

The background features a large, stylized graphic composed of several overlapping circles in various shades of blue. Two thin, light blue lines intersect to form an 'X' shape, with the circles positioned at the ends of these lines. The overall aesthetic is clean and modern.

Capítulo 3

**Síntese e secreção de enzimas
lisossomais**

A participação dos mediadores químicos derivados do processo inflamatório agudo e crônico no mecanismo de formação das lesões inflamatórias periapicais

As enzimas lisossomais tais como a fosfatase alcalina, lisozima, peroxidase, catepsina e colagenase¹ são potentes enzimas proteolíticas, localizadas no citoplasma dos **neutrófilos, macrófagos e plaquetas**, presentes no tecido inflamatório periapical, que são secretadas por meio de dois mecanismos: (1) **citotóxico** (durante a lise celular); e, (2) **secretor**, durante a fagocitose.²

Metaloproteinasas

As metaloproteinasas classificam-se em: **colagenases** (MMPs-1, 8, 13, 18), **gelatinases** (MMPs-2, 9), **estromelisinases** (MMPs-3, 10, 11), **metaloproteinasas tipo membrana** (MMPs 14-17, 24, 25) (= MT1-6 MMPs), **matrilisinases** (MMP-7, 26) e **metaloelastase** (MMP-12). As gelatinases MMP 2 e 9 estão também associadas com a invasão e metástases.

Atividade biológica das metaloproteinasas

A MMP-1 fragmenta o **colágeno intersticial**; MMP-2 fragmenta o **colágeno tipo IV**; MMP-3 fragmenta **fibronectina, laminina, proteoglicano**; MMP-9 fragmenta principalmente o **colágeno tipo IV**; MMP-11: **laminina, colágeno tipo IV, proteinase**; e, a MT-MMP ativa MMP-2. Os **neutrófilos** também produzem metaloproteinasas em grande quantidade, tal como a MMP-8, resultando em **fragmentação do colágeno**.

TIMPs (Inibidores teciduais da MMPs)

São de dois tipos: 1) - **TIMP-1** é um inibidor de todas as MMPs conhecidas. É expresso em células teciduais e em células trofoblásticas. 2) – **TIMP-2**, preferencialmente inibe a MMP-2. É expresso de maneira similar a TIMP-1. É constantemente expressa durante a gravidez.

A síntese de metaloproteinases é dependente da ativação gênica por citocinas

A síntese das metaloproteinases é dependente da ativação gênica por citocinas, que se ligam em receptores de membrana; sendo essa ativação regulada por fatores tais como: a biodisponibilidade, a tradução e a transcrição gênica; pela conversão da forma latente para a ativa da enzima; e, pela inativação da atividade enzimática.⁹ Também os produtos resultantes da ativação de proto-oncogenes (c-fos e c-jun) participam do controle da ativação gênica dessas enzimas.¹¹

Mecanismo molecular da ativação gênica por citocinas e fatores de crescimento

Várias citocinas produzidas no tecido periapical inflamatório, tal como a interleucina 1 (IL-1) e o fator necrótico tumoral (TNF- α) ao se ligarem em receptores de membrana celular dos fibroblastos podem estimular à síntese e secreção de metaloproteinases reduzindo a produção de seu inibidor (TIMP) tecidual. Tais citocinas, por estimularem à produção do fator ativador do plasminogênio tecidual (tPA), ativam as metaloproteinases. (fig. 2.1)

Relação da secreção de enzimas lisossomais e a estrutura agente flogogênico.

Há uma estreita relação entre a secreção de enzimas lisossomais e a estrutura do agente flogogênico. Quando esse agente é particulado, tal como a parede celular bacteriana, a secreção enzimática é acentuada.

Há uma rápida síntese e secreção de enzimas estocadas nos neutrófilos e macrófagos, que, no período de aproximadamente 6 horas, após o início do processo inflamatório (estimulação flogogênica) já se encontram no foco inflamatório, respectivamente, nos percentuais de 60 e 30%.

Durante o processo de fagocitose da parede celular de bactérias gram negativas (fig. 4, introdução) ocorre o escape de enzimas lisossomais para o tecido periapical³ causando lesão tecidual, originando antígenos capazes de desencadear reações imunes, bem como de formar complexos imunes com anticorpos circulante; ativando o complemento; gerando um sistema contínuo de recrutamento e ativação de macrófagos, que culmina com a formação de granulomas do tipo imunológico, com alto índice de renovação celular, cuja população também depende da população celular local.⁴

Parede celular de bactérias gram negativas

Dentre os agentes flogogênicos um dos mais potentes é a parede celular de bactérias gram negativas, composta por uma camada de peptídeoglicano e por três outros componentes: lipoproteína, formada por açúcares, fornecendo rigidez à célula bacteriana; membrana externa, onde são encontradas as enzimas hidrolítica e lipopolissacarídeos (endotoxinas). Os componentes da parede celular bacteriana interagem com sialoglicoproteínas da membrana lisossomal formando agregados protéicos capazes de aumentar a pressão intralisossomal, rompendo-as.⁵ (fig. 4, Introdução)

A ligação de partículas fagocitáveis induz a liberação de enzimas lisossomais

A ligação de partículas fagocitáveis aos receptores para o C3b e FC, localizados na superfície celular dos neutrófilos e a posterior fagocitose dessas partículas, libera no tecido conjuntivo periapical circunjacente enzimas, tais como: β -glucuronidase, β -galactosidase, fosfatase ácida e

mieloperoxidase estocadas nos grânulos pequenos ou secundários dessas células, capazes de destruir os componentes protéicos colagênicos, não colagênicos e proteoglicanas componentes do tecido conjuntivo periapical,^{5,6} geram proteínas alteradas (antígenos), formando com os antígenos circulantes, complexos imunes estimuladores da produção do fator ativador do plasminogênio; que, ao ser ativado, causa a ativação das metaloperoxidasas latentes (MMPs) presentes no tecido conjuntivo periapical (gelatinase - MMP-9 - e estreptolisina 1 - MMP-3) induzindo destruição dos colágenos, tipos I, V, VII, proteoglicanas, fibronectina, laminina, tenascin e elastina.⁷ (fig. 2.1)

Durante à angiogênese ocorre ativação de metaloproteinases

Em relação ao processo da angiogênese necessário à formação do tecido granulomatoso, ocorre o aumento da expressão das metaloproteinases, presentes na matriz extracelular. (fig. 32, capítulo 4) As metaloproteinases do tipo I (MMP-1) e as metaloproteinases sintetizadas e secretadas pelos neutrófilos (MMP-8) fragmentam os colágenos tipo I, II e III,⁸ cuja atividade depende do equilíbrio entre o nível de atividade enzimática e de fatores inibidores das metaloproteinases.

Ativação das metaloproteinases

Metaloproteinases da matriz (MMPs) são sintetizadas em resposta a diversos estímulos incluindo citocinas próinflamatórias, fatores de crescimento, hormônios e estresse oxidativo.

No foco inflamatório periapical também são produzidos os fatores estimuladores de colônia (CSFs), tal como o fator estimulador de colônia macrófágico (CSF-M), que é um potente estimulador do fator ativador do plasminogênio, resultando na ativação de metaloproteinases latentes.⁹

Estudos, *in vivo*, indicam que a plasmina inicia a cascata de reações conversoras da forma latente em ativa das enzimas proteinases, confirmando a importância do ativador do plasminogênio (AP), em relação à ativação dessas enzimas. *In vitro*, foi demonstrada que a conversão da forma inativa para ativa das metaloproteinases envolve alterações conformacionais no centro catalítico dessas enzimas induzidas pela plasmina.¹⁰ (fig. 2.1)

Outros mediadores ativadores de metaloproteinases

Além dessas citocinas, o fator ativador do plasminogênio tecidual (tPA), EGF, PDGF, TNF α , TGF- β e KGF (fator ativador dos queratinócitos), que é um membro da família do fator de crescimento fibroblástico (FGF), participam do processo de ativação gênica das metaloproteinases.¹⁴ O fator ativador de plaquetas (PAF) é um produto sintetizado e secretado por macrófagos ativados, que, ao ativar os seus receptores localizados em várias células e tecidos, também, promove a secreção de enzimas lisossomais, agindo sinergicamente com outros mediadores inflamatórios, cuja produção foi induzida pelo PAF exacerbando a destruição tecidual.¹⁵

Formação de complexos antígenos-anticorpos por metaloproteinases

Com exceção dos neutrófilos, as demais células presentes no foco inflamatório periapical, não estocam metaloproteinases nem as produzem continuamente. A secreção de hidrolases ácidas por macrófagos e neutrófilos, decorrente do processo de fagocitose, induz destruição tecidual no tecido granulomatoso, geram mediadores quimiotáticos em decorrência da ativação do sistema do complemento, das cininas, da coagulação, fibrinolítico e imune, tais como C3a e C5a, fibrinopeptídeo, linfocinas, fatores de crescimento (PDGF, TNF, FGF, EGF, TGF) e produtos de fragmentação do colágeno, causando um contínuo recrutamento celular para o tecido inflamatório periapical.

As metaloproteinases ativas presentes no tecido conjuntivo causam

clivagem do componente C5 do complemento gerando potentes fatores quimiotáticos, tal como o C5a e Cb67, induzindo o acúmulo de granulócitos neutrófilos e macrófagos ao redor da área necrótica.^{5,6}

Além da contínua quimiotaxia de monócitos, que, ao nível do foco inflamatório, transformam-se em macrófagos, a destruição tecidual gera o aparecimento de áreas necróticas estimuladoras da proliferação fibroblástica.

Tais áreas são de fundamental importância na formação do tecido granulomatoso, porquanto episódios repetidos de necrose induzem a formação de tecido de granulação, gerando antígenos capazes de formar imunocomplexos Ag-Ac (antígeno-anticorpos) ativadores dos linfócitos B à produção de anticorpos, bem como de mediadores quimiotáticos potentes.

Síntese e secreção de metaloproteinases por prostaglandinas e nucleotídeos cíclicos

As prostaglandinas conjuntamente com citocinas (IL-1, TNF, IFN- α) e fatores de crescimento, produzidas pelas demais células presentes no tecido granulomatoso periapical apresentam papel central no controle da síntese e secreção de enzimas lisossomais por macrófagos.¹⁶ As prostaglandinas da série E alteram a morfologia e a função dos macrófagos, reduzindo *in vitro* a fagocitose dessas células; diminuindo a secreção de enzimas lisossomais, a produção de TNF- α e a expressão de antígenos de superfície.

Fármacos anti-inflamatórios e o metabolismo do ácido araquidônico.

Quanto ao papel dos nucleotídeos cíclicos, no mecanismo de secreção de enzimas hidrolíticas pelos macrófagos os resultados são ainda controversos. Os produtos metabólicos da ciclo-oxigenase tal como a PGE₂ (efeito estimulador mais potente) e PGI₂ (efeito estimulador menos potente) estimulam a adenilciclase e o aumento da

concentração intracelular de AMP cíclico, inibindo a secreção de enzimas lisossomais por macrófagos,^{17,18} porquanto há uma relação entre a produção de prostaglandinas, o nível de AMPc e o estado de ativação dessas células, que pode ser demonstrado pela administração de fármacos inibidores seletivos da ciclo-oxigenase. Tais medicamentos promovem a inibição da síntese de prostaglandinas, causando a diminuição do nível intracelular de AMPc e ativação dos macrófagos, identificado pelo aumento da síntese e secreção de enzimas lisossomais.

Ativação dos macrófagos por leucotrienos (LTs)

O estado de ativação dos macrófagos (fig. 3) também é obtido mediante adição na cultura dessas células de produtos resultantes da ativação da lipooxigenase (leucotrienos).

Confirmando esses estudos foi demonstrado que fármacos inibidores da seletivos ciclooxigenase produzem o aumento da concentração de LTB4 promovendo a ativação de macrófagos com síntese e secreção de enzimas lisossomais.¹⁹ Por outro lado, anti-inflamatórios esteróides e os não esteróides inibidores das enzimas ciclo e lipo-oxigenase causam inativação dessas células e inibição da síntese e secreção de enzimas lisossomais.

Os leucotrienos LC4 e LD4, (figs. 2, 6 e 7), também, na dependência dos produtos da ciclooxigenase, modulam a atividade dos linfócitos T.²⁰ Tais produtos, quando presentes, ativam as células T supressoras. Contudo, a sua inibição por indometacina²¹ e por inibidores da lipooxigenase (anti-inflamatórios esteróides) resulta na ativação das células T auxiliares.

Estímulo da síntese e secreção de enzimas lisossomais por óxido (ON) nítrico

O óxido nítrico produzido, ao nível do tecido granulomatoso periapical, em consequência da ativação da enzima óxido-nítrico-sintase (ONS),

por TNF- α , IL-1 e produtos bacterianos, aumenta a atividade antibacteriana e citotóxica dos macrófagos, porquanto, **em alta concentração**, induz o estado de ativação, estimulando a secreção de enzimas lisossomais, via ativação das enzimas ciclo e lipo-oxigenases, resultando em vasodilatação, aumento do calibre vascular, do exsudato plasmático e quimiotaxia celular.⁷ NO decresce a atividade da MMP-2 e MMP-9, aumenta a secreção de TIMP-2, e inibe a migração celular por modular a degradação da matriz extracelular. Também modula a expressão da MMP-9 induzida por IL-1 β , decrescendo-a. Entretanto, a supressão de óxido nítrico não causa qualquer alteração na expressão de MMP-9. O óxido nítrico também suprime a expressão de MMPs e de seu inibidor induzido por IL- β .

O sistema imune como indutor da síntese de enzimas lisossomais

O sistema imune estimula a secreção de enzimas lisossomais por macrófagos ativados, uma vez que tanto os linfócitos B quanto os linfócitos T podem gerar produtos biologicamente ativos (linfocinas), capazes de ativar os macrófagos à secreção dessas enzimas.²² Anticorpos da classe das imunoglobulinas (IgM e IgG) produzidos por linfócitos B, ao ligarem-se em antígenos bacterianos, formam imunocomplexos indutores dos macrófagos à secreção de enzimas hidrolíticas. Os linfócitos T auxiliares (LTh1 e LTh2) também produzem citocinas (IL-2, IFN- γ , IL-4, IL-8, IL-6, IL-10), diretamente, relacionadas às respostas imunes humoral e celular, moduladores da atividade secretora de enzimas lisossomais por macrófagos.²³ (fig. 20, capítulo 4)

METALOPROTEINASES E O PROCESSO DE REABSORÇÃO ÓSSEO

A síntese e ativação de metaloproteinases, além de promover a destruição tecidual, também, apresenta fundamental importância na fase inicial do processo de reabsorção óssea, quando os osteoblastos são estimulados à produção de enzimas capazes de degradar o material

orgânico do tecido ósseo, expondo o tecido mineralizado à reabsorção osteoclástica.²⁴ (figs. 1 e 21)

A semelhança apresentada por fibroblastos, macrófagos e neutrófilos, em relação à produção de prócolagenases, mediante estímulo por IL-1 e TNF- α via mecanismo dependente da baixa produção de PGE₂, sugere que fibroblastos, macrófagos e neutrófilos apresentem mecanismo semelhante ao dos osteoclastos em relação à produção dessas enzimas. (figs. 1, 3 e 21)

Síntese, secreção e ativação de metaloproteinases em nível ósseo

O mecanismo envolvido na síntese de metaloproteinases, deve-se a participação dos produtos de proto-oncogenes resultantes da ativação do c-fos que regulam a transcrição gênica evidenciada pelo aumento da síntese protéica e de RNA-mensageiro para a síntese dessas enzimas,²⁶ (fig. 10, introdução) enquanto que a ativação pode ser induzida pelo ativador do plasminogênio do tipo uroquinase (uPA), produzido pelos macrófagos e fibroblastos presentes no tecido inflamado. Tal mediador, por clivar a ligação arginina-falina do plasminogênio converte-o em plasmina iniciando a cascata de reações que culminam com a ativação das próenzimas metaloproteinases neutras formadoras de estreptolisina e colagenase, respectivamente, enzimas fragmentadoras de proteoglicanas e colágeno.²⁷ (figs. 2 e 2.1)

Estímulo da síntese de enzimas hidrolíticas por IL-1, TNF- α .

A síntese de IL-1 e TNF- α por macrófagos estimula mais acentuadamente os fibroblastos à produção de proteinases prostomelisin procolagenase, protease serina, bem como do ativador do plasminogênio do tipo uroquinase, conversor do plasminogênio em plasmina, ativando as metaloproteinase latentes capazes de degradar a matriz extracelular.²⁸ (fig. 2) IL-1 e TNF- α estimulam a expressão da MMP-9.

Mecanismo de ativação de metaloproteinases latentes por IL-1 e TNF- α .

O mecanismo envolvido na ativação dessas enzimas parece ser regulado pela concentração de PGE₂, (figs. 30 e 31, capítulo 4) uma vez que *in vitro* a atividade dessas enzimas é reduzida mediante adição de PGE₂. Possivelmente, esse efeito é causado pela supressão da produção de IL-1 e TNF- β . *In vivo*, é possível que esse prostanóide, por meio do aumento da concentração intracelular de AMPc, ative as metaloproteinases exacerbando a destruição óssea.²⁹

Outros mecanismos de síntese, secreção e ativação de metaloproteinases por IL-1 e TNF- α

A interleucina 1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF- α), ainda, perpetuam e amplificam a destruição tecidual, uma vez que são auto estimuladoras dos macrófagos para a produção de PGE₂, de proteinases neutras (elastase) e do TIMP (fator inibidor de metaloproteinase); bem como são citocinas ativadoras dos fibroblastos para a produção de metaloproteinases latentes capazes de degradar o colágeno dos tipos I, II, III, IV, V e VII, gelatinas, proteoglicanas, fibronectina e elastina; e ativadoras do fator ativador do plasminogênio e redutoras do TIMP.

Comprovando o efeito dessas citocinas foi verificado que a interleucina 1 (IL-1) (1ng/mL), após se ligar aos receptores de membrana dos fibroblastos, estimulava à síntese e secreção das metaloproteinases, reduzindo o inibidor (TIMP) tecidual dessas enzimas.^{30,31}

Estímulo da produção de PGE2 por IL-1 e TNF- α

Outro efeito próinflamatório da IL-1 e TNF- α é o estímulo à síntese de PGE2 por macrófagos e fibroblastos,³² estimulando a produção de

metaloproteínas via ativação da enzima ornitina descarboxilase causando geração de putrescina.²⁹ (fig. 3)

O gama interferom (IFN- γ) e a interleucina 4 (IL-4), secretadas por linfócitos ativados, ao inibirem a síntese de eicosanóides, também, inibem a produção de metaloproteínas por macrófagos.¹²⁶ Tais, citocinas, respectivamente, impedem a ativação da fosfolipase e da prostaglandina sintase, impedindo a produção de AMPc necessário à ativação da ornitina descarboxilase;²⁹ resultando na inibição de putrescina e da conseqüente ativação das metaloproteínase. (fig. 3)

Inibição das metaloproteínas por fármacos anti-inflamatórios:

Atualmente têm sido utilizados fármacos antimicrobianos, tal como o metronidazol e tetraciclina, na tentativa de inibir as metaloproteínas teciduais. O mecanismo envolvido nessa inibição pode ser causado por mecanismos dependentes e interdependentes da atividade antimicrobiana.

Dentre as enzimas inibidas por esses fármacos, destacam-se: as **colagenases, gelatinases e estromilina**.¹⁴

A IMPORTÂNCIA DA GERAÇÃO DE FATORES QUIMIOTÁTICOS NA FORMAÇÃO DAS LESÕES GRANULOMATOSAS PERIAPICAIAS

Quimiotaxia é o movimento celular em direção a um atraente químico e distante dos repelentes. Mais que 30 genes no óperom codificam receptores, moléculas sinalizadoras, transdutores, reguladores do movimento, e motores envolvidos na quimiotaxia.

Mecanismo de ação do agente quimiotático

Inicialmente, essas moléculas se difundem através de pequenos poros da membrana externa, ligam-se em receptores moleculares, iniciando uma rota de fosforilação. Reações de metilação restauram programa

genético, inibindo a sensibilidade ao quimioatraente, que pode ter a sua ação prolongada pelo aumento de sua concentração.

Tipos de quimiotaxia

Inespecífica

A molécula quimioatraente liga-se na maioria das superfícies e materiais orgânicos.

Específica

Ocorre por ligação do agente quimiotático em uma proteína ou a um carboidrato nas células hospedeiras. A maioria dos vírus liga-se especificamente em locais nas células alvo mediante um envelope protéico. Bactérias semelhantemente aos vírus também apresentam proteínas em sua estrutura capazes de reconhecer a molécula receptora nas células hospedeiras.

Quimiotaxia nas lesões granulomatosas periapicais

Granulomas são lesões caracterizadas pelo acúmulo predominante de macrófagos, fibroblastos, linfócitos e neutrófilos,³³ tendo o macrófago como o principal componente celular dos granulomas de alta renovação celular ou imunogênicos.^{127,6}

Tais células são continuamente recrutadas e ativadas, ao nível do foco inflamatório, por citoquinas quimiotáticas liberadas no tecido granulomatoso periapical, quando o agente flogógeno fagocitado não é inerte,³⁵ tal como são os componentes da parede celular de bactérias da microbiota intracanal,³⁶ de maneira que o desenvolvimento destas lesões depende, em grande parte, da contínua migração e proliferação celular, do prolongamento do ciclo vital, bem como da imobilização dos macrófagos ao nível do tecido granulomatoso periapical. (fig. 4)

Relação entre estrutura do agente flogogênico, atividade secretora dos macrófagos e quimiotaxia

Há uma relação direta entre a capacidade de o estímulo flogógeno induzir inflamação crônica granulomatosa e a atividade secretora dos macrófagos. Quando o agente flogógeno é de natureza infecciosa, os macrófagos são estimulados à síntese e secreção de enzimas lisossomais e de outros produtos biologicamente ativos,^{3,6} tais como: pirogênio, fatores estimuladores dos linfócitos (interleucina 1), fator de crescimento fibroblástico (FGF), prostaglandinas (PGs) e nucleotídeos cíclicos (AMc e GMPc).³⁹

Quimiotaxia induzida pela parede celular de Bactérias

As pesquisas têm demonstrado que a parede celular de microorganismos gram negativos anaeróbios, presentes na placa microbiana dental, (fig. 4, 4.1, 5, 6 e 9, Introdução) é um agente estimulador de macrófagos à produção de citocinas IL-1, TNF- α e fatores de crescimento (TGF, PDGF); estando, também, envolvidos no processo de estimulação da reabsorção óssea osteoclástica via osteoblastos, identificada nas lesões granulomatosas periapicais.^{1,6,36}

Mecanismo da quimiotaxia induzida por bactérias

Os componentes microbianos especialmente os lipopolissacarídeos constituintes da parede celular das bactérias gram negativas, tais como: ***streptococcus***, ***Actinobacillus actinomycetecomitans (Aa)*** e **várias espécies de *Bacterioides*, *Porphyromonas*, *Wolinella recta*, *Neisserias*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella* e *Fusobacterium nucleatum*** ativam os macrófagos e linfócitos à produção de vários produtos biologicamente ativos.^{38,39,40}

As endotoxinas liberadas pelos ***Actinomyces*** são indutoras de fenômenos patológicos, tais como: reação de Schwartzman, aumento da citotoxicidade dos macrófagos, agregação plaquetária, ativação do

complemento; e produção de IL-1 e TNF, promovendo o aumento da quimiotaxia celular e da reabsorção óssea. A IL-1 produzida pelas células presentes no tecido inflamado pode funcionar como fator de crescimento de bactérias virulentas.

