. Após 2 semanas da última imunização, os animais foram infectados oralmente com 1×10^9 *F. nucleatum* e 1×10^9 *P. gingivalis* em 2% de carbometilcelulose.

Para avaliar a resposta imune antígeno-específica, os autores mensuraram os títulos de IgG e IgA do soro e saliva dos animais. Duas semanas após a última imunização, soro e saliva foram coletados e as respostas específicas de anticorpos de tFomA ou Hgp44 foram analisadas por ELISA. A vacina monovalente (BtA) e bivalente (BtA + HB) induziram de forma estatisticamente significativa níveis mais

elevados de IgG sérica e IgA salivar para anti-tFomA em comparação à vacina tFomA sozinha. A vacina monovalente (HB) e bivalente (BtA + HB) induziram níveis significativamente mais altos de IgG sérica e IgA salivar de anti-Hgp44 em comparação à vacina Hgp44 isoladamente. Esses resultados indicaram que a flagelina incorporada na proteína de fusão serviu como um potente adjuvante. Os níveis de titulação de tFomA- e Hgp44 foram semelhantes, para ambas vacinas, mono e bivalentes, o que sugere que cada vacina híbrida não interfere com a resposta imune da outra. Os linfonodos cervicais dos animais também foram coletados. Todos os grupos imunizados apresentaram linfócitos B CD19⁺GL7⁺ em níveis mais elevados que os animais não imunizados. Além disso, também apresentaram um maior percentual de linfócitos T CD4⁺PD1⁺CXCR5⁺. Quanto aos tecidos gengivais, foi observado que os grupos vacinados apresentaram redução da expressão de TNF alfa, o que sugere uma modulação das reações inflamatórias. A infecção oral pelas bactérias nesse modelo causou uma significativa reabsorção óssea alveolar. As vacinas BtA e HB protegeram os animais da perda óssea alveolar. A vacina divalente BtA + HB também inibiu a reabsorção óssea alveolar em comparação à vacina monovalente. Esses resultados sugerem que a infecção mista por *F. nucleatum* e *P. gingivalis* induz severa perda óssea, mas que pode ser atenuada quando utilizada a vacina com adjuvante Flagelina, principalmente na forma bivalente.

Hashemi et al.¹⁹ realizaram um estudo com o objetivo de encontrar pequenos polipeptídeos antigênicos a partir da sequência de aminoácidos de um importante fator de virulência de *T. dentícola* (a principal proteína da bainha externa, do inglês, “Msp”), que possam promover antissoros protetores contra esta bactéria. Os antissoros contra os polipeptídeos foram criados em coelhos, através imunização por via subcutânea com 1 ml de cada polipeptídeo (150 µg, em 50 mM Tris pH 7,4) misturado com um volume igual de adjuvante completo de Freund. Injeções de reforço foram realizadas após 15 e 45 dias. Os soros foram obtidos e armazenados a -20 °C e os títulos de antissoro dos polipeptídeos foram determinados por ensaio imunoenzimático. O fragmento Msp 3 (F3), no estudo chamado de PerioVax3, foi o mais imunogênico ao induzir o maior título de antissoro em comparação aos outros fragmentos/peptídeos. Para o estudo, foi realizada cultura de *T. dentícola*, cultura de fibroblastos gengivais humanos e coleta de sangue periférico de 12 voluntários diagnosticados previamente com periodontite severa, para separação do soro. O ensaio de adesão foi realizado

para verificar se os soros imunológicos dos coelhos poderiam inibir a aderência de *T. denticola* à fibronectina plasmática humana e às células gengivais humanas (HGFs).

Os soros foram separados e foi realizado Western Blotting contra os fragmentos de polipeptídeos usando os soros dos pacientes como anticorpo primário. Anticorpos contra PerioVax3 foram detectados em todas as 12 amostras de soro dos pacientes, sendo significativamente mais alto do que os anticorpos contra os outros fragmentos. No experimento de adesão à fibronectina, foi observado que o antissoro contra PerioVax3 bloqueou significativamente a ligação de *T. denticola* à fibronectina (63% de inibição). A inibição da adesão com o tratamento com outros soros imunológicos não ultrapassou 21%, o que demonstra uma inibição três vezes maior da aderência de *T. denticola* quando o antissoro contra PerioVax3 foi utilizado. Além disso, o experimento de adesão aos fibroblastos gengivais demonstrou que o antissoro contra PerioVax3 bloqueou significativamente a ligação de *T. denticola* aos fibroblastos (30%) e teve efeitos inibitórios pelo menos 23 vezes maiores do que outros soros imunológicos. Adicionalmente, com os resultados do ensaio de desprendimento, observou-se que antissoro contra PerioVax3 protegeu os fibroblastos do desprendimento duas vezes mais do que os outros soros imunológicos quando expostos a *T. denticola*. O antissoro contra PerioVax3 protegeu 42% das células do desprendimento, enquanto os outros soros protegeram apenas 12-17% das células. Com base nestes resultados, os autores concluem que, embora os pacientes apresentassem anticorpos contra os fragmentos de Msp, esses anticorpos não foram produzidos em quantidade suficiente nos estágios iniciais da doença e a produção de anticorpos foi superada pelo crescimento bacteriano, de modo que os efeitos patogênicos de *T. denticola* não foram inibidos. Assim, promover a produção de anticorpos contra Msp com a administração de PerioVax3 poderia ser benéfico para gerar imunidade protetora em modelos animais de periodontite ou até mesmo em pesquisas clínicas futuras.

Jiang et al.²⁰ abordaram o efeito profilático da vacina produzida pelo fragmento de DNA do gene Kgp de *P. gingivalis* (pVAX1-kgp), na periodontite experimental em camundongos. Neste estudo, 30 camundongos machos C57BL/N foram utilizados, metade deles sendo imunizados com o plasmídeo recombinante (pVAX1-kgp - grupo experimental) ou com o vetor vazio (pVAX1 - controle). A imunização foi realizada por via intramuscular, na perna traseira dos animais, três vezes com um intervalo de duas semanas. O sangue foi coletado no momento da imunização, 2, 4 e 6 semanas após,

para isolamento do soro. Após a última imunização, a cavidade oral dos camundongos foi desinfetada com uma solução de Iodofórmio a 1% e instaladas ligaduras impregnadas com *P. gingivalis* nas cervicais dos segundos molares maxilares, as quais foram substituídas uma vez após uma semana.

Após o sacrifício dos animais realizou-se a tomografia micro computadorizada (micro-CT) e coloração com hematoxilina-eosina (HE) para observar a reabsorção óssea alveolar. Como resultados, observou-se que os animais do grupo “teste” (pVAX1-kgp) apresentaram uma reabsorção óssea significativamente menor que o grupo controle. Quanto à resposta imune, os autores demonstraram que antes da imunização os níveis de IgG não diferiram estatisticamente entre os três subtipos e que o grupo pVAX1-kgp apresentou níveis estatisticamente maiores de IgG pós-imunização, em comparação ao grupo controle. Além disso, o grupo pVAX1-kgp apresentou níveis reduzidos de citocinas pró-inflamatórias no tecido gengival. Esses resultados indicam que a vacina com DNA Kgp é capaz de mitigar a resposta inflamatória e a perda óssea alveolar relacionada à *P. gingivalis*, além de induzir um aumento dos níveis de IgG.

Rocha et al.²¹ observaram a viabilidade de utilização da cápsula de *P. gingivalis* (CPS) na produção de uma vacina conjugada à uma proteína transportadora proprietária (eCRM) em modelo de periodontite experimental em camundongos. Para o estudo, foram utilizados camundongos BALB/c machos, separados em 4 grupos (n=10): controle, não imunizados; apenas desafio oral com *P. gingivalis*; vacinados com Pg-CV mais o desafio oral e um último grupo vacinado apenas com CPS mais o desafio oral. A imunização foi realizada por via intramuscular e, duas semanas após a primeira imunização, foi realizada uma dose de reforço. Duas semanas após a completa imunização, os animais foram desafiados oralmente três vezes ao longo de 1 semana, com uma mistura de *P. gingivalis* preparada em solução salina livre de pirogênio com 2% de carboximetilcelulose. Após seis semanas, os animais foram eutanasiados e tiveram seus tecidos gengivais e sangue coletados, para obtenção do soro.