Os polissacarídeos constituintes da parede celular de bactérias das espécies *Prevotella e Porphyromonas* podem estimular os fibroblastos à expressão do gene responsável pela produção de IL-8; uma potente citocina quimiotática para neutrófilos, que, também, é produzida por macrófagos e células endoteliais presentes no local da inflamação periapical. A secreção dessa citocina pode ser estimulada pela ação sinérgica da IL-1 e TNF- α mediante mecanismo independente da produção da PGE2, enquanto que o IFN- γ inibe a produção da IL-8.⁴¹

Os lipopolissacarídeos presentes na parede celular da espécie *Porphyromonas*, ao se ligarem, inicialmente, em proteínas presentes no soro, e, posteriormente, em receptores CD14 dos neutrófilos, também, estimulam a produção do ânion superóxido, que, sinergicamente, pode interagir com enzimas e proteínas catiônicas exacerbando a destruição tecidual e a geração de fatores de crescimento.⁴²

Quimiotaxia induzida via imune

O sistema imune influencia diretamente a quimiotaxia, visto que os produtos de secreção dos macrófagos ativados, tais como IL-1, TNF- α e IFN- α , quando da apresentação de antígenos, induzem em fibroblastos e células endoteliais a expressão das moléculas de aderência celular ICAM-1, aumentando a migração dessas células em direção ao tecido granulomatoso periapical.¹ (fig. 5; figs. 11 e 20, capítulo 4) Além desse efeito, o IFN- γ sintetizado e secretado por linfócitos TH1 induz o aumento da expressão de antígenos HLA-DR de imobilização dessas células na região periapical.⁴³

Os microorganismos, também, produzem leucotoxinas inibidoras da proliferação das células CD4/CD8 (células T auxiliares/células T citotóxicas), ativando as células T supressoras para a produção de IL-3

e/ou molécula semelhantes capazes de estimular as células B à produção de imunoglobulina (IgG).

A produção excessiva de IgG pode exacerbar a destruição tecidual pelo estímulo à formação de imunocomplexos; ativação do complemento; degranulação dos neutrófilos; e, aumento da produção pelos macrófagos do ânion superóxido e de metabólitos derivados do ácido araquidônico (prostaglandinas e leucotrienos).

Há uma relação direta entre a produção de imunoglobulina G (IgG) e a dose de prostaglandina E₂. Altas doses de PGE₂ causam discreto aumento da produção de IgG, enquanto que, baixas doses produzem significativo aumento de IgG.⁴⁴

Outras citocinas produzidas e liberadas nessa região por mecanismos imunes, tais como IL-6 (fibroblastos e osteoblastos) e IL-8 (células endotelial, linfócitos T e neutrófilos), são, igualmente, capazes de potencializar a ação de moléculas de aderência celular (LAF3, CD14) nos fibroblastos.

Tais moléculas são ligantes para os receptores autodirecionais presentes nos linfócitos circulantes, aumentando, por conseguinte, a quimiotaxia e a população dessas células ao nível do granuloma periapical.⁴³

É necessário, ainda, mencionarmos a interação entre os macrófagos e os linfócitos presentes nas lesões periapicais, (figs. 6 e 26) uma vez que a síntese e secreção de enzimas lisossomais pelos macrófagos ativados causa dano tecidual estimulando o aumento da concentração local de fatores quimiotáticos gerando proteínas alteradas (antígenos) capazes de ativar a resposta imune celular e humoral.⁶ Tanto os linfócitos B como os linfócitos T podem induzir e liberar linfocinas capazes de ativar os macrófagos à produção de fatores quimiotáticos.²²

Além do que, os antígenos (IgG e IgM) produzidos pelos linfócitos B ao se ligarem em antígenos bacterianos e aos antígenos decorrentes da formação de proteínas alteradas, geradas quando da destruição tecidual, formam imunocomplexos ativadores dos macrófagos à secreção de enzimas hidrolíticas destrutivas teciduais. Os linfócitos T auxiliares (LTh1 e LTh2) também produzem citocinas IL-2, IFN γ , IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10, relacionadas às respostas imunes humoral e celular

capazes de influenciarem a quimiotaxia celular para a região periapical.⁴⁴ (fig. 25, 26 e 27)

Os macrófagos possuem receptores para Fc da IgE, alérgenos específicos e anti-IgE estruturalmente e funcionalmente diferentes dos receptores tipo IgE presentes nos mastócitos e basófilos, os quais, ao serem ativados, induzem à liberação de mediadores químicos moduladores das respostas imunes humoral e celular associado ao processo inflamatório.⁴⁶ Tais células, quando ativadas, produzem IL-1 estimulando os linfócitos T auxiliares à produção da IL-2, causando a proliferação dos linfócitos T antígenos específicos (citotóxicos) e a secreção do interferon gama (IFN- γ); ativando as respostas imunes mediadas por células e dependente do anticorpo.⁴⁴ (fig. 25) Concomitantemente, a IL-1 causa a ativação das fosfolipases da membrana celular, resultando na hidrólise de glicolípídeos inositol em dois segundos mensageiros: **diacilglicerol** (ativador da fosfolipase C) e **inositol fosfato**, que induz o aumento da concentração intracelular de cálcio, ativando a proteína quinase K, iniciadora de vários processos celulares, dentre os quais o estímulo da produção do ácido araquidônico, cuja metabolização e a consequente ativação da fosfolipase A₂, induzida pelo aumento da concentração intracelular de cálcio, gera leucotrienos (LTs) e prostaglandinas (PGs).²⁶

A propósito do aumento da concentração de PGs ao nível do tecido granulomatoso induzida por várias citocinas próinflamatórias e produtos resultantes do metabolismo bacteriano,⁴⁵ foi demonstrado que a PGE₂, em alta concentração, causa decréscimo da produção de IgG, enquanto que a baixa concentração desse prostanóide induz os linfócitos B ao aumento da produção de IgG, formando imunocomplexos com os anticorpos circulantes, que exacerbam a destruição tecidual por imunocomplexos, causando ativação do complemento e degranulação dos neutrófilos, bem como estimulando a produção do radical superóxido e de outros produtos tóxicos derivados do metabolismo do oxigênio, geradores de fatores quimiotáticos.

Relação entre macrófagos e linfócitos

Comprovando a importância da relação existente entre macrófagos e as células do sistema imune, estudos realizados *in vitro* demonstram que os macrófagos, quando cultivados em presença dos linfócitos T, estimulavam a produção de IgA e IgE pelos linfócitos B,⁴⁵ pois os linfócitos T auxiliares induzem a liberação de linfocinas IL-4, IL-5, respectivamente, necessárias à proliferação e à completa diferenciação dos linfócitos B em plasmócitos e células de memória. (fig. 26)

As células B podem produzir PGE₂, que é capaz de funcionar como imunoregulador, interferindo na relação macrófago-sistema imune, porquanto ativa a enzima adenilciclase elevando o nível intracelular de AMPc inativando macrófagos, (fig. 6) inibindo a produção de IL-1 e a expressão do receptor para IL-2, resultando na inibição da proliferação dos linfócitos T e na consequente citotoxicidade mediada por células. Mediante efeito autócrino suprime a diferenciação das células B, diminuindo a produção de anticorpos.^{47,17,48,49}

Na resposta imune humoral, a alta concentração de PGE₂ reduz a produção de anticorpos, por meio de um efeito direto nos linfócitos B ou indireto nos linfócitos T auxiliares. Na resposta celular, essa concentração ativa os linfócitos T supressores, inibindo à proliferação da população linfocitária restante (linfócitos T auxiliares/citotóxicos), bem como a citotoxicidade dependente de anticorpos e células NK.⁵⁰ (fig. 27)

Macrófagos como geradores de fatores quimiotáticos

Os macrófagos quando ativados produzem enzimas lisossomais (proteases neutras, elastases e colagenases) capazes de destruir os componentes teciduais gerando proteínas alteradas (antígenos) ativadoras do fator XII (Hageman) da coagulação, das cininas, fibrinolítico e do complemento, resultando na produção de mediadores com propriedades quimiotáticas, mitogênicas e vasoativas, tais como: a trombina, PDGF, PF4, fragmentos C3a e C5a, fibrinopeptídeo B (hFpB) e bradicinina (figs. 1, 7 e 21).

A produção das citocinas IL-3 e TNF- α na região periapical, também, está diretamente relacionada à quimiotaxia celular para essa região,

pois tais citocinas estimulam a produção do fator ativador do plasminogênio tecidual (tPA), ativação das metaloproteinases latentes e aumento da destruição tecidual. Em decorrência desses efeitos, há destruição da fibrina e geração de produtos com atividade quimiotática. (fig. 24)

Outra via de ativação do Fator de Hageman é o seu contato com o colágeno da membrana basal e com enzimas, tal como: calicreína, plasmina, ou com endotoxinas provenientes do canal infectado. A ativação desse fator pode estimular a produção de fibrinopeptídeos vasoativos,⁵¹ bem como aumentar a permeabilidade vascular e a quimiotaxia de neutrófilos e macrófagos em direção à região necrótica periapical.⁵²

Durante a fagocitose dos restos necróticos pelas células que transitam por essa região, ocorre a liberação de enzimas lisossomais para o tecido conjuntivo periapical, acentuando a destruição tecidual local, gerando antígenos ativadores das células do sistema imune à produção de IL-1, TNF- α e IFN- γ , igualmente, capazes de aumentar a expressão das moléculas de adesão celular, a liberação de histamina pelos mastócitos e fragmentação da fibrina.^{53,54} (figs. 7 e 8)

Outras células como fonte de fatores quimiotáticos

Na fase inicial da formação das lesões periapicais, além dos macrófagos também podem ser observados linfócitos, neutrófilos, fibroblastos, células endoteliais, e um menor número de eosinófilos capazes de fagocitarem complexos imunes contendo IgE. Para explicar a presença dessas células, na fase inicial de formação das lesões granulomatosas periapicais, tem sido sugerido que a IL-5 secretada no tecido inflamado estimularia a migração celular particularmente dos eosinófilos, visto que induz o aumento da expressão das moléculas de adesão à célula endotelial, estimulando a migração e a quimiotaxia de monócitos e eosinófilos em direção ao foco inflamatório periapical.⁵⁵

Quimiotaxia de eosinófilos

A presença de eosinófilos em granulomas periapicais de origem dentária pode estar relacionada com o aumento da expressão, nas células endoteliais, da molécula de adesão celular ao endotélio vascular (VCAM-1), que não pode ser usada pelos neutrófilos, porque essas células não expressam o receptor VLA-4 para essa molécula.⁵⁴ Dentre as citocinas e fatores de crescimento produzidos por eosinófilos, que têm sido reportados, destacam-se: TGF- α , IL-3, GM-CSF, IL-5, IL-8, TNF- α e a proteína inflamatória macrofágica 1 α (MIP-1 α).¹²⁵ Dessas citocinas, ressalta-se a importância da MIP-1 α e do TNF- α . A MIP-1 α devido aos seus vários efeitos próinflamatórios, estimula macrófagos à secreção do TNF- α , IL-1 α , IL-8 e de outros mediadores químicos próinflamatórios com propriedades quimiotáticas.

A IL-1 α pode estimular a produção gênica de várias citocinas, a síntese protéica e a expressão de proteínas de adesão celular e de antígenos de histocompatibilidade principal; ativar os neutrófilos, macrófagos e eosinófilos à degradação (fragmentação) da matriz extracelular estimulando a proliferação de vários tipos de células, bem como a neoformação vascular.⁵⁷

Quimiotaxia de neutrófilos

Os neutrófilos, juntamente com as células endoteliais, fibroblastos, macrófagos (fig. 29, capítulo 2) e linfócitos constituem a população celular predominante da fase inicial das lesões granulomatosas periapicais de origem dental. Em grande parte a presença dos polimorfonucleares neutrófilos se deve à liberação de agentes quimiotáticos produzidos pelo organismo em resposta aos microorganismos infectantes, tais como: a anafilotoxina C5a, formada em consequência da ativação das vias clássica ou alternativa do complemento por N-formilmetionil peptídeo (fMet-Leu-Phe) e outros peptídeos tais como os produtos do metabolismo do ácido araquidônico (LTs); e, pelo fator ativador das plaquetas (PAF), que é capaz de estimular os neutrófilos à produção de enzimas lisossomais e radical superóxido.¹²⁴

Fatores quimiotáticos gerados durante a fagocitose

A ligação de partículas fagocitáveis aos receptores para o C3b e FC, bem como a posterior fagocitose dessas partículas libera para o tecido conjuntivo circunjacente enzimas, tais como a β -glucuronidase, β -galactosidase, fosfatase ácida, mieloperoxidase estocadas nos grânulos azurófilos dos neutrófilos; assim como catepsina ácida e lisozima localizadas nos grânulos pequenos ou secundários dessas células, capazes de destruir os componentes protéicos colagênicos, não colagênicos e proteoglicanas do tecido conjuntivo.⁵⁸

Transmigração celular

A transmigração celular é um processo complexo e dependente de acentuadas alterações no ambiente intravascular estando relacionada com o aumento da permeabilidade vascular, exsudação plasmática, préestase e com a emissão de pseudópodos por entre as células endoteliais presentes. (figs. 29 e 30, capítulo 2) Nesse processo, a redução do fluxo sanguíneo e a estase causada pela vasodilatação reduzem a força de atração celular existente no fluxo sanguíneo normal, estimulando à expressão das moléculas de adesão celular nos leucócitos (L-selectina); ativando os receptores do tipo integrina β_2 , aumentando à aderência dos leucócitos ao endotélio vascular.³⁴

Estímulo à expressão de receptores e moléculas de adesão celular

Citoquinas quimiotáticas quimioatraentes presentes no tecido granulomatoso periapical ativam os receptores do tipo integrina nos leucócitos, bem como ativam à expressão das moléculas de adesão celular L-selectina e CD11b/CD18 em neutrófilos, eosinófilos e monócitos. A ativação dos leucócitos, também, pode ser induzida pelo contato dessas células com as moléculas E-selectina e PECAM-1, expressas na superfície das células endoteliais. (fig. 30, capítulo 2)

Nessas células estímulos, tais como os causados por lipopolissacarídeos da parede celular dos microorganismos gram negativos e citocinas próinflamatórias IL-1 e TNF- α aumentam a expressão dos receptores ICAM-1, VCAM-1 e de seletinas E e L, enquanto que a IL-4 somente induz a expressão do VCAM-1 e L-selectina.

Outras citocinas também presentes nesse tecido, tal como o interferon gama (IFN- γ), secretados por macrófagos ativados, linfócitos e células NK elevam a expressão do ICAM-1 e L-selectina nas células endoteliais; mas não interfere na expressão do VCAM-1 ou E-selectina. Tais alterações aumentam a adesão dos leucócitos nessas células.⁵⁹

É possível que, pelo menos em parte, o aumento seletivo da expressão das moléculas de adesão nas células endoteliais, induzida por essas citocinas, possa explicar as diferenças numéricas constatadas na população celular em diferentes fases da evolução das lesões granulomatosas periapicais, uma vez que tais moléculas promovem a adesão de um tipo de célula, mas não a adesão em outras.

Contudo, sabe-se que a ação das moléculas quimiotáticas, em relação à interação de leucócito-célula endotelial, não é específica, como inicialmente se pensava, porquanto uma determinada população celular pode responder a mais de um agente quimiotático. Por exemplo, os linfócitos T de memória podem responder à MCP-1 (proteína quimiotática para monócitos) e a IL-8 (interleucina 8), que, anteriormente, acreditava-se serem quimioatraentes somente para monócitos e neutrófilos, respectivamente.

É possível que as moléculas quimiotáticas, hoje consideradas específicas, quando testadas sob outras condições experimentais, com o decorrer do tempo, e com a evolução dos métodos experimentais, mostrem-se pluripotentes. Além do que, muitos estímulos exógenos, tal como as endotoxinas bacterianas podem induzir a síntese e secreção de várias citocinas quimiotáticas estimulando a expressão de diferentes tipos de receptores do tipo integrina. Em outras palavras, tais citocinas, geralmente, induzem a expressão de receptores ligantes de mais de uma molécula de adesão celular.

Portanto, certamente, existem mecanismos adicionais de seletividade, ainda, não conhecidos.^{60,61,62}

Adesão celular ao endotélio vascular

A firme adesão dos leucócitos na parede vascular é seguida por migração dos leucócitos através das junções intercelulares endoteliais, diapedese e, finalmente, migração orientada ao longo de um gradiente químico no tecido subendotelial (quimiotaxia), cujos mecanismos moleculares estão relacionados ao aumento da expressão dos receptores da membrana celular do tipo integrinas capazes de ligar às moléculas de adesão expressas na superfície celular (ICAM-1, ELAM-1, VCAM-1); na membrana basal (lamina, colágeno, fibronectina); e na matriz extracelular (laminina, vitronectina, fibrinogênio, trombospondina e fator de Von Willebrand). (figs. 29 e 30, capítulo 2)

A ativação dos receptores do tipo integrina se dá pelo contato com a E-selectina (neutrófilos/monócitos), ou com agentes quimiotáticos, em locais de elevada concentração de cátions (Ca^{++} , Mg^{++} , Mn^{++}),^{64,65,66} resultando na diminuição da atividade de um gene localizado no braço longo do cromossoma 16, capaz de codificar uma proteína constituída por 142 aminoácidos, conhecida como **regulador da adesão celular**, que suprime a expressão dos receptores do tipo integrina e a produção de moléculas de adesão da superfície celular.^{6,63}

Mecanismos da quimiotaxia

Dos mediadores quimiotáticos sintetizados e secretados no foco inflamatório periapical, destacam-se os resultantes da ativação do sistema do complemento por complexos (Ag-Ac), endotoxinas bacterianas, polissacarídeos, globulinas e imunoglobulinas, tais como C3a e C5a, que se ligam aos receptores de membrana celular ativando a fosfolipase C, produzindo diacilglicerol e trifosfato de inositol. O diacilglicerol estimula a proteína quinase C induzindo degranulação, enquanto que o trifosfato de inositol aumenta a concentração

intracelular do cálcio, causando estímulo da quimiotaxia, ativação da fosfolipase A₂ e metabolização do ácido araquidônico; produzindo prostaglandinas (PGs) e leucotrienos (LTs),⁵¹ (fig. 9) que são potentes agentes quimiotáticos.

Expressão das moléculas de adesão celular

Dentre as moléculas de adesão dos leucócitos, uma das que tem a sua expressão aumentada nos linfócitos T ativados é a **CD44**, também, conhecida como antígeno de Hermes, H-CAM e PGP-f antígeno. É uma proteína de peso molecular variando de 85 a 180 kD, necessária à normal movimentação dessas células, que age como receptor para o ácido hialurônico da matriz extracelular. Em linfócitos também tem sido relatado o aumento da expressão da **L-seletina, CD11, VLA4 e CD18**, respectivamente, ligantes para os receptores CD34/integrina $\alpha 4\beta 7$ /GLYCAM-1, ICAM-1/ICAM-2, VCAM-1/FNMA/CAM expressos nas células endoteliais.

A **ICAM-1 (ICAM-110)**, expressa primariamente nas células endoteliais é capaz de ligar-se ao VLA-4 (receptor da integrina $\alpha 1\beta 1$); localizada na superfície celular dos linfócitos, eosinófilos e monócitos, sendo, igualmente, importante no processo da transmigração endotelial dessas células. (fig. 30, capítulo 2)

Apesar dos neutrófilos não apresentarem a integrina **VLA-4** ou **Mac-1**, eosinófilos, monócitos e linfócitos expressam essas e outras moléculas de adesão celular, tais como: **L-selectina, CD11a, CD11b, CD11c** e **CD18**, capazes de se ligarem em receptores expressos nas células endoteliais,^{67,68,69} (figs. 29 e 30, capítulo 2)

Na superfície celular dos linfócitos também são expressos outras moléculas de adesão celular, tal como as da **superfamília das imunoglobulinas** (antígenos de histocompatibilidade maior CD4, CD8 e o receptor das células T), que têm em comum a estrutura da molécula de imunoglobulina, estando relacionada ao contato célula-célula e com imunidade celular.^{70,71} (fig. 30, capítulo 2)

Expressão de carboidratos e selectinas

A expressão das moléculas da família dos carboidratos e selectinas (proteínas ligantes de açúcar) induz aderência celular aos vários componentes da matriz extracelular. (fig. 30, capítulo 2) As selectinas constituem uma família de três glicoproteínas expressas nas células endoteliais e plaquetas ativadas, estando diretamente envolvidas na interação leucócito-célula endotelial, mediante um mecanismo dependente do íon cálcio (Ca^{++}).

Duas dessas selectinas a **P-selectina (GMP-140 ou PADGEM)** e a **E-selectina (ELAM-1)** são expressas nas células endoteliais ativadas, atuando como receptores para as moléculas que apresentam a estrutura de carboidratos.