Os camundongos imunizados pela vacina Pg-CV desenvolveram maiores níveis séricos de IgG específica em comparação aos que receberam apenas o polissacarídeo capsular não conjugado (CPS). Como esperado, o grupo desafiado com *P. gingivalis* e não tratado apresentou uma significativa reabsorção óssea, a qual foi reduzida no grupo que recebeu a vacina conjugada Pg-CV e ligeiramente

aumentada no grupo CPS. Com isso, os autores sugerem que a vacina conjugada pode representar uma ferramenta nova e potencialmente eficaz para prevenir a perda óssea oral extensa em decorrência periodontite.

Chang et al.²² realizaram um estudo para verificar a eficácia de uma vacina mucosal direcionada contra GroEL (proteína de choque térmico - HSP) para a prevenção da reabsorção óssea induzida por *P. gingivalis*. Foram utilizados camundongos fêmeas BALB/c, imunizados via sublingual semanalmente por 3 semanas. Os animais foram imunizados com rGroEL mais CpG-ODN (adjuvante), somente rGroEL ou PBS. Uma semana após a imunização, soro e saliva foram coletados e células mononucleares foram isoladas do baço e glândulas salivares. Após a imunização, os animais receberam o desafio oral, consistindo de 1×10^9 CFUs de *P. gingivalis* em aplicações orais tópicas durante 3 semanas, totalizando 15 inoculações. Os animais foram eutanasiados 24 horas ou 1 mês após a infecção final por *P. gingivalis*.

Como resultados, os animais imunizados com rGroEL mais CpG-ODN apresentaram produção de IgG sérica e IgA salivar específicos para rGroEL 7 dias após a última imunização, persistindo por pelo menos 1 ano, enquanto animais tratados apenas com rGroEL não apresentaram títulos detectáveis. No baço, animais do grupo rGroEL mais CpG-ODN elicitaram uma resposta específica IgG contra rGroEL e resposta específica IgA nas glândulas salivares e o mesmo não foi observado nos animais imunizados apenas com rGroEL. Nos tecidos gengivais, a combinação de rGroEL e CpG-ODN resultou em redução dos níveis de TNF- α , IL-6, e HSP60. Além disso, animais desse grupo apresentaram redução da reabsorção óssea induzida por *P. gingivalis*, em comparação aos animais do grupo sem o adjuvante. Os autores também observaram que a reestimulação in vitro com rGroEL de células T CD4⁺ isoladas do baço ou de glândulas salivares induziu níveis significativos de respostas proliferativas, além de maior expressão de IFNg pelas células oriundas do baço. Por outro lado, a expressão de IL-4 foi mais baixa que o nível controle. Observou-se também uma redução de células dendríticas CD11c⁺ no baço e aumento nas glândulas, acompanhado por expressão aumentada de fatores coestimulatórios como CD40, CD80, CD86 e MHCII. Esses achados sugerem o potencial da imunização com rGroEL mais CpG-ODN em induzir a produção de anticorpos contra rGroEL, podendo representar uma efetiva opção de vacina contra *P. gingivalis*.

Nakao et al.¹¹ avaliaram a formulação de uma vacina utilizando-se de vesículas de membranas externas (OMVs), de *P. gingivalis* (Pg) e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa). Para isso, utilizaram camundongos BALB/c, imunizados com 1 µg de OMVs de Pg e/ou OMVs de Aa em diferentes doses (0,01 a 1 µg) ou, ainda, com 10 µg de Poly(I:C). As imunizações foram realizadas intranasalmente, por duas vezes, com um intervalo de 3 semanas. Seis semanas após a primeira imunização os animais receberam uma mistura de 1×10^9 Pg e 1×10^9 Aa, inoculadas oralmente, em uma suspensão de PBS. Duas semanas após a última imunização, foram coletados sangue e saliva. Baço e linfonodos cervicais foram coletados três semanas após a segunda imunização.