A **E-selectina** tem demonstrado a importância na aderência dos linfócitos T, basófilos e eosinófilos ao endotélio vascular, enquanto que a P-selectina é estocada nos α -grânulos das plaquetas e nos corpos de Weibel-Palade das células endoteliais, proporciona a aderência dos neutrófilos, monócitos, eosinófilos e linfócitos nas células endoteliais.^{72,73} (fig. 30, capítulo 2)

Expressão de receptores do tipo integrina

Nas células endoteliais, a expressão dos receptores do tipo integrina $\alpha 5\beta 1$ aumenta a ligação com a glicoproteína fibronectina, presente na matriz extracelular, aumentando a migração celular e a angiogênese necessária à formação do tecido granulomatoso. Os leucócitos expressam as integrinas da subfamília beta 2 ($\beta 2$), LFA-1, MAC-1, GP-150, bem como o VLA, que liga essas células nas moléculas ICAM-1, VCAM-10 e ELAM-1 expressas nas células endoteliais. (fig. 30, capítulo 2)

Nos leucócitos, ainda, tem sido relatado o aumento da expressão dos receptores do tipo integrina ligadores de células inflamatórias aos aminoácidos constituintes dos sítios de ligação localizados na fibronectina, fibrinogênio, laminina, colágeno do tipo 1, trombospondina e do fator de Von Willebrand, presentes na matriz extracelular, durante a inflamação. (fig. 28, capítulo 2)

Expressão de moléculas de adesão e de seus receptores induzida por citocinas

IL-1 e TNF

Essas citocinas aumentam a quimiotaxia para a região periapical mediante produção por fibroblastos do fator ativador do plasminogênio, ativando as metaloproteinasas latentes presentes no tecido conjuntivo, causando destruição tecidual e gerando imunocomplexos ativadores do sistema do complemento à produção de fatores quimiotáticos.^{38,31} (fig. 24)

O aumento da expressão das moléculas de adesão celular é influenciada pela produção das citocinas IL-1 e TNF- α , estimulando a expressão nas células endoteliais, principalmente, do ICAM-1, ELAM-1 e VECAM-1.

Além desse efeito, a citocina interleucina 1 (IL-1) produzida quando da apresentação dos antígenos por macrófagos, é indutora dos linfócitos T auxiliares à produção da IL-2, que, por meio do estímulo autócrino (ativa os seus receptores na célula que a sintetizou e secretou), aumentando a expressão dos receptores para essa citocina nos linfócitos T auxiliares; bem como, mediante estímulo parácrino (agindo em outras células), a IL-2 produzida por essas células, causa proliferação dos linfócitos T citotóxicos.²² (figs. 25 e 27)

Nos macrófagos a IL-1 aumenta a síntese e secreção de enzimas lisossomais, bem como a produção da prostaglandina E₂ (PGE₂) e do fator ativador do plasminogênio (uPA); enquanto que, nos fibroblastos, estimula a síntese de metaloproteinasas, reduzindo a produção do fator ativador do plasminogênio, estimulando a produção do PGE₂. Nas células endoteliais a interleucina 1 (IL-1) aumenta a expressão das moléculas de adesão celular ICAM-1 e ELAM-1.

Mecanismo da expressão das moléculas de adesão induzida por IL-1 e TNF- α

Os efeitos da IL1 e TNF- α são decorrentes da ativação dos receptores da IL-1 e de fosfolipases da membrana celular de macrófagos, resultando na hidrólise do glicolípido inositol em dois segundos mensageiros: diacilglicerol e fosfato de inositol; que, respectivamente, agem como ativadores da proteína quinase C, aumentando a concentração intracelular de cálcio. A elevação do cálcio citosólico ativa a fosfolipase A2 causando metabolização do ácido araquidônico e a produção de mediadores quimiotáticos, tal como os leucotrienos (LTs) e prostaglandinas (PGs), que são considerados mediadores quimiotáticos secundários, porquanto elevam a sensibilidade celular aos fatores quimiotáticos.^{30,31,12}

Quimiotaxia induzida pela trombina.

As citocinas interleucina 1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF- α) sintetizados e secretados dos macrófagos ativados por antígenos bacterianos provenientes da microbiota intracanal, aumentam a migração dos neutrófilos em direção à região central de necrose do tecido granulomatoso, pois são estimuladoras das células endoteliais à secreção de uma substância com propriedades prócoagulantes (α -trombina), igualmente, capaz de aumentar a contração do citoesqueleto dessas células elevando a permeabilidade vascular e a transmigração celular,⁵³ aumentando a aderência dos leucócitos polimorfonucleares a superfície da célula endotelial, induzindo a contração do citoesqueleto dessas células, aumento da permeabilidade vascular; e, transmigração celular.⁵³ (fig. 29,30, 39,40 e 41, cap. 2)

Foi demonstrado que os efeitos induzidos pela α -trombina eram dependentes de outros mecanismos, porquanto no local da injeção da α -trombina, posteriormente, a administração de IL-1, causava maior acúmulo de polimorfonucleares do que o acúmulo causado pela injeção de histamina.

IL-4

A IL-4 também é produzida pelas células do sistema imune (linfócitos auxiliares Th2), quando estimuladas por ácido tecóico e lipopolissacarídeos. Essa citocina ao ativar os receptores localizados na superfície dos monócitos/macrófagos diminui a produção das citocinas quimiotáticas PGE2, TNFs, IL-1, IL-6 e IL-8; de fatores reabsortivos ósseos: IL-1, PGE2, PTH, PTHrP e a produção de metaloproteinases.

Induz os monócitos/macrófagos à síntese e secreção do fator estimulador de colônia dos macrófagos (M-CSF), aumentando a formação de células gigantes multinucleadas com características de macrófagos; bem como decresce a proliferação das células hematopoiéticas progenitoras dos demais componentes celulares presentes no granuloma.^{29,126}

Reações imunes

Os microorganismos da microbiota intracanal são capazes de produzir leucotoxinas ativadoras das células Th1 (linfócitos T auxiliares) para a produção da interleucina 3 (IL-3) e/ou moléculas semelhantes ativadoras das células B à produção das imunoglobulinas e de anticorpos específicos. A produção excessiva de IgG (imunoglobulina G) pode exacerbar a destruição tecidual pelo estímulo à formação de imunocomplexos; ativação do complemento degranulação de neutrófilos e mastócitos; aumento da produção do radical superóxido; e da metabolização do ácido araquidônico por macrófagos.

Em decorrência desses efeitos, são geradas várias citocinas quimiotáticas; além do que, a secreção da IL-3, ao nível ósseo, aumenta a proliferação e a diferenciação das células progenitoras mielóides da população celular do granuloma.^{11,74}

As reações imunes ativadas por complexos imunes formados a partir dos produtos bacterianos; citocinas próinflamatórias liberadas no tecido granuomatoso periapical tais como IL-1, fator ativador de plaquetas (PAF), substância P (SP) e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP); fragmentos do complemento resultantes da

fagocitose de complexos imunes e a trombina estimulam à liberação das aminas vasoativas histamina e serotonina estocadas nos basófilos, plaquetas e mastócitos.^{22,6,74}

Substância P e aminas vasoativas ativam receptores NK1

A substância P/IL-1, ao ativarem os receptores NK1 (receptores para os agonistas da taquicinina), localizados nas células endoteliais; aumentam a expressão das moléculas de adesão (LFA3 e CD44), estimulando a quimiotaxia de neutrófilos e macrófagos. Além do efeito quimiotático direto da substância P (SP)/IL-1 e do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), tais citoquinas, são, igualmente, capazes de ativar os fibroblastos à secreção de PGE₂; estimular as células endoteliais e neutrófilos à produção do PAF; bem como ativar os mastócitos à degranulação de histamina, apresentando propriedades quimiotáticas e estimuladora do aumento da permeabilidade vascular, via ocupação dos receptores H₂ e H₁ (figs. 10 e 11).⁷⁵

Histamina

A histamina é biossintetizada por descarboxilação da histidina. É estocada em grande quantidade na pele ou epiderme mucosa da gastrointestinal (não em mastócitos) e nos pulmões (em mastócitos); Ligada à heparina em mastócitos; e, em basófilos no sangue. É degranulada dos mastócitos mediante estímulo por reações antígeno-anticorpos.

Receptores da histamina

A ativação dos receptores da histamina contrai os grandes vasos e dilata os capilares e as vênulas. **Receptor H₁** (contrátil) acoplado com a fosfolipase; **receptor H₂** (secreção gástrica e relaxação vascular,

acoplado ao AMPc; **receptor H3** (inibição por “feed-back”). Interage com a proteína G na membrana plasmática.

A ocupação desses receptores está relacionada com as duas conformações da histamina, que existem em equilíbrio químico. A conformação essencial para a ocupação do receptor H1 é aquela em que a cadeia lateral está completamente estendida (anti) e todos os átomos de carbono e hidrogênio são coplanares ao anel imidazólico.⁷⁶ (fig. 10).

A propósito do efeito estimulador da quimiotaxia dos neutrófilos atribuído à histamina, foi demonstrado que o bloqueio dos receptores H2 por cimetidina ou famotidina, causava o aumento da migração dessas células induzida por esse autacóide; sugerindo que a ativação dos receptores H2 reduz a migração neutrofílica. Tal efeito possivelmente é explicado com base no aumento da concentração local da histamina na concentração **gauche**, que, por deslocar o equilíbrio no sentido da conformação **anti**, objetivando a restauração do equilíbrio entre as formas tautoméricas anti e gauche da histamina, alteradas pelo bloqueio do receptor H2, causa a ativação do receptor H1, exacerbando os efeitos biológicos decorrentes da ativação desse receptor. (fig. 10)

Também há a possibilidade da histamina, ao se ligar aos sítios catiônicos (Ca^{++} , Mg^{++} e Ca^{++}) dos receptores integrinás, ativá-los estimulando a quimiotaxia. Tal efeito, possivelmente, tem explicação no fato da histamina possuir o grupo C-NH_3 ($:\text{NH}_3$) com carga negativa (-0,218) capaz de formar ligações coordenadas com íons, tal como o cálcio, magnésio e manganês, que, apresentam carga positiva.

Bradicinina

É biosintetizada a partir da précalicreína do plasma formando a calicreína mediante ativação do Fator Hagemann. Logo a seguir o cininogênio por ação da calicreína ativada por uma peptidase forma bradicinina (nonapeptídeo) e calidina (decapeptídeo), sendo que ambos são metabolizados por cinases e enzima conversora da angiotensina (ACE).

Receptores da bradicinina e calidina

Os receptores B1 medeiam a vasoconstricção, sendo sensível a metabólitos. Os receptores B2 medeiam a vasodilatação, permeabilidade vascular, contração das células musculares lisas e dor. Receptor B3 medeia a contração da traquéia em porcos. Não é antagonizado por B1 ou B2 antagonistas.

Efeito de anti-inflamatórios no aumento da permeabilidade vascular induzida pela substância P e bradicinina

O efeito bloqueador do aumento da permeabilidade vascular induzida tanto pela bradicinina quanto pela substância P (SP), proporcionada por fármacos antagonistas dos receptores NK1, que medeiam os efeitos biológicos das taquicinininas pelos nervos sensitivos terminais,⁷⁷ indicou a possibilidade da ativação desses receptores, conjuntamente com a ativação dos receptores B2, ser, parcialmente, responsável pela contração das células endoteliais⁷⁸ facilitando a quimiotaxia. (fig. 13) Como a indometacina não impede o extravasamento plasmático, foi concluído que os produtos resultantes da ativação da ciclooxigenase não participam ativamente desse processo.⁷⁹

IL-8

Enquanto a substância P (SP) é produzida pelas fibras nervosas simpáticas, a IL-8 é sintetizada e secretada pelas células endoteliais, macrófagos e neutrófilos; sendo a sua biossíntese controlada por um gene localizado no cromossoma 4, banda q12-21, que é estimulada por produtos bacterianos e outras citocinas e fatores de crescimento (GM-CSF e IL-2). (fig. 29)

Receptores para IL-8

A IL-8 liga-se em receptores membros da família da serpentina (constituída por sete receptores acoplados a proteína G transmembrana presentes nos monócitos, linfócitos T e neutrófilos). Esses receptores são em número e afinidade semelhantes aos receptores para C3a e fMLP (metionil-leucil-fenilalanina); a sua ativação estimula tais células à migração celular, exocitose dos grânulos de proteínas e a produção do radical superóxido. (fig. 29)

Mecanismo molecular de ativação dos receptores para IL-8

O mecanismo molecular de ativação desses receptores envolve a ativação da proteína G e da fosfolipase C, aumentando a produção diacilglicerol e de trifosfato inositol, resultando no aumento da concentração intracelular de cálcio, e na ativação da fosfolipase A₂, determinando o aumento da produção intracelular de cálcio e na ativação da fosfolipase A₂, resultando no aumento da produção de metabólitos derivados do ácido araquidônico (5-HETE, LTB₄, HHT) com propriedades quimiotáticas.⁸⁰

Efeitos da IL-8

A ligação da IL-8 à membrana plasmática dos neutrófilos e monócitos causa a expressão da integrina Mac-1 (α M β 2, CD11) aumenta a adesão dessas células nas células endoteliais. (fig. 11)

A expressão dessa integrina também é induzida por um ácido graxo insaturado (fator 1 modulador da integrina) liberado por ação da fosfolipase A₂, em neutrófilos ativados, parecendo ser, igualmente, específica para a expressão do LFA-1 (antígeno 1 associado a função dos leucócitos).⁸¹

IL-6

A IL-6 é produzida principalmente por fibroblastos, queratinócitos e osteoblastos estimulados por outras citocinas (IL-1, TNFs, PTHrP) também com propriedade quimiotática. (fig. 20)

Mecanismo molecular de síntese da IL-6

O mecanismo molecular envolvido na ativação do gene promotor (porção gênica na qual se liga a RNA-polimerase para a transcrição) da IL-6 está relacionado com a união (interação) dos fatores de transcrição NF-IL6 e NF kappa B (subunidade p65).⁸⁰ (fig. 30; fig. 45, capítulo 4) Tais fatores são proteínas reguladoras, que se unem em regiões específicas do DNA, ativando o promotor. O promotor da interleucina 6 (IL-6) e de outros genes de citocinas contém “motifs”.^{82,83}

Esses “motifs” são sítios de ligação das proteínas regulatórias ao DNA. A proteína regulatória deve possuir alta afinidade pelo sítio específico e baixa afinidade por outro local do DNA, sendo o sítio de ligação repetido de 2 a 9 vezes. As interações das proteínas regulatórias-DNA são mantidas por meio de pontes de hidrogênio e forças de Van der Waals.⁸³

Inibição da síntese de IL-6 por glicocorticóides

O efeito inibidor da síntese da IL-6 proporcionado pelos glicocorticóides sugere a associação física entre o receptor desses hormônios e o fator NF-k β , bem como que os “motifs” k β apresentam a estrutura dedo de zinco (uma série de “motifs” repetidos nos quais cada um está centralizado em uma coordenação tetraédrica com o zinco).⁸³ (fig. 14)

Ativação dos receptores da IL-6 e efeitos biológicos

A IL-6 ao ocupar os receptores localizados nas células alvo (neutrófilos, células B e osteoclastos) estimula a expressão das moléculas de adesão

celular possibilitando a migração celular para a região periapical. Ao nível ósseo essa citocina estimula a diferenciação dos osteoclastos, a partir das células progenitoras dos monócitos/macrófagos, aumentando a reabsorção e inibindo a formação óssea. Além do que, induz a diferenciação das células B e a proliferação dos linfócitos T.^{54,84} (fig. 15)

Fator ativador das plaquetas (PAF)

O fator ativador das plaquetas (PAF) é um outro produto (fosfolípido) de secreção dos macrófagos ativados, que por sua propriedade prócoagulante participa ativamente do processo inflamatório, seja associado ao processo de reparo, ou ao desenvolvimento dos processos granulomatosos periapicais.

Ativação dos receptores para o PAF e efeitos biológicos

Ao ativar os seus receptores, localizados em várias células, dentre as quais nos neutrófilos, promove a quimiotaxia, mediante o aumento da expressão da molécula de adesão CD18 em neutrófilos, eosinófilos, monócitos e linfócitos; a agregação celular; a secreção de enzimas lisossomais; o aumento do metabolismo do ácido araquidônico; a produção do ânion superóxido pelos polimorfonucleares neutrófilos, fagocitose, agregação dos macrófagos; e, a ativação dos eosinófilos e o aumento da permeabilidade vascular.¹⁵

Mecanismos de ativação dos receptores pelo PAF

O PAF, ao ativar seus receptores nos macrófagos alveolares, induz a enzima adenilciclase a uma resposta bifásica dependente da dose. Em alta concentração inibe essa enzima diminuindo o nível intracelular de AMPc, enquanto que, em baixa concentração, estimula a atividade enzimática aumentando o nível intracelular de AMPc. O mecanismo

envolvido indica a modulação pelos produtos do ácido araquidônico, uma vez que medicamentos anti-inflamatórios, tal como indometacina e a dexametasona podem reverter tanto a fase inibitória como estimuladora da enzima adenilciclase induzida por PAF.^{85,86} (fig. 16; fig. 8, capítulo 1)

Além desses efeitos, o PAF pode agir sinergicamente com outros mediadores próinflamatórios, cuja produção foram por ele induzida, estimulando o recrutamento e a quimiotaxia celular. Os neutrófilos, as células endoteliais, as plaquetas, e os linfócitos são, igualmente, capazes de o produzir. A ativação desses autacóides é mediada pela enzima proteína quinase C, sendo inativada pela enzima PAF-acetilhidrolase (PAH-AH).¹²¹ (fig. 16)

Fatores de crescimento

Fator transformador do crescimento alfa (TGF- α)

Fatores de crescimento, tal como o fator transformador de crescimento alfa (TGF- α) induz a quimiotaxia de praticamente todos os tipos celulares, por meio de um mecanismo direto. Indiretamente, também, pode potencializar o efeito quimiotático mediante a expressão do gene das integrinas leucocitária $\alpha 5\beta 1$ (liga a fibronectina) e $\alpha 3\beta$ (liga a laminina, colágeno e fibronectina), bem como dos receptores de superfície (VLA-4,5), que aumentam a adesividade dessas células para a fibronectina.

Fator transformador do crescimento beta (TGF- β)

O TGF- β , por estimular a produção de colagenase e de gelatinase destruindo o colágeno tipo IV, facilita a migração celular através da matriz. Além do que, aumenta a expressão de receptores para Ig (Fc-RIII, CD18) capazes de aumentar a atividade fagocitária dos macrófagos e secreção de radicais livres, bem como estimula a migração de células, que expressam em sua superfície as moléculas de adesão da

superfamília das imunoglobulinas (antígenos de biocompatibilidade principal, CD4, CD8, NCAM-1, VCAM-1 e PCAM-1).⁸⁷ (figs. 17 e 30)

Quimiocinas

Existe um grupo de citocinas que apresentam estrutura polipeptídica com peso molecular de 7 a 10 kDa são codificados por genes localizados no cromossoma humano 17, capazes de **atrair populações específicas de células**; diferentemente dos fatores quimiotáticos, tais como c5a, f-met-leu-phe bacteriano B4 e fator ativador das plaquetas (PAF), que, são inespecíficos, pois estimulam a migração simultânea de vários tipos de células.^{86,120} (fig. 28)

Tipos de quimiocinas

Quimiocinas CC

As quimiocinas CC que têm duas seqüências adjacentes NH₂-terminal cisteína, tais como a **proteína quimioatraentes dos monócitos (MCP-1, 2 e 3)**, são produzidas por macrófagos, linfócitos, células endoteliais, células musculares lisas, células epiteliais e fibroblastos; e, a **MIP-1 α (proteína inflamatória macrofágica 1 α e - β)** produzidas por macrófagos ativados, linfócitos T e B, monócitos, neutrófilos, eosinófilos, células endoteliais, células musculares lisas e fibroblastos.⁸⁹

Alfa-quimiocinas

No tecido granulomatoso periapical também estão presentes as alfa-quimiocinas, cuja estrutura possui duas cisteínas separadas por um único resíduo de aminoácidos. Essas citocinas podem ter um “motif” adicional de E-L-R no NH₂ terminal, em que a seqüência de

aminoácidos tem importância na transdução do estímulo quimiotático por neutrófilos, podendo, também, estar relacionada com o estímulo angiogênico.⁹² Essas quimiocinas têm de 20 a 50% de homologia nos aminoácidos e seus genes estão localizados no cromossoma 4. Algumas das citocinas dessa família são específicas para a quimiotaxia e ativação de neutrófilos. Portanto, desempenhando papel importante na formação da região de necrose supurativa presente nas lesões granulomatosas. Dessas, como vimos, a IL-8 é a mais estudada. (fig. 29)

Outras quimiocinas

Além dessas quimiocinas também fazem parte dessa família os oncogenes relacionados ao crescimento (GRO- α - β e - α), proteína indutora do interferon gama (IP-10), fator 4 plaquetário (PF-4) e a proteína ativadora dos neutrófilos e células endoteliais (ENA-75).

A GRO- α , β e γ , bem como a MIP-2, são produzidos por fibroblastos, monócitos e células endoteliais induzindo a quimiotaxia e a ativação específica dos neutrófilos.

A IP-10 é secretada por monócitos estimulados com interferon- γ , fibroblastos e células endoteliais. IP-10 pode ativar a migração dos monócitos e células T memória para o local da infecção participando da hipersensibilidade do tipo retardado.

O fator 4 plaquetário é secretado durante a degranulação das plaquetas induzindo a quimiotaxia dos neutrófilos e monócitos.

A ENA-78 produzida pelas células epiteliais ativadas estimulando a quimiotaxia dos neutrófilos.

A linfotactina é o único membro da família das c-quimiocinas, expressa pelos linfócitos T citotóxica (CD8+), que induz a quimiotaxia dos linfócitos.⁹²

Outros agentes quimiotáticos

Existem ainda outros agentes quimiotáticos que não podem ser estruturalmente classificados em qualquer dessas três classes de

quimiocinas. Um exemplo é a IL-16 produzida pelas células T, eosinófilos, fibroblastos e células epiteliais induzindo a quimiotaxia dos linfócitos T auxiliares (CD4+), monócitos e células epiteliais.⁹³

Síntese e secreção dos principais tipos de quimiocinas

As quimiocinas são sintetizadas e secretadas por células hematopoiéticas e não-hematopoiéticas, em resposta a vários estímulos nocivos próinflamatórios, tal como lipossacarídeos (LPS), interleucina 1 (IL-1), fator necrótico tumoral (TNF), interferons, e como os gerados pela destruição tecidual.