Como resultados, notou-se que a atividade de lipídio A de OMVs de Aa foi mais antigênica que OMVs de Pg. Através de um ensaio *in vitro* utilizando uma linhagem de macrófagos J774.1, observou-se que ambos OMVs de Aa e Pg induziram a produção de citocinas inflamatórias, sendo a resposta a OMVs de Aa aproximadamente 100 vezes mais forte e não houve atividade de sinergismo imunoestimulatório. Além disso, OMVs de Aa sem adjuvantes resultou em respostas imunes humorais robustas no sangue e na saliva. Composições de subclasses de IgG mais fortes e equilibradas foram observadas quando da co-administração de OMVs de Aa e Pg. Além disso, não houve diferenças estatisticamente significativas de células Th1 e Th2 em linfonodos e baços entre os grupos. A produção de IgG e IgA foi significativamente aumentada quando Poly(I:C) foi adicionado. A avaliação da eliminação bacteriana na cavidade oral mostrou que, após 24 horas, a imunização com OMVs de Pg e Aa reduziu significativamente o número dessas bactérias em comparação com o controle. Houve uma tendência de diminuição também com OMVs bivalentes, mas sem diferença significativa em momentos anteriores. A eficácia da vacina não foi observada após 48 horas. Com isso, os autores concluem que a vacina intranasal bivalente de OMVs pode ser eficaz na prevenção da colonização de bactérias periodontopatogênicas na cavidade oral e em distúrbios sistêmicos relacionados às doenças periodontais.

4. DISCUSSÃO

A doença periodontal é uma das mais comuns e importantes doenças da cavidade oral, acompanhada da cárie e do câncer de boca²³ e pode impactar negativamente a saúde geral dos indivíduos. Uma vacina para doença periodontal não apenas preveniria e modularia a doença, mas também melhoraria a qualidade de vida de pessoas para as quais o tratamento periodontal não pode ser facilmente obtido²⁴.

É essencial avaliar o custo-benefício das vacinas em comparação aos tratamentos tradicionais, considerando não apenas os custos iniciais de desenvolvimento e implementação, mas também os possíveis benefícios econômicos e clínicos a longo prazo. Atualmente, o tratamento padrão da doença periodontal consiste na remoção do seu principal fator etiológico, o biofilme dental^{2,4}. Em casos em que o paciente não responde bem à terapia básica, podem ser necessárias intervenções cirúrgicas que facilitem o acesso para a instrumentação, consequentemente elevando o valor final do tratamento² e expondo o paciente à possibilidade de complicações trans e pós-operatórias. A introdução de vacinas na prática clínica poderia levar, portanto, à redução dos custos relacionados ao tratamento da doença, ao passo que evitaria procedimentos mais invasivos e tratamento de recidivas frequentes.

Em seu trabalho de 2011, Malhotra et al.²⁴ elencaram algumas razões para o desenvolvimento de vacinas para a doença periodontal. Entre elas, destacam-se a presença de bactérias periodontopatogênicas no biofilme dental que são capazes de evadir as respostas imunológicas do hospedeiro e invadir os tecidos, a incidência de doenças sistêmicas relacionadas à doença periodontal e o fator financeiro, como previamente citado. Existem evidências de que o antígeno da *P. gingivalis*, a proteína de choque térmico (HSP), um antígeno presente em muitos microrganismos. HSP-60 (GroEL) esteja associado à aterosclerose e à infecção por *Chlamydia pneumoniae*. Assim, vacinas desenvolvidas contra esse antígeno, como a de Chang et al.²², poderiam não apenas prevenir periodontite, como também infecções causadas por outros microrganismos em diferentes locais do organismo.

As vacinas funcionam estimulando o sistema imunológico a produzir anticorpos e a ativar células de defesa para o combate aos periodontopatógenos. Embora isso seja verdade, é importante destacar que a proteção fornecida pela imunização é dependente da resposta imunológica dos pacientes, o que significa que uma alteração

importante da resposta imune poderia levar ao desenvolvimento da doença apesar da imunização. Assim, a imunização contra a doença periodontal forneceria proteção a longo prazo (apesar de não absoluta), atuando no sentido de evitar e/ou reverter o desequilíbrio da microbiota bucal e prevenindo, dessa forma, a inflamação destrutiva⁶. Paradoxalmente, uma resposta imune mais eficaz, induzida pela vacina, pode levar a uma maior destruição tecidual em alguns casos, devido a uma exacerbação da inflamação periodontal. Isso implica na necessidade de observação dos efeitos colaterais relacionados à vacina, o que deve ser uma parte importante da avaliação da sua eficácia e segurança.

Esta revisão de literatura teve como principal foco analisar, em artigos publicados de 2013 a 2023^{8,10,11,15-22}, a validade das pesquisas relacionadas à produção de vacinas periodontais. Ao propor vacinas para a doença periodontal, os pesquisadores tiveram como alvo fatores de virulência de importantes periodontopatógenos: *P. gingivalis*^{8,10,11,15-18,20-22}, *F. nucleatum*⁸, *T. dentícola*¹⁹ e *A. actinomycetemcomitans*¹¹. Apesar de *F. nucleatum*, *T. dentícola* e *A. actinomycetemcomitans* serem periodontopatógenos de destaque na doença periodontal, *P. gingivalis* é a bactéria mais importante e desempenha um papel considerável na patogênese da doença. *P. gingivalis* podem liberar fatores de virulência na forma de vesículas de membrana externa (OMVs). Proteínas contendo um domínio C terminal (proteínas CTD) estão abundantemente presentes nas OMVs de *P. gingivalis* e podem ser representadas por gingipaínas, Mfa5, A-LPS, HBP35, CPG70, PPAD, entre outras²⁵. As gingipaínas, por sua vez, são um grupo de proteases, incluindo Kgp e Rgps, que constituem um fator de virulência importante de *P. gingivalis*²⁶. Por conta disso, a maioria dos estudos tem como alvo principal os fatores de virulência dessa bactéria. A racionalidade de se utilizar fatores de virulência em detrimento da célula bacteriana inteira, morta ou inativada, reside em proporcionar maior segurança, ao reduzir o risco de desenvolvimento de reações adversas, além de potencializar uma resposta imunológica mais focada nos mecanismos patogênicos²⁷.

Apenas dois estudos desenvolveram vacinas bivalentes^{8,11}. No estudo de Puth et al.⁸ a vacina bivalente apresentou uma maior proteção contra a perda óssea alveolar, comparado à monovalente. Nakao et al.¹¹ por sua vez, observaram uma produção de subclasses de IgG mais fortes e equilibradas quando da coadministração de OMVs de Aa e Pg. Verificaram também que, após 24 horas, a imunização com

OMVs de Pg e Aa reduziu significativamente o número dessas bactérias na cavidade oral dos animais, em comparação com o controle não vacinado. Entretanto, não fizeram essa avaliação com vacinas monovalentes. Racionalmente, vacinas multivalentes ofereceriam maior proteção, ampliando o espectro de ação contra diferentes patógenos.

Diversas formulações de vacinas foram propostas pelos estudos, incluindo ou não a presença de adjuvantes. Adjuvantes são substâncias adicionadas às vacinas para potencializar a resposta imunológica²⁸. No estudo de Puth et al.¹⁸, a flagelina potencializou as respostas de IgG sérica tanto para as vacinações intranasal quanto sublingual (inclusive ajudou a superar a baixa imunogenicidade das vacinas por via sublingual). Puth et al.⁸ apresentaram resultados semelhantes. Entretanto, Huang et al.¹⁰, ao testarem alúmen e MPL, demonstraram que a presença dos adjuvantes nas vacinas não resultou em proteção adicional, comparado ao grupo vacinado sem o adjuvante. De uma forma geral, os diferentes adjuvantes utilizados pelos estudos aqui revisados ajudaram a melhorar a eficácia das vacinas, mas ainda não há um consenso sobre sua eficácia ou qual a melhor combinação.