Ativação dos receptores das quimiocinas e efeitos biológicos

Uma vez secretadas, ligam-se em receptores específicos nas células alvo, as quais produzem efeitos bioquímicos. Os receptores para IL-8, MIP-1 α e GRO estão acoplados à proteína G, enquanto que a IP-10 e o PF-4 se ligam em receptores para o peptídeoglicano heparam sulfato.^{94,95} A ligação ao receptor confere especificidade à citoquina; contudo, como esses receptores estão presentes em vários tipos de células, causam migração celular heterogênea.⁹⁷ Tais quimiocinas são capazes de induzir quimiotaxia de macrófagos, basófilos e linfócitos.^{88,90,91}

A REGULAÇÃO DA PROLIFERAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DAS CÉLULAS HEMATOPOIÉTICAS PROGENITORAS DA POPULAÇÃO CELULAR DAS LESÕES GRANULOMATOSAS PERIAPICAIS

A hematopoiese normal é controlada pelo equilíbrio entre dois estímulos opostos que são o indutor e o inibidor da proliferação das células hematopoiéticas progenitoras (células embrionárias pluripotentes).

Células hematopoiéticas progenitoras

Tais células têm origem no saco vitelino embrionário a partir das células mesenquimais presentes nas ilhotas sangüíneas, que, durante o desenvolvimento embrionário migraram para o baço, fígado e medula óssea. Podem ser subdivididas em três compartimentos: células hematopoiéticas primitivas multipotenciais não comprometidas; células pluripotenciais comprometidas com a linhagem mielóide; e células primitivas comprometidas com a linhagem linfóide.

A população de células embrionárias (CFU-S ou células esplênicas S) somente existe transitoriamente durante o curso normal do desenvolvimento; podem originar células maduras representativas de todas as linhagens de células mielóides, também, são capazes de autorenovação.⁷⁴

As células progenitoras hematopoiéticas (CFU-GMM) são capazes de proliferar e de se diferenciar. Contudo, em alguns casos, sob condições ideais, *in vitro*, apresentam a capacidade de autorenovação, a partir das células residuais do “pool” de células pluripotentes. Cada evento sucessivo de diferenciação ocorre como consequência da resposta celular para as influências do ambiente, tal como a localização relativa ou a proximidade e interação com outras células.

Modulação da hematopoiese por macrófagos e células estromais

A hematopoiese ocorre no microambiente da medula óssea, onde os macrófagos e as células “estromais” não hematopoiéticas (fibroblastos, linfócitos T, células endoteliais e musculares lisas da parede vascular) regulam a hematopoiese, pois são responsáveis pela produção de citocinas promotoras e inibidoras do crescimento, bem como pela produção e deposição dos componentes extracelulares.

Nesse processo, ressalta-se a importância dos macrófagos em estimular outras células à produção de fatores estimuladores do crescimento linfocitário de células primitivas mielóides.

Também há resposta das unidades formadoras de colônia dos eritrócitos (BFU-E) a um fator estimulador e potencializador da

sobrevida denominado de BPA (atividade promotora do surto), sintetizado pelos linfócitos T, monócitos, células do estroma medular e células endoteliais; que, na realidade, pode ser a própria interleucina 3.^{96,74}

Diferenciação celular

As células hematopoiéticas progenitoras de uma determinada linhagem e estágio específico de diferenciação se ligam aos componentes da matriz extracelular mediante a expressão das moléculas de adesão celular.¹⁰⁰ Tal evento, conjuntamente, com as proteínas seqüestradas na matriz, ou produzidas pelas células estromais, determinam o surgimento de uma área de localização das células progenitoras mielóides em que a interação dessas citocinas e a adesão aos componentes da matriz⁷¹ causa ativação de receptores, que determinam um estado estacionário possibilitando a auto-renovação ou a diferenciação celular.⁹⁹ (fig. 19)

Sinalização intercelular de controle da expressão gênica durante o desenvolvimento

Sabe-se que a sinalização intercelular em muitos sistemas em desenvolvimento é mediada por polipeptídeos reguladores denominados de fatores de crescimento e de diferenciação, identificados por seus efeitos biológicos no tecido adulto ou em estágios patológicos. Muitos desses fatores são gerados no estágio embriônico (rudimentar) do desenvolvimento, apresentando atividade durante o desenvolvimento embriogênico, podendo, também, realizar uma função específica (um efeito biológico) em várias situações, ou apresentar diversas funções (vários efeitos biológicos), na dependência do contexto celular em que atua. Em outras, palavras tais fatores controlam a rota desenvolvimental e a expressão gênica⁷⁴

O ciclo celular

O ciclo celular consiste de quatro fases distintas: **G1** (pósmitótica), **S** (síntese), **G2** (prémitótica) e **M** (mitose). A fase M é composta por dois processos distintos. **Mitose** em que os cromossomos são divididos entre as duas células filhas, e **citocinese**, em que o citoplasma celular se divide formando células distintas. A ativação de cada fase é dependente da progressão e complementação da fase anterior. As células que, temporariamente ou reversivelmente, pararam a sua divisão celular são ditas ter entrado em um estado de quiescência denominado de fase **G0**. (fig. 7, capítulo 4)

Potencial proliferativo celular

As células progenitoras geralmente são limitadas em seu potencial de desenvolvimento, pois podem se diferenciar em uma ou, no máximo, em duas linhagens hematopoiéticas, perdendo o potencial proliferativo à medida que amadurecem. Tais células ao atingirem o estado de completa diferenciação, tal como as plaquetas não retêm a informação genética (DNA), pois, são células do organismo que carecem de núcleo. Já nos neutrófilos, o DNA é retido em uma forma condensada, estando, igualmente, inaptos a sofrer replicação. Portanto, apresentam pouco ou nenhum potencial proliferativo. Em contraposição, existem células hematopoiéticas que podem migrar da medula óssea sofrendo proliferação e diferenciação em locais específicos do organismo (p. e. células pré-T no timo). Semelhantemente, os mastócitos e os monócitos podem sofrer proliferação e diferenciação nos tecidos.¹⁰¹

Hematopoiese e a formação das lesões inflamatórias periapicais

A hematopoiese tem relação com a formação do tecido granulomatoso, porquanto é por meio da proliferação e diferenciação das colônias de células hematopoiéticas progenitoras que ocorre a formação de componentes da população celular do granuloma (linfócitos, plasmócitos, neutrófilos, eosinófilos e monócitos/macrófagos). Na formação dessas lesões, destacam-se os fatores estimuladores de

colônia (CFS) e os fatores de diferenciação (DIFs), uma vez que, respectivamente, agem nas células embrionárias pluripotentes hematopoiéticas inibindo a diferenciação, bem como o estimulando a proliferação e a posterior diferenciação das colônias de células progenitoras da população celular do granuloma. Na ausência desses fatores a morte das células progenitoras sobrevém entre 8 e 48 horas.¹⁰²

Fatores estimuladores de colônias

Dos vários fatores estimuladores de colônia, que, atualmente, têm sido clonados e purificados, em relação à formação do granuloma merecem destaque: citocinas (IL-1, IL-3, IL-5, IL-8, TNF- α , IL-8), fator estimulador de colônia macrófágico-granulocítico (GM-CSF), fator estimulador de colônia macrófágico (M-CSF), fator estimulador granulocítico (G-CSF), e eritropoetina. (fig. 20)

Estímulo proliferativo proporcionado pelos fatores estimuladores de colônias

O estímulo proliferativo das células proliferativas hematopoiéticas embrionárias proporcionado por esses fatores é semelhante ao dos fatores de competência e de progressão envolvidos na proliferação dos fibroblastos.

Fatores de competência e de progressão do ciclo celular

Alguns desses fatores, tal como a IL-6, G-CSF e a IL-1 atuam como fatores de competência, pois introduzem as células estacionárias Go na fase G1 (pósmitótica), enquanto que a IL-3 e GM-CSF atuam como fatores de progressão dessas células necessários à sua entrada na fase S de síntese do ciclo celular.¹⁰¹

Fatores estimuladores da proliferação celular

Os vários fatores estimuladores de colônias (CSFs) podem agir diretamente estimulando a proliferação das células pluripotentes tais como: a IL-1, 3, 4, 6, GM-CSF; ou então, como a IL-3, 4, 5, GM-CSF, M-CSF e eritropoietina, induzindo a produção das unidades formadoras de colônia (GM-CSF, Eos-CSF, BFU-E, Bas-CFC, Meg-CFC, CFU-e).¹⁰¹ Já, o GM-CSF, o M-CSF e o G-CSF agem estimulando a proliferação de colônias específicas de células (macrófagos/monócitos, neutrófilos e eosinófilos); a produção de outros fatores estimuladores de colônia (CSFs), de citocinas próinflamatórias (PGE2, IL-1, TNF- α), de fatores quimiotáticos para neutrófilos e macrófagos (GM-CSF, G-CSF); a transmigração de neutrófilos (GM-CSF); aumentando a proliferação e quimiotaxia das células endoteliais (G-CSF, GM-CSF); estimulando a proliferação da população linfocitária por IL-3, 4, 5 e 8; a proliferação de células epiteliais, fibroblastos e células endoteliais por TGF- α ; o aumento da proliferação e da produção de produtos da ciclooxigenase por eosinófilos e neutrófilos (G-CSF e GM-CSF); e a produção de produtos derivados do oxigênio (G-CSF, M-CSF, GM-CSF). (fig. 18) *In vitro* tem sido demonstrado que fatores de crescimento, tal como GM-CSF e o G-CSF também induzem a diferenciação de certas linhagens de células leucêmicas prómielóticas humanas. A IL-3 apresenta efeito dependente da concentração. Em baixa concentração, conjuntamente com o GM-CSF, M-CSF, G-CSF e eritropoietina induzem as células hematopoiéticas progenitoras pluripotentes ao desenvolvimento pósmitótico maduro. Em alta concentração a IL-3 induz a auto-renovação dessas células.¹²² Além desses efeitos, também, agem nas células da leucemia monocítica M1 induzindo a diferenciação,¹⁰³ bem como nos adipócitos causando a supressão da lipase lipoprotéica.¹⁰⁴ Também foi identificado um fator estimulador de colônias (IL-5), produzido pelos linfócitos ativados, que estimula a proliferação e diferenciação da unidade de colônia de eosinófilos (CFU-Eos).⁷⁴

DIA/LIF (Atividade inibidora da diferenciação/fator inibidor da leucemia)

O DIA/LIF são polipeptídeos de peso molecular variando entre 20 e 70 kD, formador a partir da glicosilação de uma cadeia polipeptídica de 19 x 10³ M que ao se ligar em cerca de 300 a 1500 receptores/células causa efeitos biológicos, tais como a inibição da diferenciação das células tronco embrionárias, possibilitando a sua proliferação, e posterior diferenciação em neutrófilos, macrófagos/monócitos, eosinófilos, plaquetas, mastócitos, basófilos e células B, células T, bem como estimulando a produção dos fatores de crescimento (IL-3, GM-CSF, M-CSF, G-CSF). (fig. 19)

Expressão do DIA/LIF

A expressão do DIA/LIF tem o desenvolvimento programado e controlado por outros fatores de crescimento, dos quais os mais importantes são dos FGFs produzido pelas próprias células progenitoras hematopoiéticas.

Efeitos biológicos

Ao nível do tecido ósseo, o DIA/LIF age induzindo diretamente a atividade reabsortiva óssea dos osteoclastos; diminuindo a atividade da enzima fosfatase alcalina; causando hidrólise de substratos contendo cálcio; reduzindo a mineralização; diminuindo o nível de RNAm (mensageiro) necessário à produção de proteínas colagênicas pelas células osteoblásticas; aumentando o nível de RNAm da osteopontina pelas células osteoblásticas; aumentando a aderência dos osteoblastos e osteoclastos na matriz óssea; e, potencializando o efeito do ácido retinóico na atividade da fosfatase alcalina, ou seja, promovendo a calcificação.¹⁰⁵ Participa também do controle do desenvolvimento da população celular do granuloma.

Formas funcionais do DIA/LIF

In vitro, a diferenciação celular e a pluripotencialidade das células progenitoras mielóides é controlada por um único fator regulador denominado DIA/LIF ou atividade indutora da diferenciação/fator inibidor da leucemia, que são expressos em duas formas funcionais distintas, uma das quais difusível, podendo afetar o comportamento das células localizadas distante das células que as produziram; estando a outra classe presente na matriz extracelular, cujo sinal está sujeito ao controle molecular específico, de maneira que somente as células em contato com essas células poderão ser estimuladas por esse fator.⁹⁸ (fig. 19) Tal fator pode regular a diferenciação do ectoderma embrionário no decorrer da normal embriogênese, pois controla a decisão desenvolvimental, mediante a sua ligação em receptores de superfície celular.¹²³

Moléculas inibidoras da proliferação das hematopoiéticas progenitoras

Várias outras moléculas difusíveis são produzidas e secretadas, ao nível do tecido granulomatoso periapical, tais como o **fator beta transformante do crescimento (TGF- β)**, **calonas** (AcSDKP e outros pequenos peptídeos), **interferon gama (IFN- γ)**, **fator necrótico tumoral alfa (TNF- α)** e **quimiocinas** são consideradas inibidoras da proliferação das células hematopoiéticas progenitoras.

TGF- β (Fator beta transformador do crescimento)

Em relação ao tecido granulomatoso, ressalta a importância do fator beta transformante do crescimento (TGF- β), que é um mediador produzido em 5 isoformas, das quais o TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 estão presentes na espécie humana.

Efeitos do TGF- β

Os efeitos do TGF- β 1 na proliferação celular é variado, visto que inibe a proliferação das células endoteliais e epiteliais; não obstante, nas células de origem mesenquimal apresentar efeitos tanto estimuladores quanto inibitórios.

Efeito do TGF- β 1 em fibroblastos, osteoblastos e células musculares lisas

Nessas células, o TGF- β 1 apresenta efeito bifásico dependente da concentração. Em baixa concentração causa estímulo, enquanto que em alta concentração inibe a atividade proliferativa dessas células.¹⁰⁶

Efeito do TGF- β 1 em células hematopoiéticas

Em relação às células hematopoiéticas, esse fator inibe a proliferação das unidades formadoras de colônia (CFU-S) estimuladas por IL-3. Também, age inibindo às células formadoras de colônias de macrófagos e granulócitos ativadas por IL-3 e M-CSF. Semelhantemente, a adição de TGF- β , em culturas de células contendo unidades formadoras de colônias dos eritrócitos (CFU-E), causa a inibição dessas células. Em outras situações experimentais, o TGF- β pode ativar o fator de crescimento macrofágico-granulocítico (GM-CSF),⁹⁸ estimulando a proliferação de monócitos e granulócitos (neutrófilos e eosinófilos).

Mecanismo de proliferação e inibição celular induzido pelo TGF- β

O efeito proliferativo do TGF- β 1 é mediado, via estímulo autócrino, pela produção do fator derivado das plaquetas (PDGF), enquanto que o mecanismo envolvido na inibição da proliferação celular pode estar relacionado com o bloqueio do ciclo celular no estágio final da fase G1 (pósmitótica), impedindo a entrada das células na fase de síntese (S),³⁵⁴ visto que inibe a expressão das ciclinas E (G1) e A (S)¹⁰⁹ bem

como das quinases dependentes das ciclinas (cdk4),¹⁰⁷ impedindo a formação de complexos quinase-ciclina (ciclina E-cdk2), a fosforilação e a expressão de genes envolvidos no controle da proliferação celular, tal como c-myc.²⁶ (fig. 7, capítulo 4)

Outro mecanismo possivelmente envolvido na inibição da proliferação celular pode ser o aumento da produção de prostaglandinas E₂ (PGE₂) induzida pelo TGF-β. A propósito desse mecanismo foi demonstrado que o bloqueio da síntese de prostaglandina E₂ (PGE₂) restaura a resposta proliferativa celular causada pela baixa concentração de TGF-β.¹⁰¹

Efeito dos anti-inflamatórios não esteróides na proliferação celular

Estudando os NSAIDs (drogas anti-inflamórias não-esteróides) na densidade das fibras colágenas presentes no tecido granulomatoso,³⁷ constatamos no período experimental de 21 dias, o aumento e aos 28 dias, a diminuição da densidade de volume ocupada por essas fibras nesse tecido.

Tais resultados, considerando o efeito inibidor da proliferação de fibroblastos e de macrófagos, induzida PGE₂ e por uma baixa concentração de TGF-β; o efeito inibidor da proliferação das células endoteliais proporcionado pelo TGF-β; bem como a relação existente entre a inibição da proliferação celular e o aumento da síntese e secreção da PGE induzido por esse fator de crescimento, sugerem o estímulo da proliferação de fibroblastos aos 21 dias, uma vez que nesse período experimental a densidade de volume ocupada pelos monócitos/macrófagos diminuiu.³⁵

Esse resultado indicou que a baixa concentração de TGF-β poderia inibir a proliferação das células hematopoiéticas progenitoras dos monócitos/macrófagos e das células endoteliais, bem como estimular a atividade proliferativa dos fibroblastos, enquanto que as prostaglandinas, ainda presentes no tecido granulomatoso, inibiriam a proliferação das células endoteliais e de monócitos/macrófagos. Por outro lado, a diminuição da densidade de volume ocupada pelas fibras colágenas aos 28 dias³⁵ pode ter sido decorrente do bloqueio da

síntese de PGE₂, e aumento da concentração do TGF- β , ao nível do tecido granulomatoso, que, não bloqueado pelos NSAIDs, inibiria a proliferação das células produtoras de colágeno, tais como: fibroblastos, células endoteliais, células musculares lisas, macrófagos e células hematopoiéticas progenitoras dos principais componentes celulares do granuloma.

Calonas

As calonas são macromoléculas intracelulares que paralisam as células em algum ponto do ciclo celular (fig. 7, capítulo 4) impedindo a complementação das mitoses. Esses fatores inibidores da proliferação celular são específicos para os tecidos, mas não para as espécies animal, ou seja, as calonas de uma espécie atuam também em outras, mas sempre dentro do mesmo sistema celular. As calonas se acumulam no interior das células e inibem a proliferação celular, quando atingem o nível crítico.

Calonas diminuem na necrose tecidual

Na necrose tecidual, a concentração intracelular de calonas diminui, desaparecendo o bloqueio natural das células, o que faz ressurgir a atividade proliferativa.⁶ Possivelmente, esse efeito explique o porquê de que episódios repetidos de necrose estimulam, em lesões inflamatórias crônicas periapicais, a formação de tecido de granulação que evolui formando extensas áreas de fibrose.⁶

Quimiocinas inibem proliferação celular

A primeira quimocina identificada como inibidor das unidades formadoras de colônia (CFU-A) murino foi, inicialmente, denominada de “inibidor” das células totipotentes, e, posteriormente, de proteína inflamatória macrófagica 1 α (MIP-1 α), uma vez que extratos obtidos da

cultura de macrófagos inibem a progressão das unidades formadoras de colônia da fase Go para a fase G1 do ciclo celular.¹¹⁰ (fig. 7, capítulo 4) Entretanto, é necessário ressaltar que essa quimiocina estimula a formação de macrófagos, quando adicionada, *in vitro*, às unidades formadoras de colônia de macrófagos e granulócitos.⁹⁸

Além dessa quimiocina, a MIP-2 α , a interleucina 8 (IL-8), a proteína indutora do interferon (IP-10), o fator ativador e quimiotático dos macrófagos, beta-tromboglobulina (β -TB) e o fator quatro plaquetário (PF4) podem inibir a unidade formadora de granulócitos, eritrócitos, macrófagos e megacariócitos (CFU-GEMM); unidade formadora de colônias de macrófagos e granulócitos, mas não, as unidades de colônias mais maduras da linhagem eritróide, granulocítica e de megacariócitos.¹¹⁰

As quimiocinas, também, podem agir indiretamente mediante o aumento da expressão de receptores do tipo integrina $\alpha 4\beta 1$ e $\alpha 5\beta 1$, que se unem a molécula da fibronectina presente na matriz extracelular, respectivamente, nas regiões dos aminoácidos CSF (citosina, serina, fenilalanina) e RDG (arginina, glicina e asparagina) da fibronectina, (fig. 33, capítulo 2) resultando, concomitantemente, em um estímulo que inibe a proliferação das células progenitoras hematopoiéticas.^{112,113}

A PARTICIPAÇÃO DA MATRIZ EXTRACELULAR NA FORMAÇÃO DO TECIDO GRANULOMATOSO PERIAPICAL

Evolução das lesões granulomatosas periapicais

Nas lesões granulomatosas periapicais experimentais de origem dental, a região de necrose, aos 14 dias, localiza-se ao redor do forame apical, sendo, microscopicamente, caracterizada pela presença de uma área de necrose supurativa, constituída por células necróticas, apresentando de permeio material granular eosinófilo com aspecto fibrinóide. A reabsorção óssea observada, até esse período experimental, geralmente, é de pequena extensão. Com a evolução da lesão, em torno da quarta semana, tanto a área de necrose quanto a

região de reabsorção óssea aumentam sensivelmente de tamanho. Contudo, na sexta semana já pode ser constatada a acentuada redução da área necrótica, que é, parcialmente, substituída por tecido granulomatoso.¹¹³ A redução dessa área, também, foi observada nas lesões dérmicas induzidas com placa microbiana dental.³⁵ Entretanto, nessas lesões, nos primeiros 14 dias, comparativamente, as lesões periapicais, a área ocupada pela região necrótica se apresentou maior.¹¹³ Possivelmente, a diferença observada possa ser explicada com base na maior concentração do agente flogogênico (placa microbiana dental) inoculados, diretamente, no tecido subcutâneo de ratos,³⁵ comparativamente, aos decorrentes da exposição pulpar, que, gradativamente, acumulam-se na região periapical.¹¹³

Material eosinofílico granular fibrinóide

Microscopicamente, de permeio a região necrótica e no interior do tecido granulomatoso, observa-se a acentuada presença de material eosinófilo granular fibrinóide, que deve ser interpretada como decorrente das alterações no endotélio vascular possibilitando a passagem de macromoléculas (proteínas albumina, fibrina, fibronectina e vitronectina)⁶ para a região periapical.

A presença desse material, conjuntamente com as fibras elásticas, que conferem elasticidade; com as glicoproteínas fibronectina, laminina e tenascin, que dão suporte para a migração celular; com o ácido hialurônico, que por atrair água para a matriz extracelular, a torna mais frouxa aumentando a mobilidade celular; e, com proteoglicanas e glicoaminoglicanas, que atuam como peneiras restringindo a passagem de macromoléculas, somente permitindo a livre difusão de pequenas moléculas para o espaço extra vascular, formam a matriz extracelular necessária à proliferação, migração e diferenciação celular, bem como à síntese de colágeno.⁸³

Controle e fragmentação da matriz extracelular

O controle da formação e da fragmentação dessa matriz está diretamente relacionado com os produtos de síntese e secreção celular dos macrófagos, tais como PDGF, TNF- α , IL-1 secretados, quando da fagocitose de restos necróticos dos vasos trombóticos e em processo de degeneração; com a IGF-1, FGF, TGF- β , proteoglicanas, elastina e colágenos produzidos por linfócitos ativados em reações de natureza imune; e com a produção do TGF- β , TNF- α e proteína macrofágica inflamatória (MIP-1 α) liberadas pelos eosinófilos, quando da ativação das reações de hipersensibilidade do tipo imediato por IgE. Outras citocinas, tal como o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)/fator de permeabilidade vascular, secretadas no tecido granulomatoso pelas células endoteliais, fibroblastos e células musculares lisas da parede vascular, induzem o aumento da permeabilidade vascular, a ativação do fator tecidual (TF) e da via extrínseca da coagulação, resultando na geração de trombina ativa, que converte o fibrinogênio solúvel extravasado em fibrina insolúvel, modificando a composição da matriz extracelular.

Participação das proteínas plasmáticas extravasadas na organização da matriz extracelular

As proteínas plasmáticas extravasadas em decorrência do aumento da permeabilidade vascular têm acentuada importância no controle da organização da matriz extracelular, pois, o sistema da coagulação a partir dos fatores extravasados forma fibrina. Durante a sua formação, em consequência da formação do fibrinogênio (polipeptídeos) em fibrina pela trombina (protease serina) são gerados peptídeos com acentuada potência quimiotáticos, tal como o fibrinopeptídeo B (hFpB). (fig. 1) A potência desse peptídeo, em relação à migração dos macrófagos e neutrófilos, é semelhante à das anafilotoxinas produzidas pela ativação do complemento; à do LTB₄; e à do formil-metionil-leucil-fenilalanina (fMLP); enquanto que, em relação à quimiotaxia dos fibroblastos, esse mediador (hFpB) apresenta atividade compatível com a do fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF). O mecanismo envolvido na atividade quimiotática por ele induzida,

possivelmente, não se deve a ligação aos receptores para C5a, LTB4 ou FMPL, nem à secreção das enzimas lisossomais, ou a produção do ânion superóxido,¹¹⁸ mas, sim, a ligação em um receptor específico.

Hialuronidato

Concomitantemente, com o aumento da concentração de fibrina na matriz extracelular, há ativação do fator ativador do plasminogênio (tPA), causando a geração de plasmina ativa, a partir do plasminogênio extravasado, (fig. 24) resultando na fragmentação das proteínas presentes na matriz extracelular e na ativação das metaloproteinases fragmentadoras dessa matriz.¹¹⁴ Vários produtos resultantes da fragmentação de componentes da matriz extracelular, tal como o hialuronidato, que é internalizado e fragmentado pela hialuronidase no interior dos fibroblastos, está diretamente relacionado com a formação do tecido granulomatoso, pois estimula o aumento da aderência, da migração, e da diferenciação celular necessária à neoformação vascular. Esse efeito pode, possivelmente, ser explicado pelo fato do hialuronidato reduzir a fibrinólise, decorrente da inibição da infiltração das células endoteliais secretoras do fator ativador do plasminogênio.¹¹⁶ Com relação ao hialuronidato, que é produzido pelas células sanguíneas e fibroblastos do tecido conjuntivo, sob estímulo específico de proteínas, tais como os fatores de crescimento semelhante à insulina (IGF) e fator do crescimento epidérmico (EGF), postula-se que esse componente da matriz extracelular, ao regular a fragmentação da fibrina, crie espaço para as células migrarem para o interior do tecido granulomatoso periapical. Também apresenta importante função como molécula reguladora das funções metabólicas de células presentes nas lesões periapicais, porquanto a exposição dessas células ao hialuronidato produz aumento na produção do ATP, fornecendo energia necessária à adesão, locomoção, fagocitose e quimiotaxia celular. Em relação ao seu efeito quimiotático, foi demonstrado o efeito sinérgico entre o hialuronidato e fibronectina, sugerindo que essa glicoproteína possa mediar a ligação do hialuronidato na superfície celular.

Importância da trombina na fragmentação da matriz extracelular

Outra consequência da ativação dos fatores de coagulação, quando da fragmentação enzimática da matriz extracelular, é causada pela clivagem da osteopontina induzida pela trombina, resultando no aumento da adesão e da migração celular, pois a forma clivada da osteopontina é ligante dos receptores do tipo integrina ($\alpha\beta 3$), cuja expressão é estimulada pelo fator de crescimento endotelial vascular (EVGF), fator de permeabilidade vascular (VPF) e fator de crescimento fibroblástico (FGF). Essa integrina, também, serve como receptor para outras proteínas da matriz extracelular (vitronectina, fibrinogênio, trombospondina e fator de Von Willebrand), que, extravasam, em consequência do aumento da permeabilidade vascular induzida pelo EVGF/PGF.¹¹⁵

Estímulo da síntese do colágeno por produtos de fragmentação da matriz extracelular

Os produtos de fragmentação dos componentes da matriz extracelular estimulam à síntese do colágeno, identificada nas lesões granulomatosas periapicais, principalmente, na região periférica. A propósito desse efeito sabe-se que glicaminoglicanos e os proteoglicanos são depositados ao longo das fibras colágenas do tecido cronicamente inflamado, de maneira que influenciam à fibrinogênese, a força tênsil e o diâmetro das fibras colágenas, pois estimulam a migração, a proliferação e a diferenciação celular, bem como a produção de outros proteoglicanos e a síntese do colágeno, protegendo-o contra a fragmentação colagenolítica.¹¹⁶ Também foi demonstrado que os produtos da fragmentação do colágeno podem influenciar várias funções celulares envolvidas na formação das lesões granulomatosas periapicais, tais como: a quimiotaxia, a proliferação, a migração e a produção de colagenase pelos fibroblastos, diretamente envolvidos nos processos de síntese e de destruição das fibras colágenas.¹¹⁶

Proteínas da matriz extracelular

Ao contrário da fibrina, que, indiretamente, promove ativação do plasminogênio, pois aumenta a atividade do fator ativador do plasminogênio (tPA),¹²⁹ causando a clivagem da ligação arginina-valina na molécula do plasminogênio originando a plasmina: a vitronectina antagonizando a ativação do plasminogênio, mediante a sua ligação ao fator inibidor do plasminogênio (PAI-1), estabilizando-o e inibindo a proteólise.^{117, 118}

Interação celular com as proteínas da matriz extracelular

A interação das células com a matriz extracelular é influenciada pelo tipo de colágeno; pelas glicoproteínas fibronectina, vitronectina, laminina e tenascin; bem como pelo tipo de proteoglicano nela presente. Essa interação, também, é influenciada pela expressão das moléculas de adesão celular (ICAM-1, VCAM, CD11 e CD18), cuja produção é estimulada por citocinas secretadas pela população celular do granuloma.

Tais moléculas, bem como os componentes da matriz extracelular e fatores de crescimento de síntese e secreção celular, ligam-se aos receptores do tipo integrina localizados na superfície celular, ativando-os. Esses receptores são heterodímeros possuidores de uma região RGD (tripeptídeo, ácido aspártico-glicina-arginina) capazes de ligar a fibronectina, a laminina, o colágeno tipo I e a vitronectina, (figs. 29, 30, 33 e 34) que ao serem ativados, causam o estímulo do citoesqueleto celular, resultando na produção de mensageiros solúveis dirigidos ao núcleo, onde estimulam à síntese das proteínas responsáveis pela migração, proliferação e diferenciação celular.²² (fig. 29, capítulo 2)

É também conhecido o fato de que glicoproteínas da matriz extracelular, tal como a fibronectina são importantes na agregação dos fibroblastos e na ligação celular à matriz. (fig. 33, capítulo 2) Essa glicoproteína também promove a ligação entre o hialuronidato (sintetizado e secretado por vários tipos de células, tal como: as

sangüíneas e do tecido conjuntivo) com a fibrina, estabilizando a matriz de fibrina/hialuronidato. (fig. 32, capítulo 2)

Atualmente, tem sido atribuída acentuada importância ao tenascin, ou seja, uma glicoproteína localizada no tecido mesenquimal subjacente a membrana basal, que estruturalmente, apresenta regiões homólogas à fibronectina do tipo II, ao fator de crescimento epidérmico (EGF); (fig. 15, capítulo 1) e, seqüências semelhantes ao fibrinogênio desempenhando função importante na adesão, migração, proliferação e diferenciação celular.¹¹⁹

Influência da concentração dos componentes da matriz extracelular

A presença em excesso dos componentes da matriz extracelular inibe a formação do tecido granulomatoso, porquanto a alta concentração de fibrina impede a penetração dos macrófagos no tecido granulomatoso, bem como inibe a vascularização desse tecido, pois a fibrina reduz a internalização e a subsequente fragmentação do hialuronidato mediante a sua ligação covalente com o hialuronidato.

A baixa concentração de fibrina fornece um bom substrato para a migração dos macrófagos e células endoteliais, uma vez que, indiretamente, promove a ativação do plasminogênio em decorrência do aumento da atividade do fator ativador do plasminogênio (tPA), causando fibrinólise, enquanto a alta concentração de fibrina impede a migração dessas células.

A elevada concentração de ácido hialurônico tem sido associada à inibição da vascularização do tecido granulomatoso, porquanto inibe a aderência e locomoção de polimorfonucleares neutrófilos.²² Em contraposição, a fragmentação do ácido hialurônico tem sido associada ao aumento da vascularização, pois o decréscimo desse componente na matriz extracelular, em granulomas de alta renovação celular, causa o aumento da migração das células endoteliais. (fig. 32, capítulo 2)

A concentração dos componentes da matriz extracelular molda a formação do tecido granulomatoso

Os componentes da matriz extracelular, mediante mecanismos dependentes de sua concentração, estão diretamente relacionados à formação das lesões das lesões granulomatosas periapicais, de maneira que a diminuição do material granular eosinófilo fibrinóide, identificado microscopicamente, presente no tecido granulomatoso durante a evolução do granuloma, possivelmente, é decorrente da fragmentação da matriz extracelular, resultando na formação de produtos, tal como o C5a e peptídeos (citoquinas, quimiocinas e fatores de crescimento), que têm sido associados ao controle da vascularização, permeabilidade vascular, quimiotaxia celular e síntese do colágeno, necessária à formação do tecido granulomatoso periapical.¹¹⁴

Componentes da matriz extracelular modulam o processo de mineralização das lesões granulomatosas periapicais

Tais componentes modulam também o processo de mineralização, presente nessas lesões, pois a alcalinidade local causada pelos tecidos necróticos, ou em degeneração gordurosa, são estimuladores do aumento da precipitação dos sais de cálcio, porquanto as proteínas alteradas expõem os grupos reativos com afinidade para os íons fosfatos, reagindo com as proteínas desnaturadas formando fosfato de cálcio, de maneira que as proteínas desnaturadas incorporam íons de cálcio, em quantidades cada vez maiores.

Outros componentes da matriz extracelular, tal como o colágeno, (fig. 29, capítulo 4) também, participa do mecanismo de calcificação, pois essa proteína age como um nucleador epitaxial da hidroxiapatita, enquanto que os proteoglicanos presentes na matriz extracelular agem inibindo o crescimento da hidroxiapatita; não obstante, a sua hidrólise criar espaço para a mineralização.

Referências bibliográficas

1. Catanzaro-Guimarães AS Relatório final, Bauru, FOB/USP (proc. FAPESP, nº 87/3024-I).
2. Torabinejad M. Mediators of acute and chronic periradicular lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1994; 78: 511-21.
3. Davies P, Bonney RJ. Secretory products of mononuclear phagocytes: a brief review. *J Reticuloendothel Soc*. 1979; 26: 37-47.
4. Musson RA, Shafran H, Henson PM. Intracellular levels and stimulated release of lysosomal enzymes from human peripheral blood monocytes and monocyte-derived macrophages. *J Reticuloendothel Soc*, 1980; 28: 249-64.
5. Page RC, Davies P, Allison AC. Participation of mononuclear phagocytes in chronic inflammatory diseases. *J Reticuloendothel Soc*, 1974; 15: 413-38.
6. Catanzaro-Guimarães AS Patologia básica da cavidade bucal Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1982.
7. Robison TW, Forman HJ. Dual effect of nitrogen dioxide on rat alveolar macrophage arachidonate metabolism. *Exp Lung Res*, 1993; 19: 21-36.
8. Goldberg GI, Wilhelm SM, Kronberger A, Bauer EA, Grant GA, Eisen AZ. Human fibroblast collagenase. Complete primary structure and homology to an oncogene transformation-induced rat protein. *J Biol Chem*, 1986; 261: 6600-5.
9. Birkedal-Hansen H et al Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1993; 4: 197-250.
10. Wilhelm SM et al SV40-transformed human lung fibroblasts secrete a 92-kDa type IV collagenase which is identical to that secreted by normal human macrophages. *J Biol Chem*, 1989; 264: 17213-21. Erratum in: *J Biol Chem*, 1990; 265: 22570.
11. Wahl SM et al Role of transforming growth factor beta in the pathophysiology of chronic inflammation. *J Periodontol*, 1993; 64(5 Suppl):450-5.
12. Meikle MC, et al Gingival fibroblasts degrade type I collagen films when stimulated with tumor necrosis factor and interleukin 1: evidence that breakdown is mediated by metalloproteinases. *J Periodontal Res*, 1989; 24: 207-13.

13. Heath JK et al Human gingival tissues in culture synthesize three metalloproteinases and a metalloproteinase inhibitor. *J Periodontal Res*, 1982; 17: 183-90.
14. Pourtaghi N et al The effect of subgingival antimicrobial therapy on the levels of stromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinases in gingival crevicular fluid. *J Periodontol*, 1996; 67: 866-70.
15. Rasch MS et al The effect of initial periodontal therapy on salivary platelet-activating factor levels in chronic adult periodontitis. *J Periodontol*, 1995; 66: 613-23.
16. Fieren MW et al Prostaglandin E2 inhibits the release of tumor necrosis factor-alpha, rather than interleukin 1 beta, from human macrophages. *Immunol Lett*, 1992; 31: 85-90.
17. Lim LK et al Reactive oxygen production, arachidonate metabolism and cyclic AMP in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*, 1983; 114: 549-55.
18. Bonta IL, Adolfs MJ, Fieren MW Cyclic AMP levels and their regulation by prostaglandins in peritoneal macrophages of rats and humans. *Int J Immunopharmacol*, 1984; 6: 547-55.
19. Schenkelaars EJ Effect of leukotriene C4 on the release of secretory products by elicited populations of rat peritoneal macrophages. *Eur J Pharmacol*, 1983; 86:477-80.
20. Feuerstein N, Foegh M, Ramwell PW. Leukotrienes C4 and D4 induce prostaglandin and thromboxane release from rat peritoneal macrophages. *Br J Pharmacol*. 1981; 72: 389-91.
21. Rola-Pleszczynski M, Chavaillaz PA, Lemaire I. Stimulation of interleukin 2 and interferon gamma production by leukotriene B4 in human lymphocyte cultures. *Prostaglandins Leukot Med*, 1986; 23: 207-10.
22. Kumar V, Abbas A, Fausto N, Mitchell R Robbins: *patologia básica*. Rio de Janeiro, 8ª ed., Elsevier Saunders, 2008.
23. Manhart SS et al Gingival cell IL-2 and IL-4 in early-onset periodontitis. *J Periodontol*, 1994; 65: 807-13.
24. Lorenzo JA. The role of cytokines in the regulation of local bone resorption. *Crit Rev Immunol*, 1991;11: 195-213.

25. Collins JG, Offenbacher S, Arnold RR. Effects of a combination therapy to eliminate *Porphyromonas gingivalis* in refractory periodontitis. *J Periodontol*, 1993; 64: 998-1007
26. Scully C. Oncogenes, onco-suppressors, carcinogenesis and oral cancer. *Br dent J*, 1992; 173: 53-9.
27. Kung SK, Lau HK. Modulation of the plasminogen activation system in murine macrophages. *Biochim Biophys Acta*, 1993; 1176: 113-22.
28. Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res*, 1991; 26: 230-42.
29. Wahl LM, Corcoran ML. Regulation of monocyte/macrophage metalloproteinase production by cytokines. *J Periodontol*, 1993; 64: 467-73.
30. Meikle MC et al. Gingival fibroblasts degrade type I collagen films when stimulated with tumor necrosis factor and interleukin 1: evidence that breakdown is mediated by metalloproteinases. *J Periodontal Res*, 1989; 24: 207-13.
31. Qwarnstrom EE, Page RC, Gillis S, Dower SK. Binding, internalization, and intracellular localization of interleukin-1 beta in human diploid fibroblasts. *J Biol Chem*, 1988; 263: 8261-9.
32. Richards D, Rutherford RB. The effects of interleukin 1 on collagenolytic activity and prostaglandin-E secretion by human periodontal-ligament and gingival fibroblast. *Arch Oral Biol*, 1988; 33: 237-43.
33. Stern MH, Dreizen S, Mackler BF, Levy BM. Isolation and characterization of inflammatory cells from the human periapical granuloma. *J Dent Res*, 1982; 61: 1408-12.
34. Luscinckas FW, Kansas GS, Ding H, Pizcueta P, Schleiffenbaum BE, Tedder TF, Gimbrone MA Jr. Monocyte rolling, arrest and spreading on IL-4-activated vascular endothelium under flow is mediated via sequential action of L-selectin, beta 1-integrins, and beta 2-integrins. *J Cell Biol*, 1994; 125: 1417-27.
35. Schütz AB. Estudo comparativo dos mecanismos de ação e efeitos farmacológicos do tenoxicam, indometacina, dexametazona e metotrexato no processo inflamatório agudo e crônico. Bauru, Faculdade de odontologia de Barú da USP, 1996.

- 36.deMenezes, Catanzaro-Guimarães SA Determination of anti-inflammatory and antimitotic activities of non-steroid anti-inflammatory drugs ibuprofen, diclofenac sodium and fentiazac. *Cell Mol Biol*, 1985; 31: 455-61.
- 37.Dinerman JL, Lawson DL, Mehta JL. Interactions between nitroglycerin and endothelium in vascular smooth muscle relaxation. *Am J Physiol*, 1991; 260: H698-701.
- 38.Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res*, 1991; 26: 230-42.
- 39.Meghji S. Bone remodelling. *Br Dent J*, 1992; 172: 235-42.
- 40.Stashenko P et al Pathogenesis of induced rat periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1994; 78: 494-502.
- 41.Takigawa M et al Murayama Cytokine-dependent synergistic regulation of interleukin-8 production from human gingival fibroblasts. *J Periodontol*, 1994; 65: 1002-7.
- 42.Shapira L Priming effect of *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide on superoxide production by neutrophils from healthy and rapidly progressive periodontitis subjects. *J Periodontol*, 1994; 65: 129-33.
- 43.Smith RS et al Fibroblasts as sentinel cells. Synthesis of chemokines and regulation of inflammation. *Am J Pathol*, 1997; 151: 317-22.
- 44.Utsugi T, Fidler IJ. Prostaglandin E2 does not inhibit tumoricidal activity of mouse macrophages against adherent tumor cells. *J Immunol*, 1991; 146: 2066-71.
- 45.Harrell JC, Stein SH. Prostaglandin E2 regulates gingival mononuclear cell immunoglobulin production. *J Periodontol*, 1995; 66: 222-7.
- 46.Tamaoki J et al IgE-dependent activation of alveolar macrophages augments neurally mediated contraction of small airways. *Br J Pharmacol*, 1991; 103: 1458-62.
- 47.Schultz RM et al Prevention of macrophage tumoricidal activity by agents known to increase cellular cyclic AMP. *Cell Immunol*, 1979; 42: 71-8.
- 48.Schenkelaars EJ, Bonta IL. Effect of leukotriene C4 on the release of secretory products by elicited populations of rat peritoneal macrophages. *Eur J Pharmacol*, 1983; 86: 477-80.