A grande maioria dos trabalhos utilizou animais BALB/c e desafio bacteriano oral com *P. gingivalis*, como modelo experimental de periodontite. Entretanto, observou-se grande variabilidade quanto ao tipo de vacina, esquema vacinal (número de doses, intervalos entre as aplicações e vias de administração), tempo de indução da infecção oral e desfechos analisados. Dois trabalhos utilizaram camundongos C57BL/6^{16,20} e apenas um estudo¹⁵, utilizou cães da raça Beagle. Além disso, esse foi o único trabalho que investigou a periimplantite em detrimento da periodontite. Nesse estudo, foi demonstrado que, apesar da imunização com células bacterianas mortas por calor (*P. gingivalis*) também elicitar a resposta imune humoral, a vacina com DNA RgpA é que, de fato, consegue reduzir a perda óssea associada. Wilensky et al.¹⁷, por sua vez, ao desenvolverem uma vacina também com Rgp, obtiveram resultados similares, porém em um modelo de periodontite. Embora nesse último tenham sido utilizados camundongos BALB/c, o padrão de resposta à imunização se manteve bastante semelhante.

A perda óssea alveolar e a produção de imunoglobulinas específicas para os principais fatores de virulência associados aos periodontopatógenos foram desfechos avaliados em todos os trabalhos. Ao analisar os níveis de IgG e IgA no soro e saliva, respectivamente, os autores tinham como objetivo verificar se a vacinação

desencadearia proteção local e/ou sistêmica (confirmando proteção em ambos os níveis). Todos os estudos apresentaram dados que confirmaram que a imunização fornece proteção contra a perda óssea alveolar.

Foi demonstrado que a imunização contra os periodontopatógenos regula não apenas a imunidade humoral, mas também a imunidade celular. No estudo de Wang et al.¹⁶, a imunização com *P. gingivalis* fixadas com formalina causou uma redução de células T CD4⁺RANKL⁺ e aumento de células Treg. O efeito do tratamento foi uma redução na perda óssea alveolar, provavelmente relacionada a um desvio da resposta para um padrão mais supressor, com menor liberação de citocinas pró-inflamatórias, que seriam responsáveis, em grande parte, pela destruição tecidual. No trabalho de Figueredo et al.²⁹ os autores demonstraram que no tecido gengival inflamado, a produção de IL-17 e do fator osteoclastogênico secretado pelas células T ativadas (SOFAT) é essencial para promover a osteoclastogênese, por meio da ativação de RANKL. Além disso, sabe-se que citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 e PGE2 também estimulam a atividade dos osteoclastos, especialmente em condições como a periodontite³⁰.

Interessante observar que apenas dois estudos investigaram a influência da vacinação na colonização/prevalência dos microorganismos-alvo, sendo esta a principal função biológica das estratégias vacinais investigadas.

É necessário mencionar que, no início dos anos 2000, houve um período de grande entusiasmo com as vacinas contra a doença periodontal, com muitos estudos promissores. Entretanto, esse entusiasmo foi seguido por um desânimo devido a resultados 'modestos' e dificuldades na implementação clínica, levando a uma desaceleração na pesquisa. Além disso e, com base na variabilidade dos estudos avaliados, julgamos que as diferenças nos modelos experimentais podem afetar a generalização dos resultados e é importante considerar essas variações ao interpretar os dados e suas implicações para a prática clínica.

Atualmente, a pesquisa em vacinas para doença periodontal está praticamente estagnada e não há, no momento da redação deste trabalho, nenhum ensaio clínico registrado na plataforma clinicaltrials.gov. Acreditamos que novas pesquisas, a nível laboratorial, precisam ser desenvolvidas com o intuito de suprir as dúvidas quanto ao melhor modelo, via de administração e principalmente qual o melhor antígeno. Com trabalhos mais homogêneos os resultados poderiam se tornar ainda mais robustos e encorajar o desenvolvimento de ensaios clínicos seguros, envolvendo humanos.

É importante considerar também a natureza disbiótica da doença periodontal. A disbiose pode ser desencadeada por uma alteração na quantidade total ou na proporção relativa de espécies específicas de microorganismos (como as bactérias do complexo vermelho discutidas neste trabalho), porém a disbiose pode ser desencadeada sem alteração na quantidade ou composição da microbiota do biofilme dental, apenas por modulação da resposta do hospedeiro, relacionada, por exemplo, à doenças sistêmicas ou medicamentos. Assim, a natureza polimicrobiana e a influência dinâmica do estado da resposta imune são dificuldades adicionais para a abordagem vacinal, especialmente eficaz no manejo de condições em que há um agente microbiano (bacteriano ou viral) definido, o qual não é usualmente encontrado no hospedeiro em condições de homeostase.