49. Offenbacher S, Heasman PA, Collins JG. Modulation of host PGE2 secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J Periodontol*, 1993; 64: 432-44.
50. Webb DR, Nowowiejski I. Mitogen-induced changes in lymphocyte prostaglandin levels: a signal for the induction of suppressor cell activity. *Cell Immunol*, 1978; 41: 72-85.
51. Torabinejad M. Mediators of acute and chronic periradicular lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1994; 78: 511-21.
52. Fan TP, Hu DE, Guard S, Gresham GA, Watling KJ. Stimulation of angiogenesis by substance P and interleukin-1 in the rat and its inhibition by NK1 or interleukin-1 receptor antagonists. *Br J Pharmacol*, 1993; 110: 43-9.
53. Drake WT et al. Thrombin enhancement of interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha induced polymorphonuclear leukocyte migration. *Lab Invest*, 1992; 67: 617-27.
54. Takahashi K, Takigawa M, Takashiba S, Nagai A, Miyamoto M, Kurihara H, Murayama Y. Role of cytokine in the induction of adhesion molecules on cultured human gingival fibroblasts. *Periodontol*, 1994; 65: 230-5.
55. Sanderson CJ. Interleukin-5, eosinophils, and disease. *Blood*, 1992; 79: 3101-9.
56. Schleiffenbaum B, Fehr J. Regulation and selectivity of leukocyte emigration. *J Lab Clin Med* 1996; 127: 151-68.
57. Lopez AF. Murine eosinophil differentiation factor. An eosinophil-specific colony-stimulating factor with activity for human cells. *J Exp Med*, 1986; 163: 1085-99.
58. Henson PM. The immunologic release of constituents from neutrophil leukocytes. II. Mechanisms of release during phagocytosis, and adherence to nonphagocytosable surfaces. *J Immunol*, 1971; 107: 1547-57.
59. Pober JS. Overlapping patterns of activation of human endothelial cells by interleukin 1, tumor necrosis factor, and immune interferon. *J Immunol*, 1986; 137: 1893-6.
60. Wilkinson PC, Newman I. Identification of IL-8 as a locomotor attractant for activated human lymphocytes in mononuclear cell

- cultures with anti-CD3 or purified protein derivative of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol*, 1992; 149: 2689-94.
61. Carr MW, Roth SJ, Luther E, Rose SS, Springer TA. Monocyte chemoattractant protein 1 acts as a T-lymphocyte chemoattractant. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994; 91: 3652-6.
62. Silber A et al Recruitment of lymphocytes during cutaneous delayed hypersensitivity in nonhuman primates is dependent on E-selectin and vascular cell adhesion molecule 1. *J Clin Invest*, 1994; 93: 1554-63.
63. Pullman WE, Bodmer WF. Cloning and characterization of a gene that regulates cell adhesion. *Nature*, 1993; 361: 564.
64. Albelda SM. Endothelial and epithelial cell adhesion molecules. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1991; 4: 195-203.
65. Albelda SM et al Integrin distribution in malignant melanoma: association of the beta 3 subunit with tumor progression. *Cancer Res*, 1990; 50: 6757-64.
66. Buck CA, Horwitz AF. Cell surface receptors for extracellular matrix molecules. *Annu Rev Cell Biol*, 1987; 3:179-205.
67. Spertini O et al Leukocyte adhesion molecule-1 (LAM-1, L-selectin) interacts with an inducible endothelial cell ligand to support leukocyte adhesion. *J Immunol*, 1991; 147:2565-73.
68. Spertini O, Luscinskas FW, Gimbrone MA Jr, Tedder TF. Monocyte attachment to activated human vascular endothelium in vitro is mediated by leukocyte adhesion molecule-1 (L-selectin) under nonstatic conditions. *J Exp Med*, 1992; 175: 1789-92.
69. Walsh GM et al IL-5 enhances the in vitro adhesion of human eosinophils, but not neutrophils, in a leucocyte integrin (CD11/18)-dependent manner. *Immunology*, 1990; 71: 258-
70. Hunkapiller T, Hood L. Diversity of the immunoglobulin gene superfamily. *Adv Immunol*, 1989; 44: 1-63.
71. Williams AF, Barclay AN. The immunoglobulin superfamily--domains for cell surface recognition. *Annu Rev Immunol*, 1988; 6: 381-405.
72. Hynes RO. Integrins: a family of cell surface receptors. *Cell*, 1987; 48:549-54.

73. Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell*, 1992; 69: 11-25.
74. Cornack DH *Histologia*. 9a. ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991
74. Wren AD, Hiley CR, Fan TP. Endothelin-3 mediated proliferation in wounded human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993; 196: 369-75.
75. Hirasawa N, Watanabe M, Mue S, Watanabe K, Tsurufuji S, Ohuchi K. Induction of neutrophil infiltration by rat chemotactic cytokine (CINC) and its inhibition by dexamethasone in rats. *Inflammation*, 1992; 16: 187-96.
76. Korolkovas A, Burckhalter JH *Química farmacêutica*. Rio de Janeiro, Guanabara koogan, 1988.
77. Barnes PJ, Chung KF, Page CP. Inflammatory mediators and asthma. *Pharmacol Rev*, 1988; 40: 49-84.
78. Mak JC, Barnes PJ. Autoradiographic visualization of bradykinin receptors in human and guinea pig lung. *Eur J Pharmacol*, 1991; 194: 37-43.
79. Nakajima N et al Bradykinin-induced airway inflammation. Contribution of sensory neuropeptides differs according to airway site. *Am J Respir Crit Care Med*, 1994; 149: 694-8.
80. Ray A, Prefontaine KE. Physical association and functional antagonism between the p65 subunit of transcription factor NF-kappa B and the glucocorticoid receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994; 91: 752-6.
81. Hermanowski-Vosatka A et al Integrin modulating factor-1: a lipid that alters the function of leukocyte integrins. *Cell*, 1992; 68:341-52.
82. Baeuerle PA, Henkel T. Function and activation of NF-kappa B in the immune system. *Annu Rev Immunol*, 1994; 12: 141-79.
83. Murray RK, Granner Dk, Rodwell Vw *Bioquímica básica* 9a. ed., São Paulo, Atheneu, 1994.
84. Fujihashi K et al Cytokines and periodontal disease: immunopathological role of interleukins for B cell responses in chronic inflamed gingival tissues. *J Periodontol*, 1993; 64(5 Suppl): 400-6.

85. Nalhara Y, Frenkel RA, Johnston JM. Hormonal regulation of platelet-activating factor-acetyltransferase activity in rat tissues. *Arch Biochem Biophys*, 1993; 304: 503-7.
86. Beusenberg FD, van Schaik A, van Amsterdam JG, Bonta IL. Involvement of eicosanoids in platelet-activating factor-induced modulation of adenylyl cyclase activity in alveolar macrophages. *J Lipid Mediat*, 1991; 3: 301-9.
87. Rothe MJ, Falanga V. Growth factors and wound healing. *Clin Dermatol*. 1991; 9: 553-9.
88. Xia Y et al RelB regulation of chemokine expression modulates local inflammation. *Am J Pathol*, 1997;151: 375-87.
89. Graham GJ et al Identification and characterization of an inhibitor of haemopoietic stem cell proliferation. *Nature* 1990; 344: 442-4.
90. Oppenheim JJ, Zachariae CO, Mukaida N, Matsushima K. Properties of the novel proinflammatory supergene "intercrine" cytokine family. *Annu Rev Immunol*, 1991; 9: 617-48.
91. Smith RE, Strieter RM, Phan SH, Kunkel SL. C-C chemokines: novel mediators of the profibrotic inflammatory response to bleomycin challenge. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1996; 15: 693-702.
92. Strieter RM, Polverini PJ, Arenberg DA, Kunkel SL. The role of CXC chemokines as regulators of angiogenesis. *Shock*. 199; 4: 155-60.
93. Kelner GS, Kennedy J, Bacon KB, Kleyensteuber S, Largaespada DA, Jenkins NA, Copeland NG, Bazan JF, Moore KW, Schall TJ, et al. Lymphotactin: a cytokine that represents a new class of chemokine. *Science*, 1994; 266: 1395-9.
94. Center DM, Kornfeld H, Cruikshank WW. Interleukin 16 and its function as a CD4 ligand. *Immunol Today*, 1996; 17: 476-81.
95. Ahuja SK, Gao JL, Murphy PM. Chemokine receptors and molecular mimicry. *Immunol Today*, 1994;15: 281-7.
96. Luster AD, Greenberg SM, Leder P. The IP-10 chemokine binds to a specific cell surface heparan sulfate site shared with platelet factor 4 and inhibits endothelial cell proliferation. *J Exp Med*, 1995;182: 219-31.
97. Premack BA, Schall TJ. Chemokine receptors: gateways to inflammation and infection. *Nat Med*, 1996; 2:1174-8.

98. Heath JK, Smith AG, Hsu LW, Rathjen PD. Growth and differentiation factors of pluripotential stem cells. *J Cell Sci Suppl.* 1990;13:75-85.
99. Verfaillie CM. Chemokines as inhibitors of hematopoietic progenitors. *J Lab Clin Med*, 1996; 127: 148-50.
100. Verfaillie C, Hurley R, Bhatia R, McCarthy JB. Role of bone marrow matrix in normal and abnormal hematopoiesis. *Crit Rev Oncol Hematol*, 1994;16: 201-24.
101. Heyworth CM et al The biochemistry and biology of the myeloid haemopoietic cell growth factors. *J Cell Sci Suppl.* 1990; 13: 57-74.
102. Metcalf D, Merchav S. Effects of GM-CSF deprivation on precursors of granulocytes and macrophages. *J Cell Physiol.* 1982; 112: 411-8.
103. Gearing DP et al Molecular cloning and expression of cDNA encoding a murine myeloid leukaemia inhibitory factor (LIF). *EMBO J*, 1987; 6: 3995-4002.
104. Mori M, Yamaguchi K, Abe K. Purification of a lipoprotein lipase-inhibiting protein produced by a melanoma cell line associated with cancer cachexia. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 160: 1085-92.
105. Lorenzo JA. The role of cytokines in the regulation of local bone resorption. *Crit Rev Immunol*, 1991; 11: 195-213.
106. McAnulty RJ et al Indomethacin suppresses the anti-proliferative effects of transforming growth factor-beta isoforms on fibroblast cell cultures. *Biochem J*, 1997; 321: 639-43.
107. Ewen ME et al p53-dependent repression of CDK4 translation in TGF-beta-induced G1 cell-cycle arrest. *Genes Dev.* 1995; 9: 204-17.
108. Howe PH, Draetta G, Leof EB. Transforming growth factor beta 1 inhibition of p34cdc2 phosphorylation and histone H1 kinase activity is associated with G1/S-phase growth arrest. *Mol Cell Biol.* 1991; 11: 1185-94.
109. Geng Y, Weinberg RA. Transforming growth factor beta effects on expression of G1 cyclins and cyclin-dependent protein kinases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993; 90: 10315-9.

110. Graham GJ, Wright EG, Hewick R, Wolpe SD, Wilkie NM, Donaldson D, Lorimore S, Pragnell IB Identification and characterization of an inhibitor of haemopoietic stem cell proliferation. *Nature*. 1990; 344(6265): 442-4.
111. Broxmeyer HE, Sherry B, Lu L, Cooper S, Oh KO, Tekamp-Olson P, Kwon BS, Cerami A. Enhancing and suppressing effects of recombinant murine macrophage inflammatory proteins on colony formation in vitro by bone marrow myeloid progenitor cells. *Blood*. 1990 ; 76: 1110-6.
112. Bathija R, Gupta N, Zangwill L, Weinreb RN. Changing definition of glaucoma. *J Glaucoma*. 1998; 7:165-9.
113. Yamasaki M, Kumazawa M, Kohsaka T, Nakamura H Effect of methotrexate-induced neutropenia on rat periapical lesion. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1994 Jun;77(6):655-61.
114. Senger DR Molecular framework for angiogenesis: a complex web of interactions between extravasated plasma proteins and endothelial cell proteins induced by angiogenic cytokines. *Am J Pathol*, 1996; 149:1-7.
115. Couffinhal T, Kearney M, Witzensbichler B, Chen D, Murohara T, Losordo DW, Symes J, Isner JM. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor (VEGF/VPF) in normal and atherosclerotic human arteries. *Am J Pathol*. 1997; 150: 1673-85.
116. Norton DS, Burstone CJ Prostaglandins in bone resorption. Boca Raton, CRPress, Cap.6, p. 132-143.
117. Preissner KT, Grulich-Henn J, Ehrlich HJ, Declerck P, Justus C, Collen D, Pannekoek H, Müller-Berghaus G. Structural requirements for the extracellular interaction of plasminogen activator inhibitor 1 with endothelial cell matrix-associated vitronectin. *J Biol Chem*. 1990; 265:18490-8.
118. Seiffert D, Ciambone G, Wagner NV, Binder BR, Loskutoff DJ. The somatomedin B domain of vitronectin. Structural requirements for the binding and stabilization of active type 1 plasminogen activator inhibitor. *J Biol Chem*. 1994; 269: 2659-66
119. Natali PG, Nicotra MR, Bigotti A, Botti C, Castellani P, Risso AM, Zardi L. Comparative analysis of the expression of the

- extracellular matrix protein tenascin in normal human fetal, adult and tumor tissues. *Int J Cancer*. 1991; 47: 811-6
120. Herbert CA, Edwards D, Boot JR, Robinson C. In vitro modulation of the eosinophil-dependent enhancement of the permeability of the bronchial mucosa. *Br J Pharmacol*. 1991; 104: 391-8.
121. Kucey DS, Cheung PY, Rotstein OD. Platelet-activating factor modulates endotoxin-induced macrophage procoagulant activity by a protein kinase C-dependent mechanism. *Infect Immun*, 1992; 60: 944-50.
122. Wozney JM, Rosen V, Byrne M, Celeste AJ, Moutsatsos I, Wang EA. Growth factors influencing bone development. *J Cell Sci Suppl*. 1990; 13: 149-56.
123. Smith AG, Nichols J, Robertson M, Rathjen PD. Differentiation inhibiting activity (DIA/LIF) and mouse development. *Dev Biol*. 1992; 151: 339-51.
124. Bickel M. The role of interleukin-8 in inflammation and mechanisms of regulation. *J Periodontol*, 1993; 64(5 Suppl): 456-60.
125. Costa JJ et al Human eosinophils can express the cytokines tumor necrosis factor-alpha and macrophage inflammatory protein-1 alpha. *J Clin Invest*, 1993; 91: 2673-84.
126. Watanabe K, Tanaka Y, Morimoto I, Yahata K, Zeki K, Fujihira T, Yamashita U, Eto S. Interleukin-4 as a potent inhibitor of bone resorption. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990; 172: 1035-41.
127. Akamine A, Anan H, Hamachi T, Maeda K. A histochemical study of the behavior of macrophages during experimental. *J. Endod*, 1994, 20: 474-8.
128. van Dinther-Janssen AC, Horst E, Koopman G, Newmann W, Scheper RJ, Meijer CJ, Pals ST. The VLA-4/VCAM-1 pathway is involved in lymphocyte adhesion to endothelium in rheumatoid synovium. *J Immunol*. 1991 Dec 15; 147(12): 4207-10.
129. Hoylaerts M, Rijken DC, Lijnen HR, Collen D. Kinetics of the activation of plasminogen by human tissue plasminogen activator. Role of fibrin. *J Biol Chem*. 1982; 257: 29.

The background features a large, stylized graphic composed of several overlapping circles in various shades of blue. A network of thin, light blue lines connects different points on these circles, creating a web-like structure. The overall aesthetic is clean and modern, typical of a textbook cover.

Figuras

Capítulo 3

**Síntese e secreção de enzimas
lisossomais**

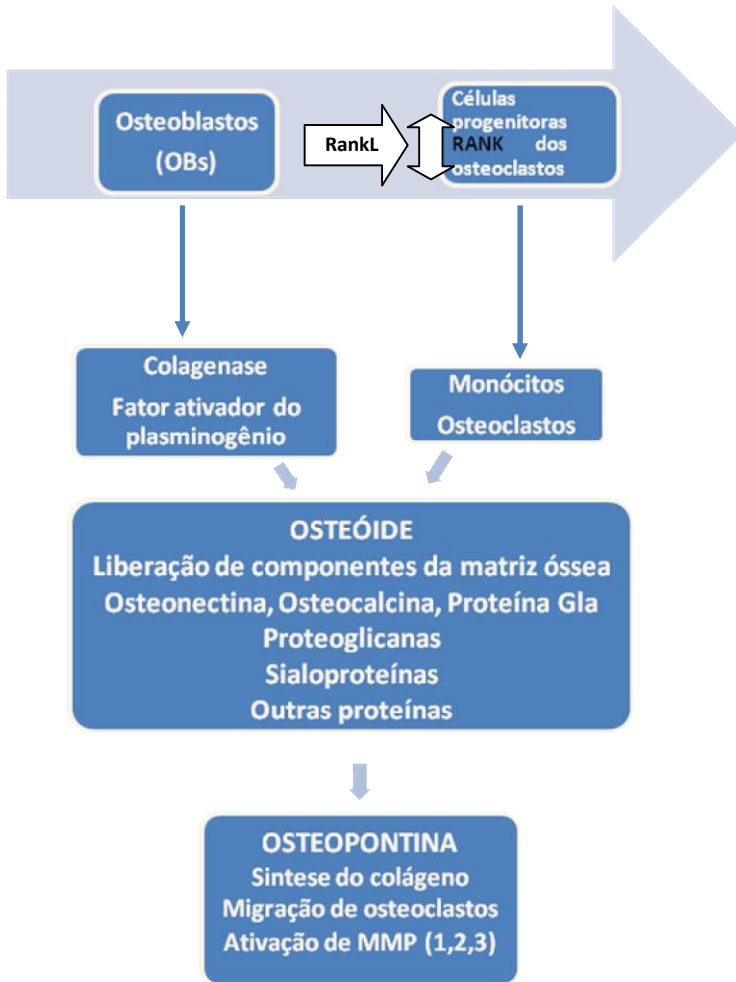


Fig. 1: Fragmentação da matriz óssea via secreção e ativação de metaloproteinases.

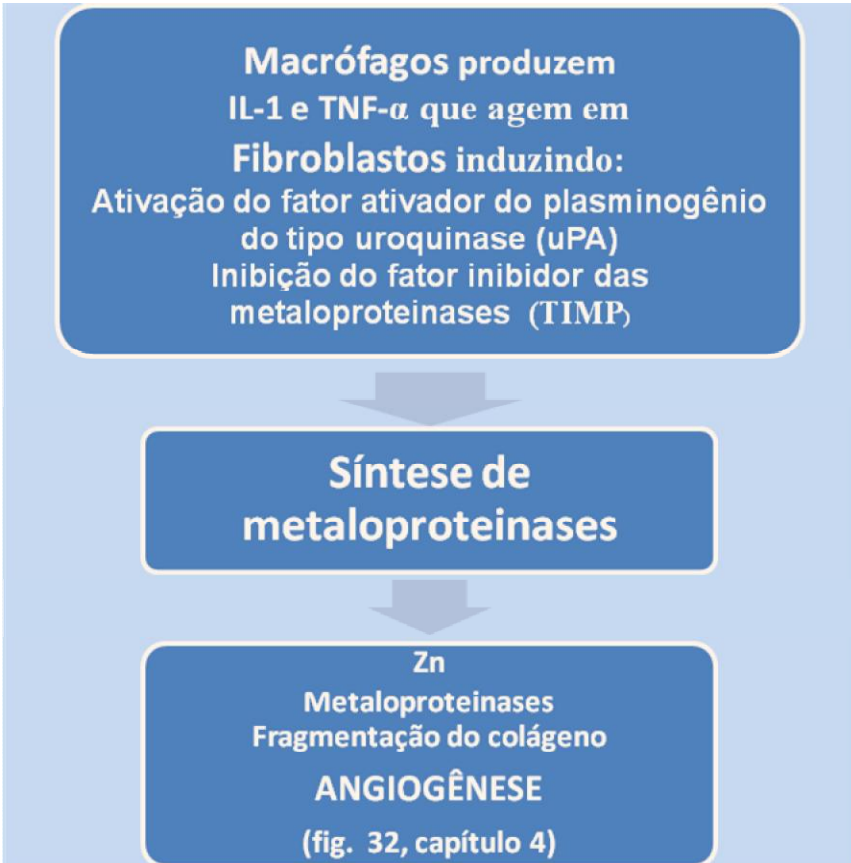


Fig.2: Síntese e ativação das metaloproteinasas por citoquinas ao nível das lesões periapicais.

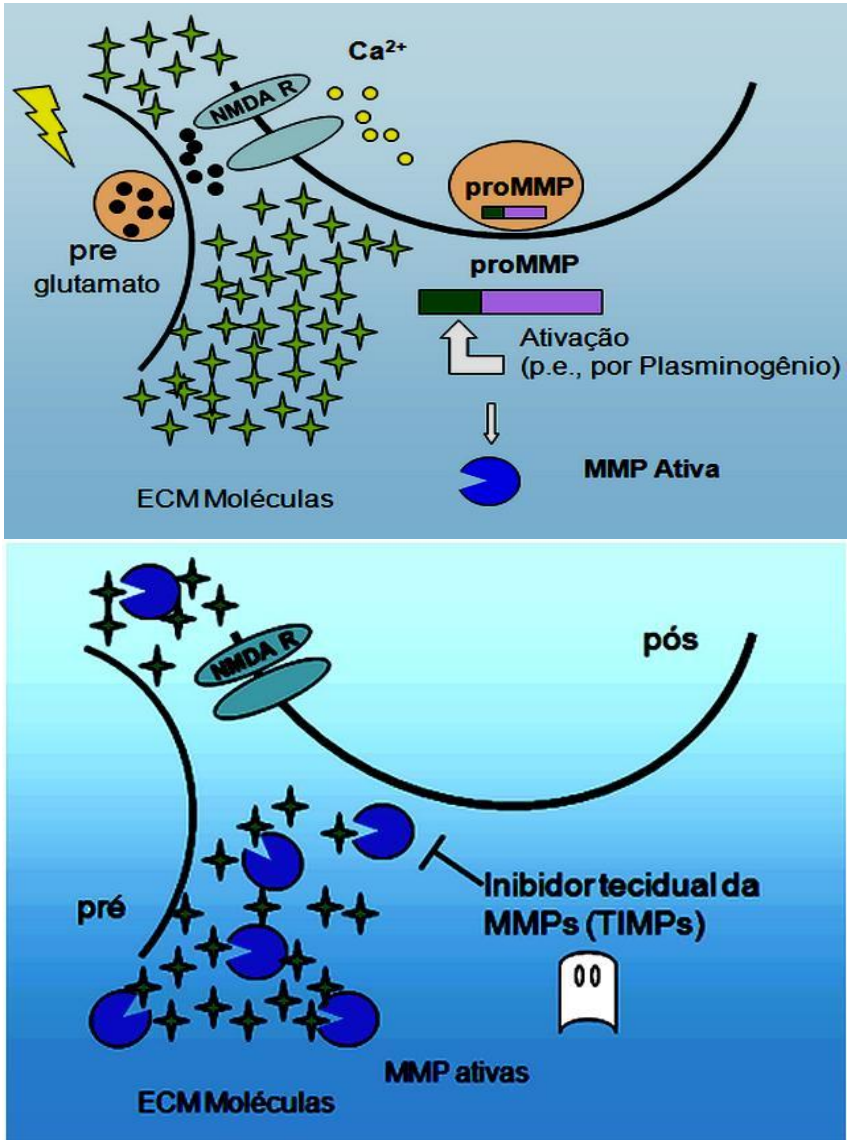


Fig. 2.1: Ativação das metaloproteinases.

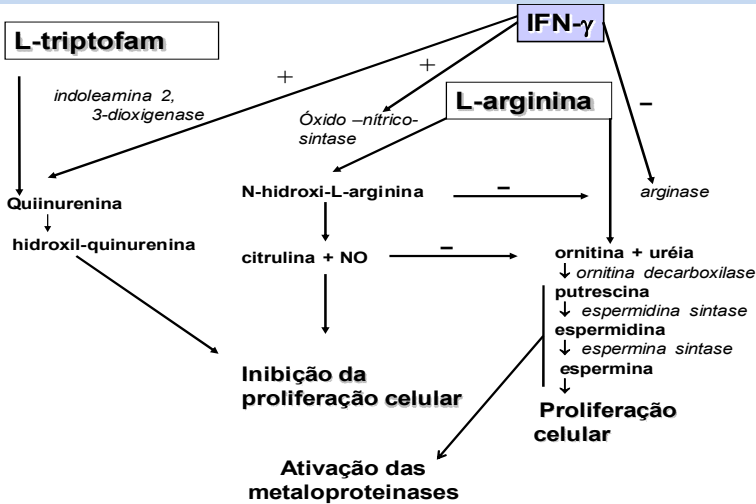
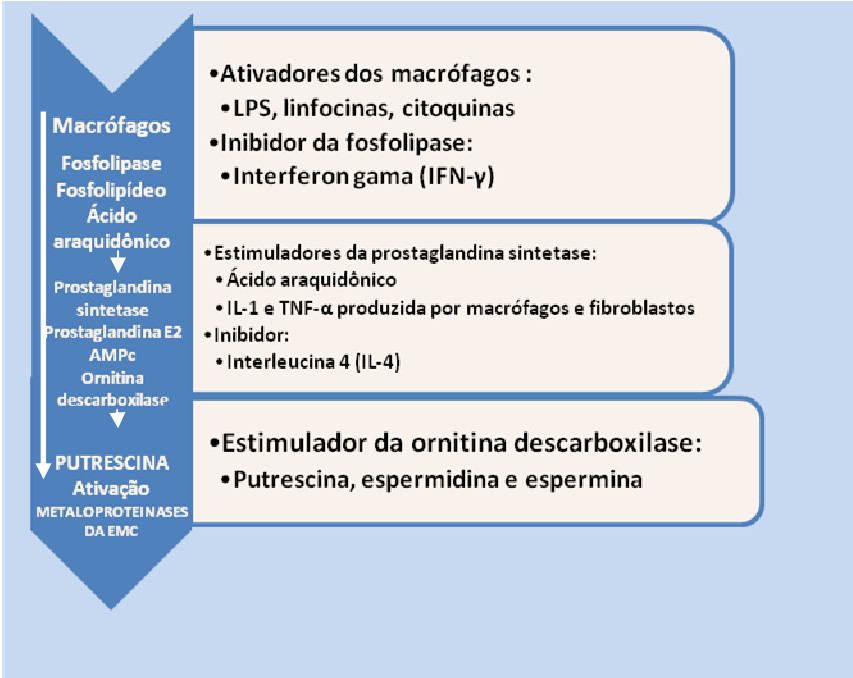


Fig. 3: Síntese de metaloproteinases por macrófagos e ativação das metaloproteinases latentes da matriz óssea.



Fig. 4: Mecanismos de aumento do número de macrófagos ao nível das lesões granulomatosas periapicais.

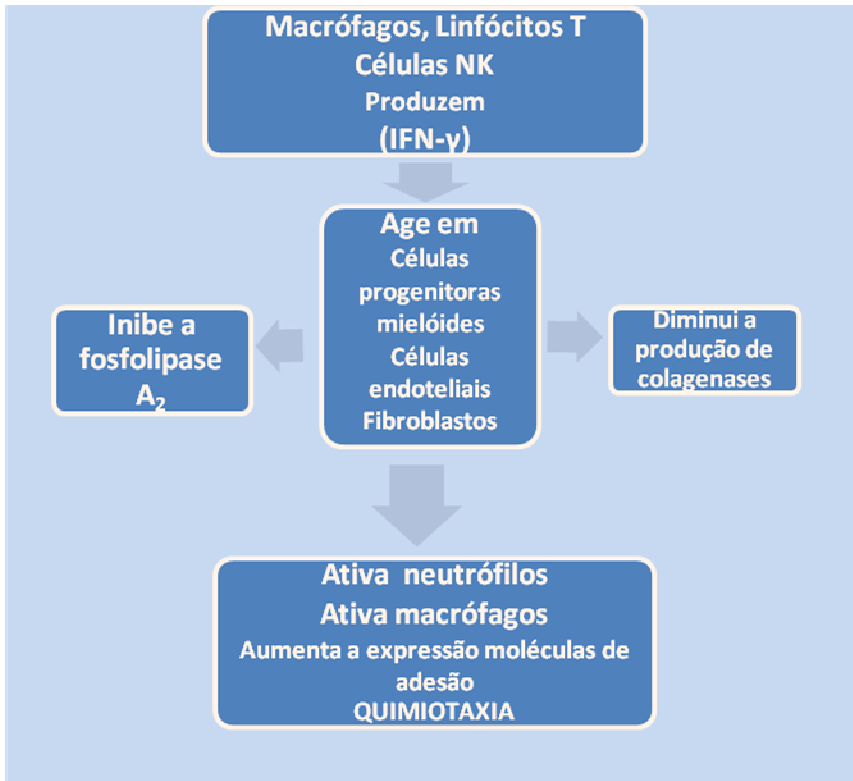


Fig. 5: Mecanismo de geração de fatores quimiotáticos pelo IFN γ .

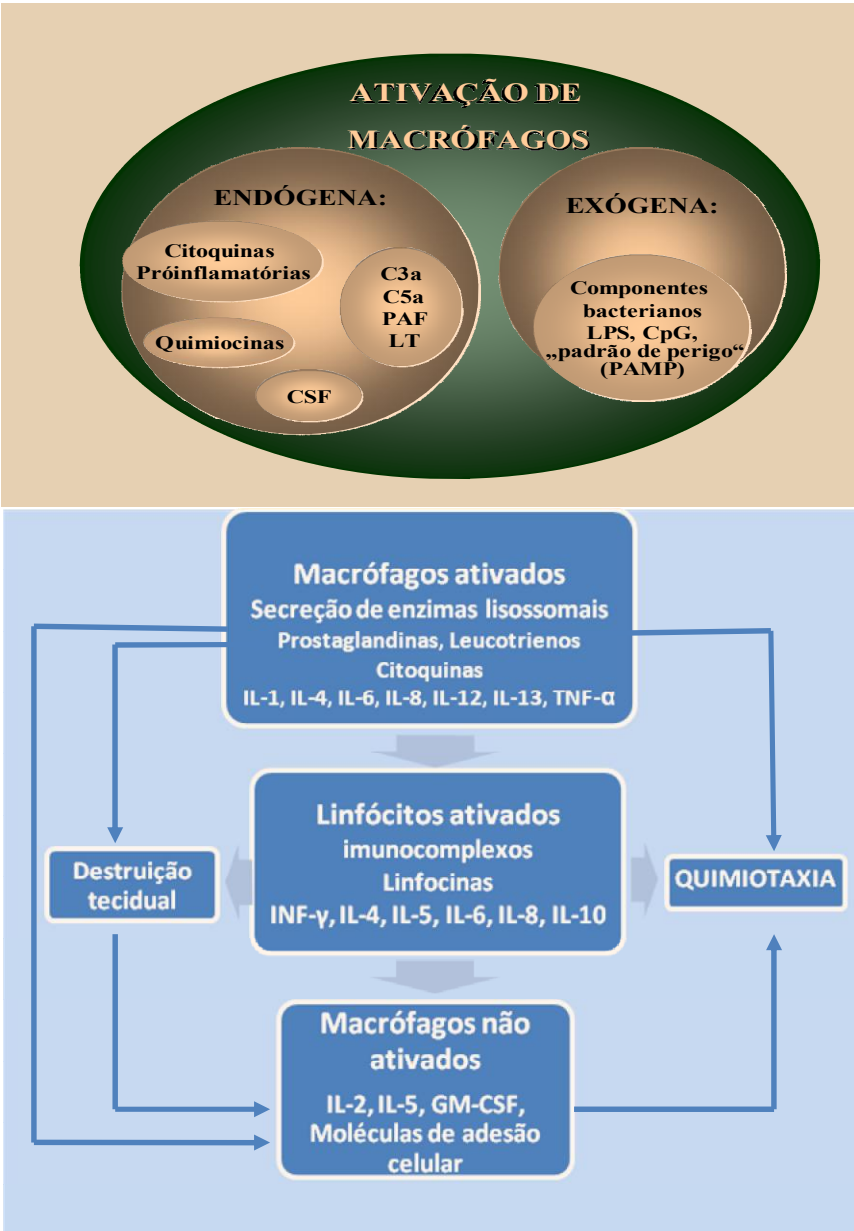


Fig.6: Interação entre macrófagos e linfócitos nas lesões inflamatórias periapicais.

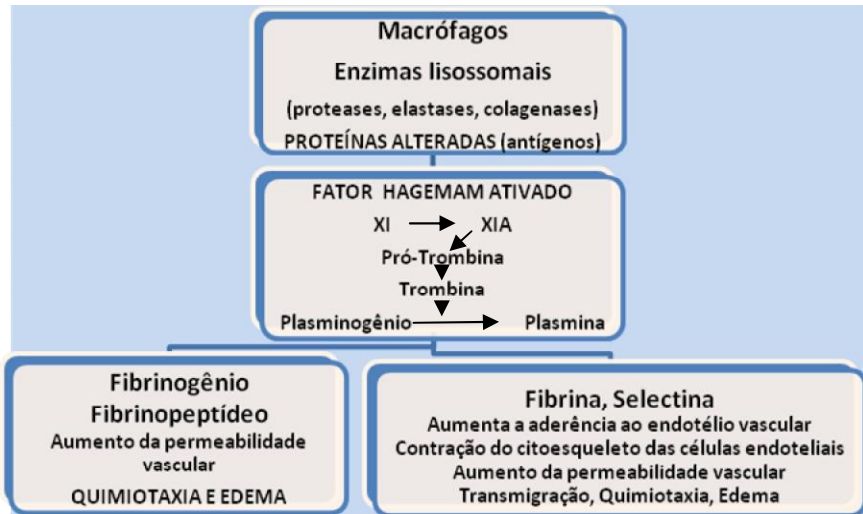


Fig. 7: Mecanismo de formação de fatores quimiotáticos via geração de fibrina.

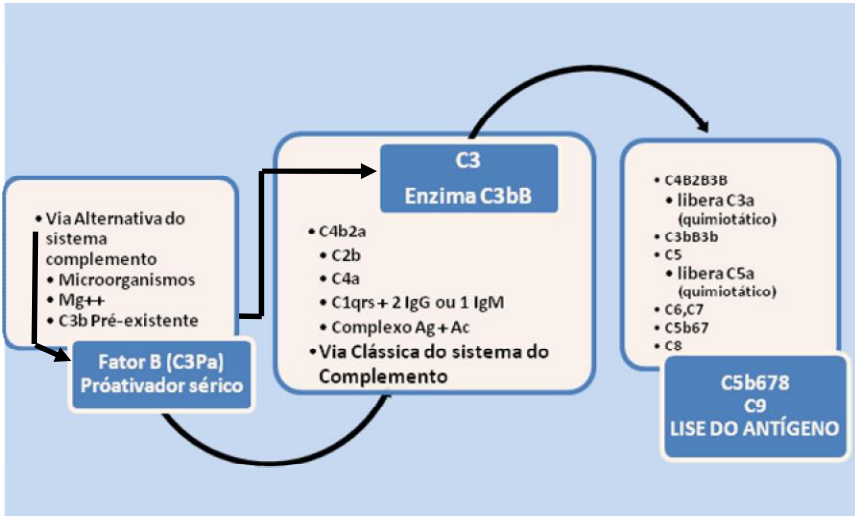


Fig. 8: Geração de fatores quimiotáticos pelas vias clássica e alternativa do sistema do complemento.

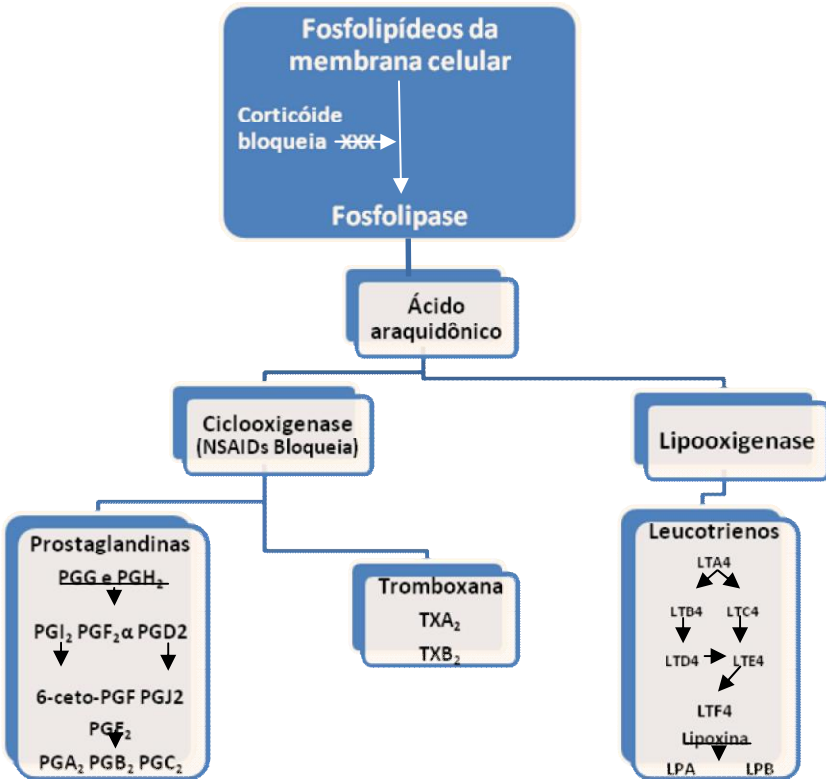


Fig. 9: Metabolismo do ácido araquidônico.

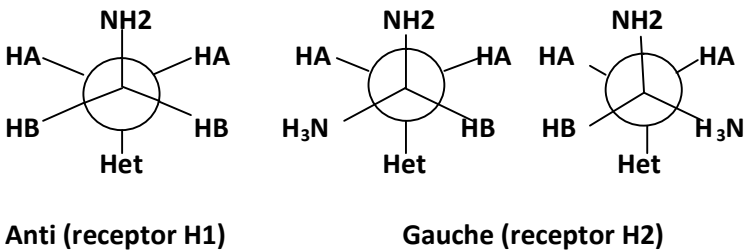


Fig. 10: Configuração anti e gauche da histamina e os respectivos receptores.

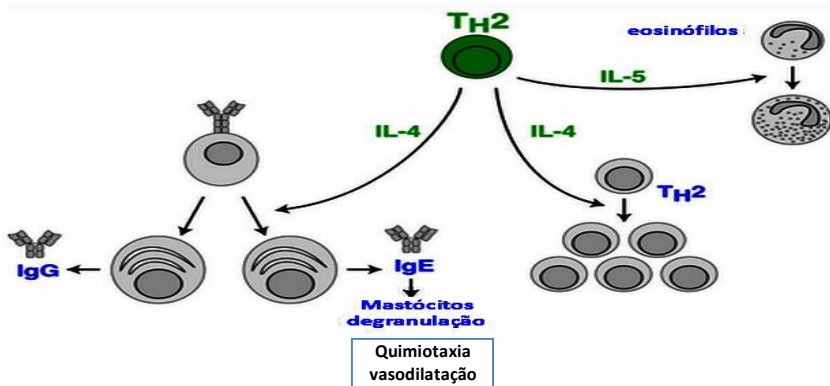
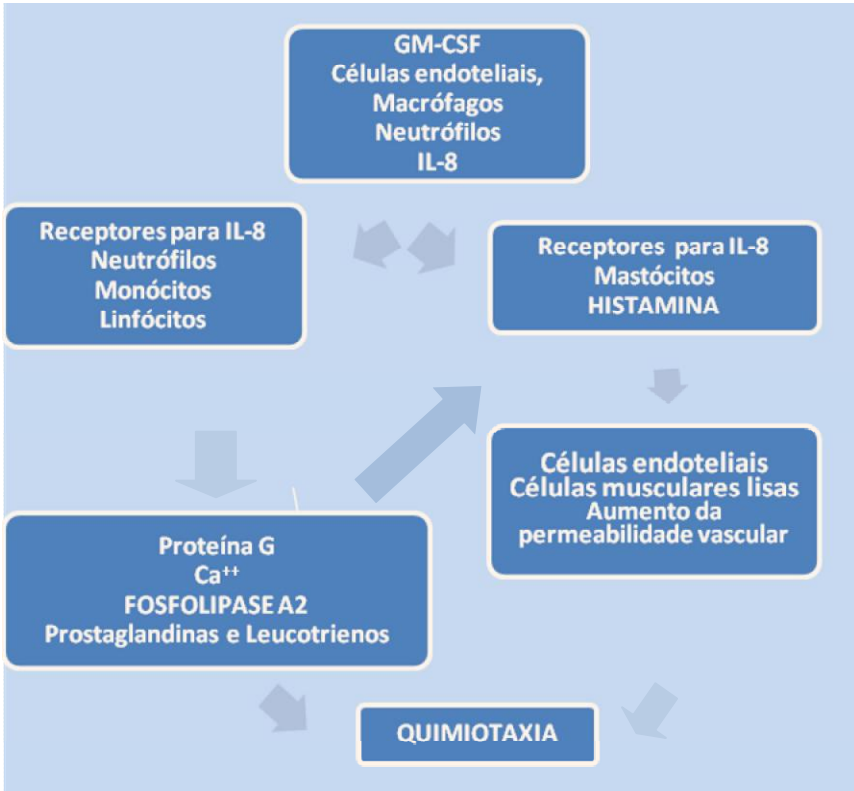
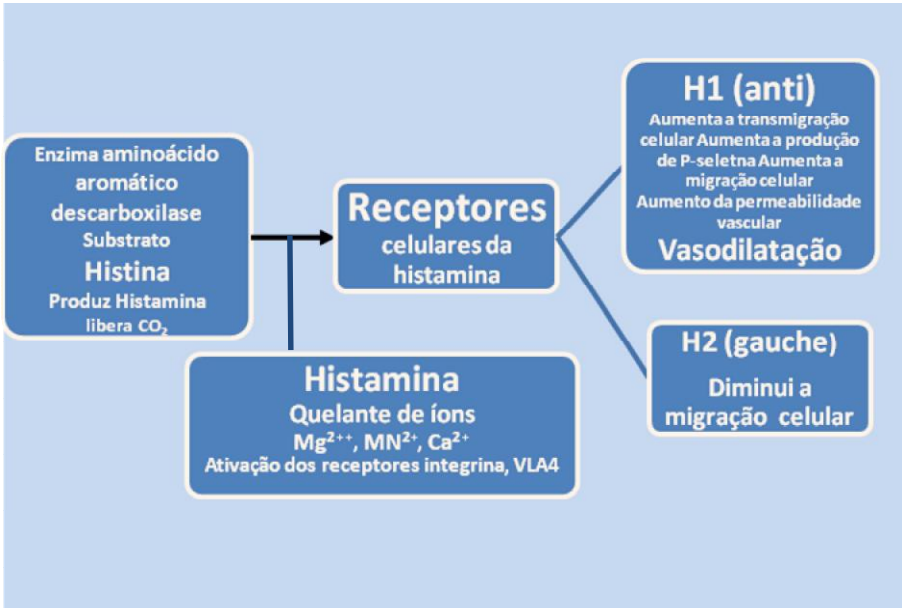


Fig. 11: Estímulo da quimiotaxia induzida pela IL-8 e degranulação de mastócitos via sistema imune.

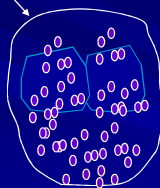


Aminas vasoativas

Histamina

- Mastócitos, Basófilos, Plaquetas -

Física
Imune
Complemento
Citoquinas
WBC produtos



Degranulação

- Vasodilatação transitória (10-15 min)
- Permeabilidade vascular aumentada

Fig. 12: Síntese da histamina e principais efeitos biológicos.

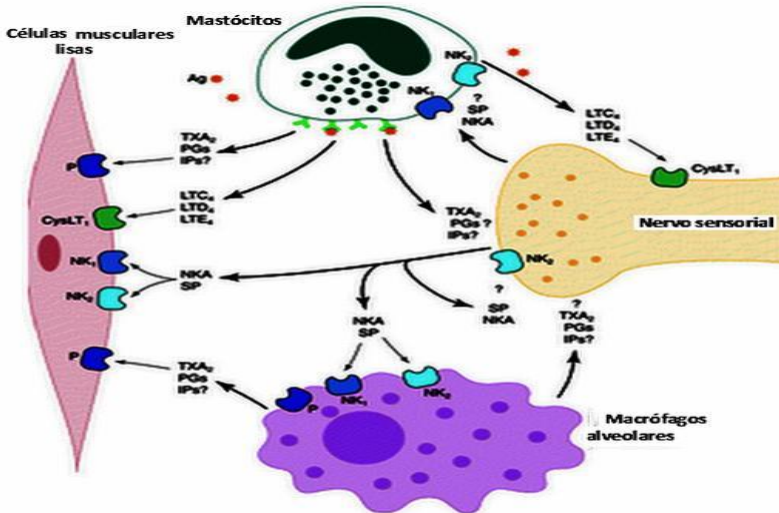
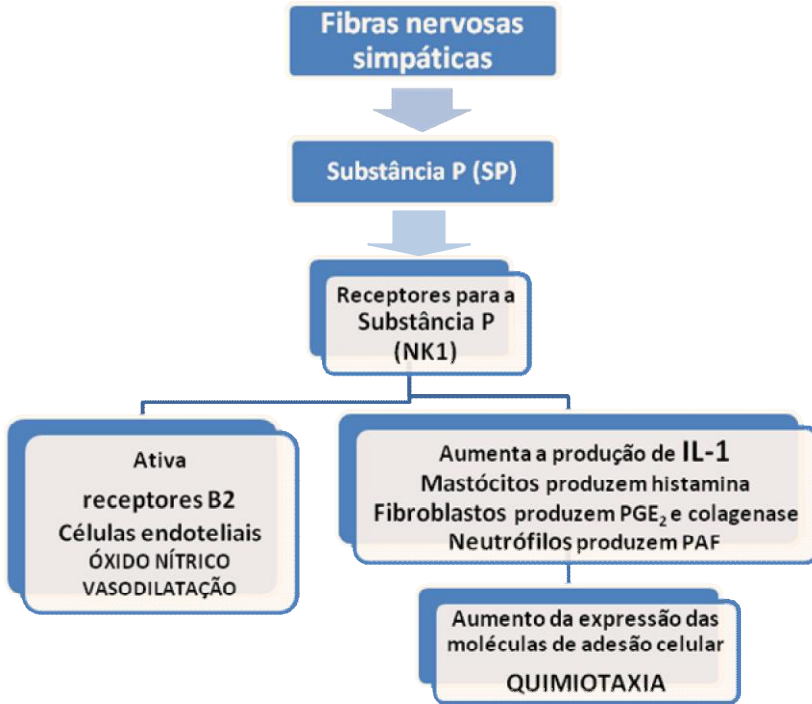


Fig. 13: Mecanismos de estimulação da quimiotaxia e aumento da permeabilidade vascular induzido pela substância P.