Finalmente, em humanos a doença periodontal é usualmente associada à elevação dos níveis de anticorpos séricos e salivares para microorganismos do biofilme microbiano dental, os quais não estão relacionados à severidade da doença (por exemplo, maiores níveis de anticorpos em casos menos severos) e também não tem papel protetor traduzido em maior estabilidade clínica / menor recidiva pós-tratamento. Assim, em humanos a imunidade humoral não parece promover proteção efetiva ou mesmo atenuar a evolução da doença periodontal. É possível que esta ineficácia da resposta humoral esteja, ao menos em parte, relacionada à inacessibilidade da maior parte dos antígenos microbianos nas doenças periodontais, localizados no interior do biofilme dental constituído por matriz extracelular e situado espacialmente exógena ao organismo.

5. CONCLUSÃO

Com esse trabalho, concluímos que a utilização de vacinas pode prevenir e modular a doença periodontal experimental. Apesar dos desafios e atual desaceleração na pesquisa, o desenvolvimento de vacinas específicas, focando em fatores de virulência e utilizando diferentes adjuvantes tem racionalidade biológica, porém, criticamente, a eficácia deve ser validada clinicamente em humanos.

REFERÊNCIAS*

1. Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current Concepts in the Management of Periodontitis. *Int Dent J*. 2021; 71(6): 462-76.
2. Myneni SR, Brocavich K, H Wang H. Biological strategies for the prevention of periodontal disease: Probiotics and vaccines. *Periodontol 2000*. 2020; 84(1): 161-75.
3. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2014; 64(1): 57-80.
4. Das V, Vinod V, Biswas L, Kumar A, Biswas R. An update on possible alternative therapeutics for future periodontal disease management. *J Appl Microbiol*. 2023; 134(1): 1xac039.
5. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998; 25(2): 134-44.
6. Vaernewyck V, Arzi B, Sanders NN, Cox E, Devriendt B. Mucosal Vaccination Against Periodontal Disease: Current Status and Opportunities. *Front Immunol*. 2021; 12: 768397.
7. Grover V, Kapoor A, Malhotra R, Kaur G. Porphyromonas gingivalis antigenic determinants--potential targets for the vaccine development against periodontitis. *Infect Disord Drug Targets*. 2014; 14(1): 1-13.
8. Puth S, Hong SH, Na HS, Lee HH, Lee YS, Kim SY, et al. A built-in adjuvant-engineered mucosal vaccine against dysbiotic periodontal diseases. *Mucosal Immunol*. 2019; 12(2): 565-79.
9. Fan X, Li X, Ren H, Lan J, Zhang S. RgpA-Engineered/Functionalized DNA Vaccine as a Novel Prophylactic Vaccination to Prevent Porphyromonas gingivalis-Induced Periodontitis: An in Vivo Study. *Discov Med*. 2024; 36(181): 355-65.
10. Huang N, Shimomura E, Yin G, Tran C, Sato A, Steiner A, et al. Immunization with cell-free-generated vaccine protects from Porphyromonas gingivalis-induced alveolar bone loss. *J Clin Periodontol*. 2019; 46(2): 197-205.
11. Nakao R, Hirayama S, Yamaguchi T, Senpuku H, Hasegawa H, Suzuki T, et al. A bivalent outer membrane vesicle-based intranasal vaccine to prevent infection of periodontopathic bacteria. *Vaccine*. 2023; 41(30): 4369-83.
12. Zhao H, Zhang ZM, Zou XY, Ren FL, Gao S. Oligonucleotide drugs and their progress in stomatology. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2023; 58(6): 603-8.

*De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacaoatualizado.pdf>

13. Lin HH, Wu YS, Chang MT, Shyur LF, Lin YL. Plant-derived galactolipids enhance specific antibody production and induce class-switch as vaccine adjuvant. *Vaccine*. 2024; 42(4): 782-94.
14. Yadalam PK, Kalaivani V, Fageeh HI, Ibraheem W, Al-Ahmari MM, Khan SS, et al. Future Drug Targets in Periodontal Personalised Medicine-A Narrative Review. *J Pers Med*. 2022; 12(3): 371.
15. Fan X, Wang Z, Ji P, Bian Y, Lan J. *rgpA* DNA vaccine induces antibody response and prevents alveolar bone loss in experimental peri-implantitis. *J Periodontol*. 2013; 84(6): 850-6.
16. Wang L, Guan N, Jin Y, Lin X, Gao H. Subcutaneous vaccination with *Porphyromonas gingivalis* ameliorates periodontitis by modulating Th17/Treg imbalance in a murine model. *Int Immunopharmacol*. 2015; 25(1): 65-73.
17. Wilensky A, Potempa J, Hourri-Haddad Y, Shapira L. Vaccination with recombinant *RgpA* peptide protects against *Porphyromonas gingivalis*-induced bone loss. *J Periodontal Res*. 2017; 52(2): 285-91.
18. Puth S, Hong SH, Park MJ, Lee HH, Lee YS, Jeong K, et al. Mucosal immunization with a flagellin-adjuvanted *Hgp44* vaccine enhances protective immune responses in a murine *Porphyromonas gingivalis* infection model. *Hum Vaccin Immunother*. 2017; 13(12): 2794-803.
19. Hashemi S, Sepehrizadeh Z, Setayesh N, Kadkhoda Z, Faramarzi MA, Shahverdi AR, et al. *PerioVax3*, a key antigenic determinant with immunoprotective potential against periodontal pathogen. *Microb Pathog*. 2019; 135: 103661.
20. Jiang X, Li C, Fan X, Chen X, Guo M, Lan J. *Kgp* DNA Vaccine Prevents Experimental Periodontitis. *Oral Health Prev Dent*. 2021; 19: 683-8.
21. Rocha FG, Berges A, Sedra A, Ghods S, Kapoor N, Pill L, et al. A *Porphyromonas gingivalis* Capsule-Conjugate Vaccine Protects from Experimental Oral Bone Loss. *Front Oral Health*. 2021; 2: 686402.
22. Chang E, Kobayashi R, Hagiwara-Hamano M, Kurita-Ochiai T, Komiya M. Sublingual immunization with recombinant GroEL plus CpG-ODN inhibits *Porphyromonas gingivalis*-induced inflammation and alveolar bone loss. *Mol Oral Microbiol*. 2022; 37(2): 31-41.
23. Scannapieco FA, Gershovich E. The prevention of periodontal disease—An overview. *Periodontol 2000*. 2020; 84(1): 9-13.
24. Malhotra R, Kapoor A, Grover V, Tuli AK. Periodontal vaccine. *Indian J Dent Res*. 2011; 22(5): 698-705.
25. Zhang Z, Liu D, Liu S, Zhang S, Pan Y. The Role of *Porphyromonas gingivalis* Outer Membrane Vesicles in Periodontal Disease and Related Systemic Diseases. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021; 10: 585917.

26. Sato K, Naito M, Yukitakea H, Hirakawab H, Shojia M, McBridec MJ, et al. A protein secretion system linked to bacteroidete gliding motility and pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107(1): 276-81.
27. Liao L, Wang Q, Feng Y, Li G, Lai R, Jameela F et al. Advances and challenges in the development of periodontitis vaccines: A comprehensive review. *Int Immunopharmacol*. 2024; 140: 112650.
28. Pulendran B, Arunachalam PS, O'Hagan DT. Emerging concepts in the science of vaccine adjuvants. *Nat Rev Drug Discov*. 2021; 20(6): 454-475.
29. Figueredo CM, Lira-Junior R, Love RM. T and B Cells in Periodontal Disease: New Functions in A Complex Scenario. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(16): 3949.
30. Hienz SA, Paliwal S, Ivanovski S. Mechanisms of Bone Resorption in Periodontitis. *J Immunol Res*. 2015; 2015: 615486.