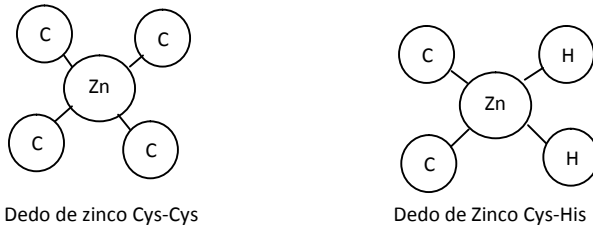


Fig. 14: Motifs dedo de zinco dos receptores esteróides.

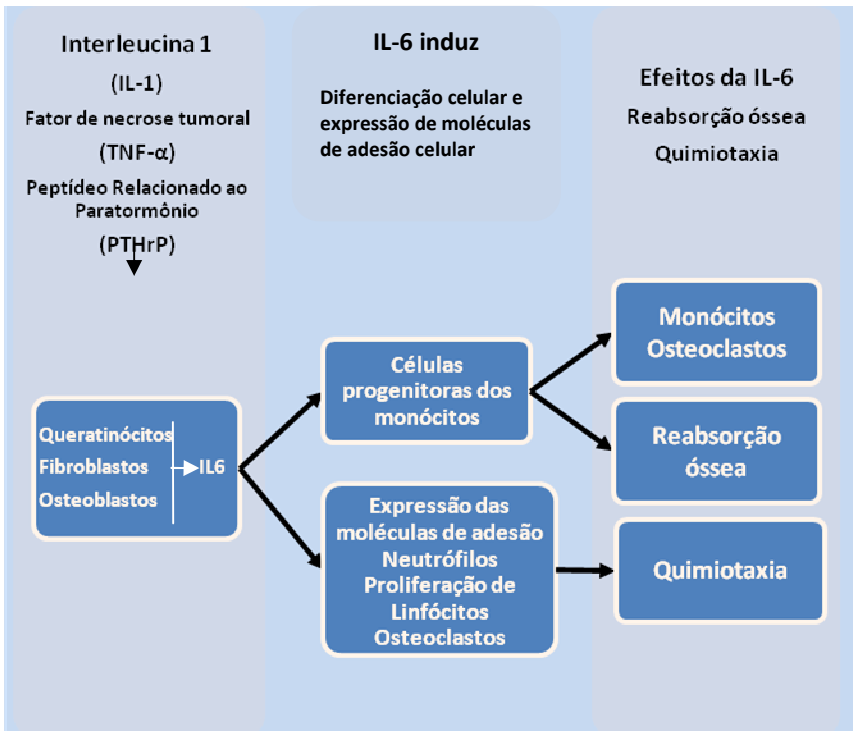


Fig. 15: Mecanismos de síntese e secreção da IL-6 e os seus principais efeitos.

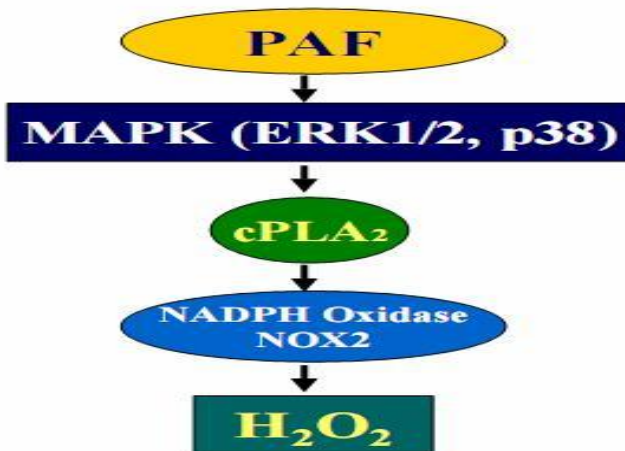
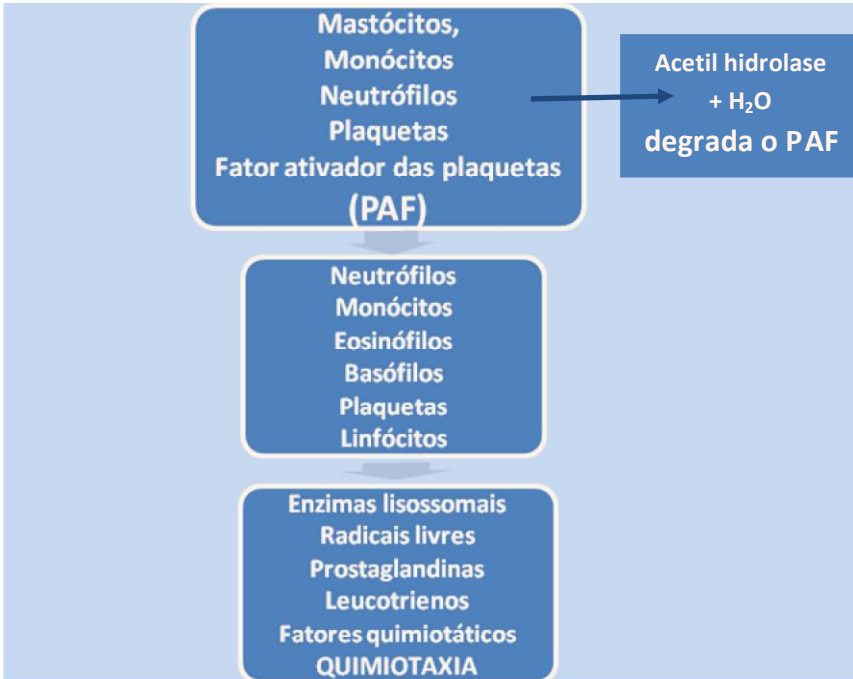


Fig. 16: Mecanismo de síntese e degradação do PAF, quimiotaxia induzida e geração de peróxido de hidrogênio (fonte de ROS).

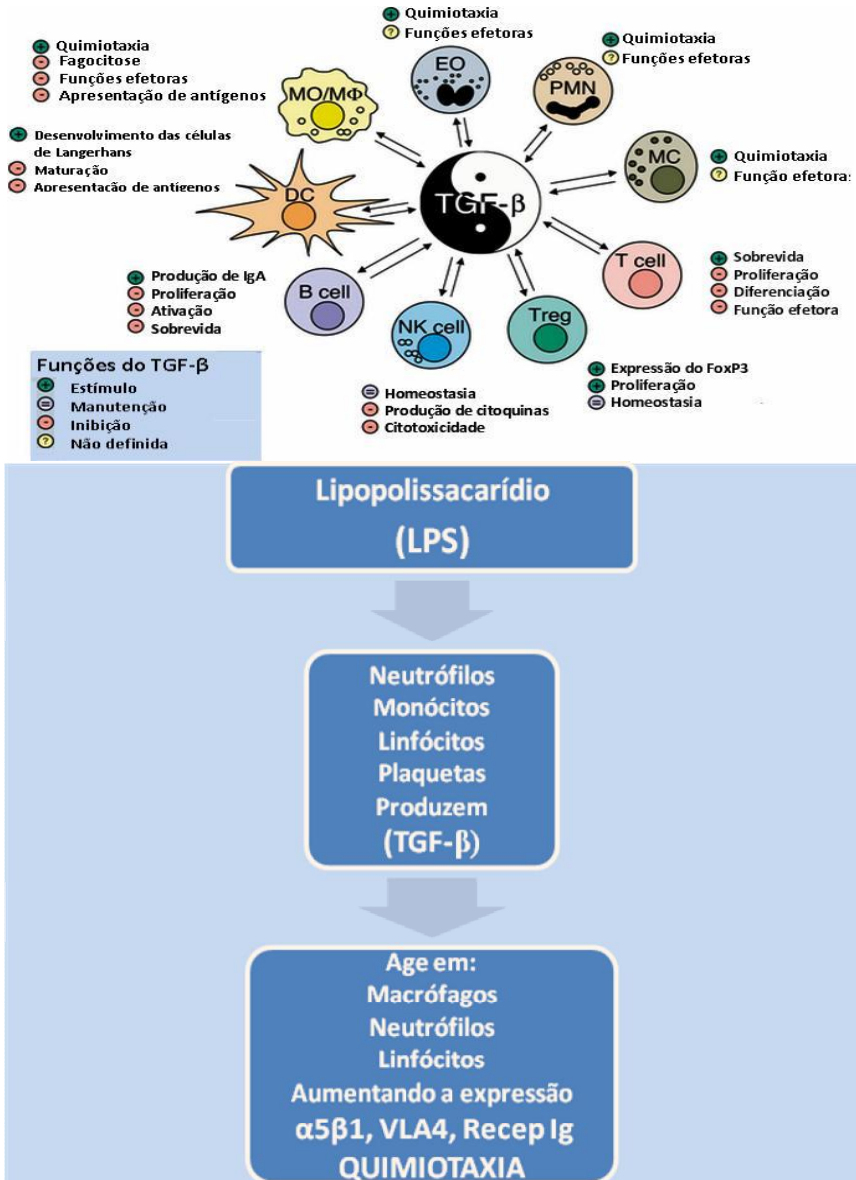


Fig. 17: Principais efeitos em diferentes células e mecanismo indutor da quimiotaxia pelo fator beta transformador do crescimento (TGFβ).

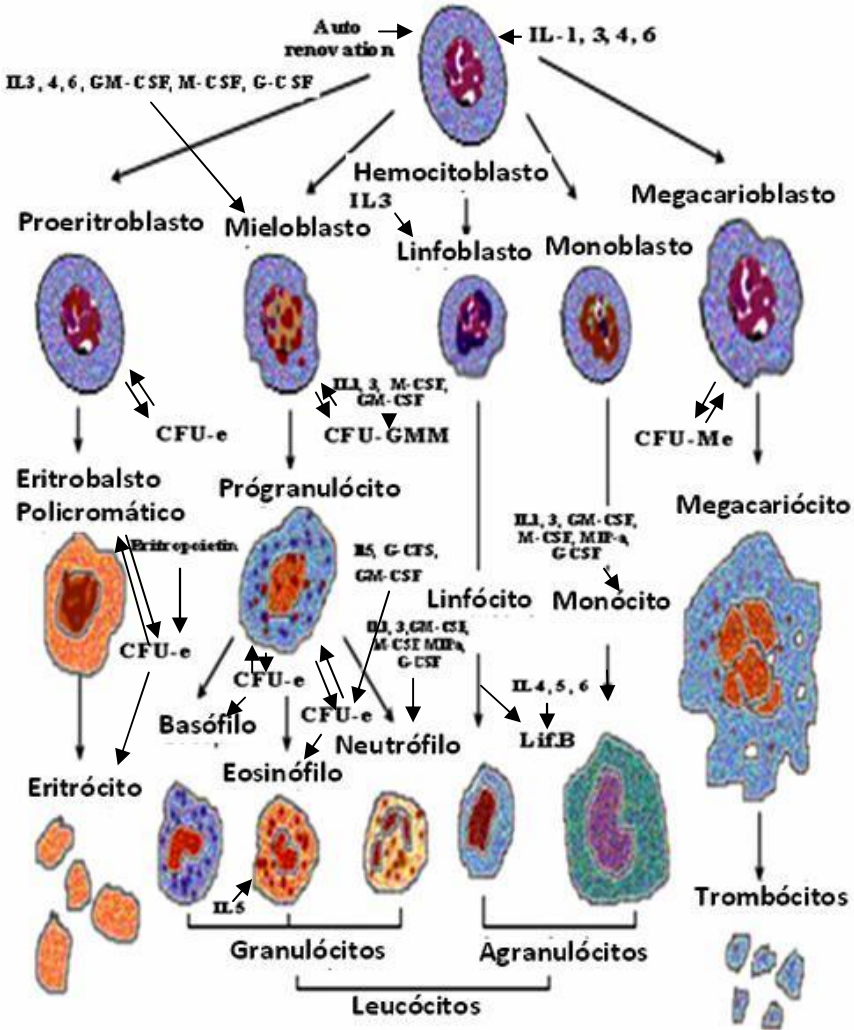


Fig. 18: Hematopoiese e fatores estimuladores de colônia das células hematopoiéticas embrionárias.



Rota sinalizadora da BMP

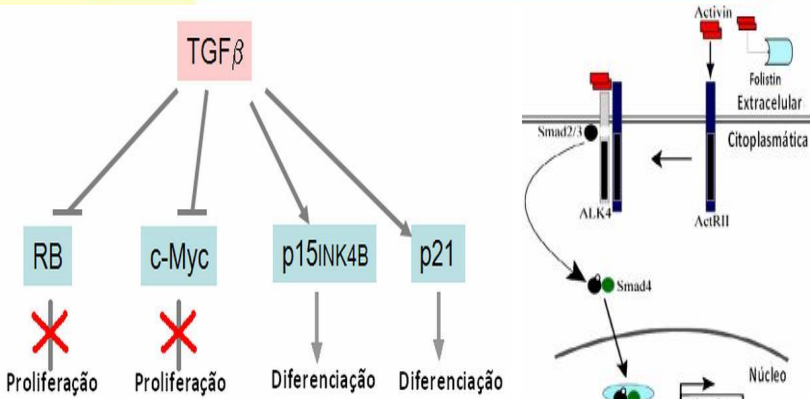
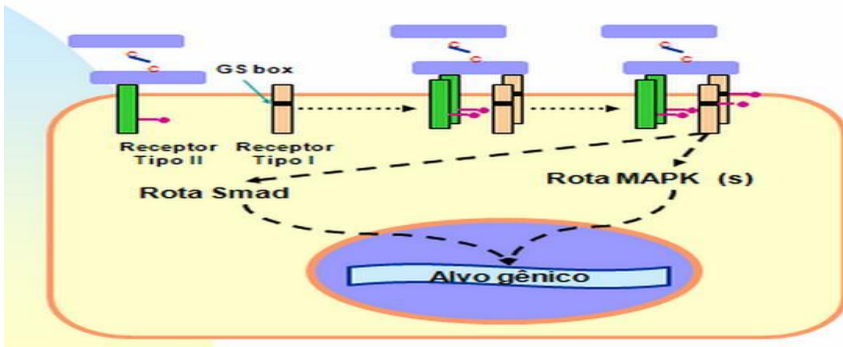


Fig. 19: Mecanismo de ação das formas difusível e não difusível dos fatores de diferenciação.



Fig. 20: Principais efeitos biológicos dos fatores estimuladores de colônia (CSFs) ao nível das lesões granulomatosas.

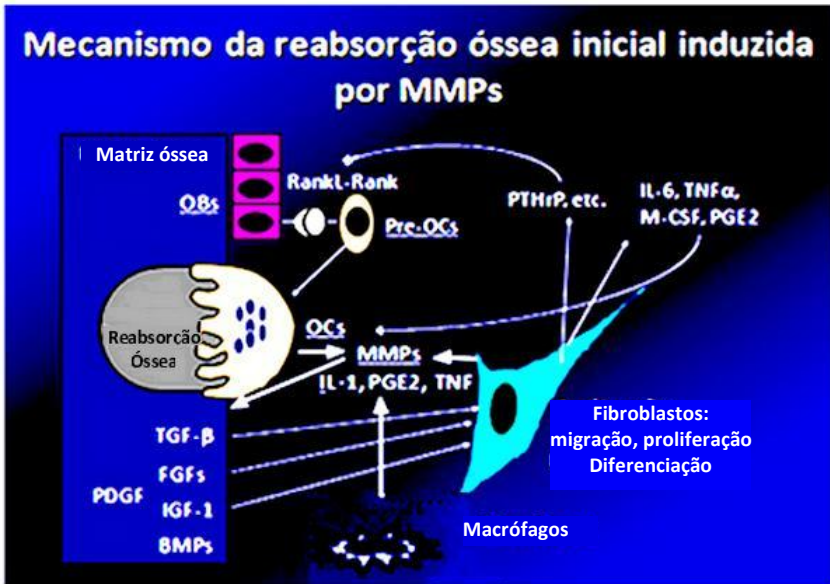


Fig. 21: Mecanismo inicial da reabsorção óssea induzido por MMPs.

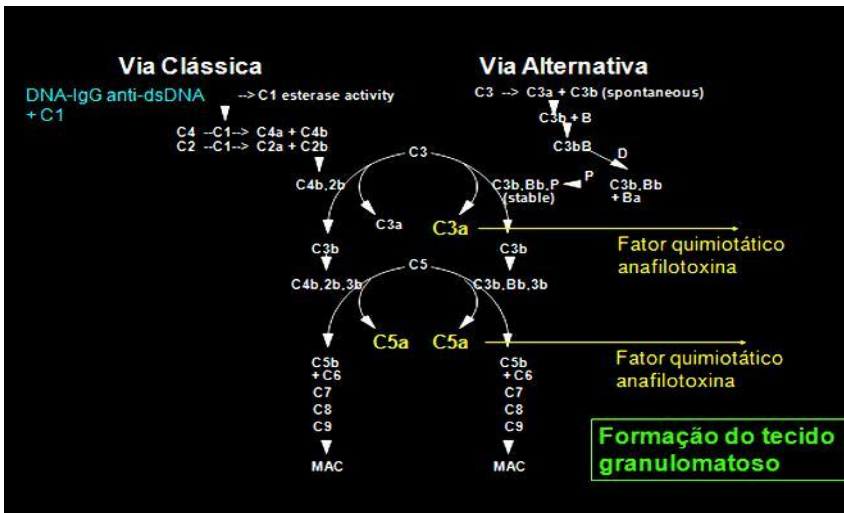


Fig. 22: Geração de fatores quimiotáticos via ativação do complemento.

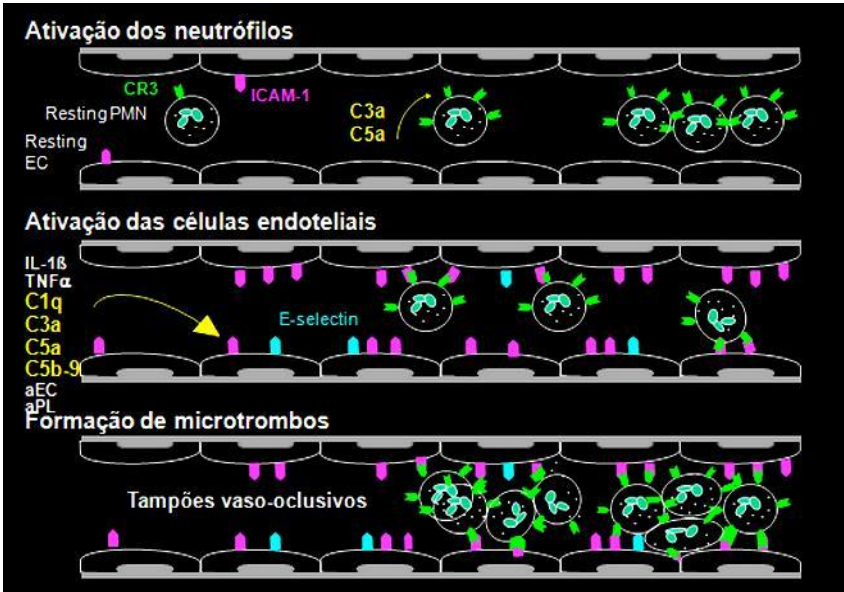
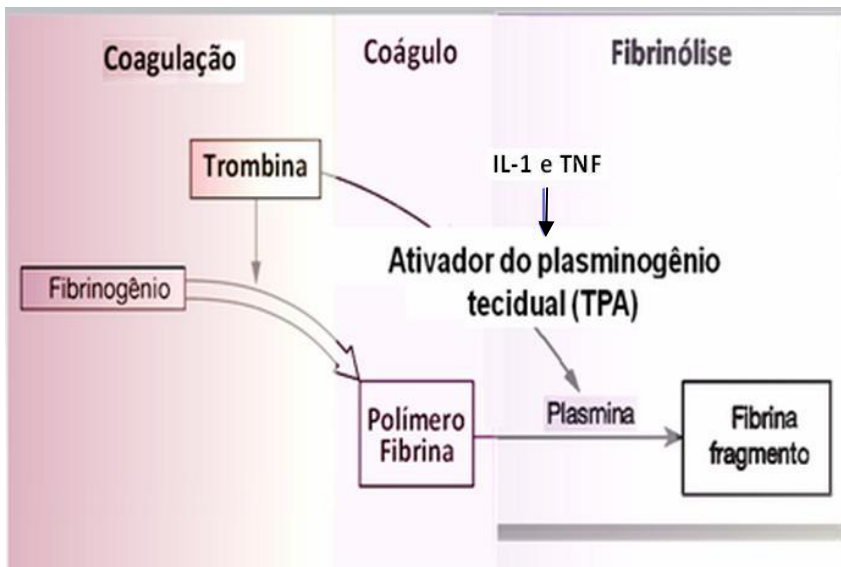


Fig. 23: ativação de neutrófilos, células endoteliais e formação de microtrombos.



24: ativação de neutrófilos, células endoteliais e formação de microtrombos.

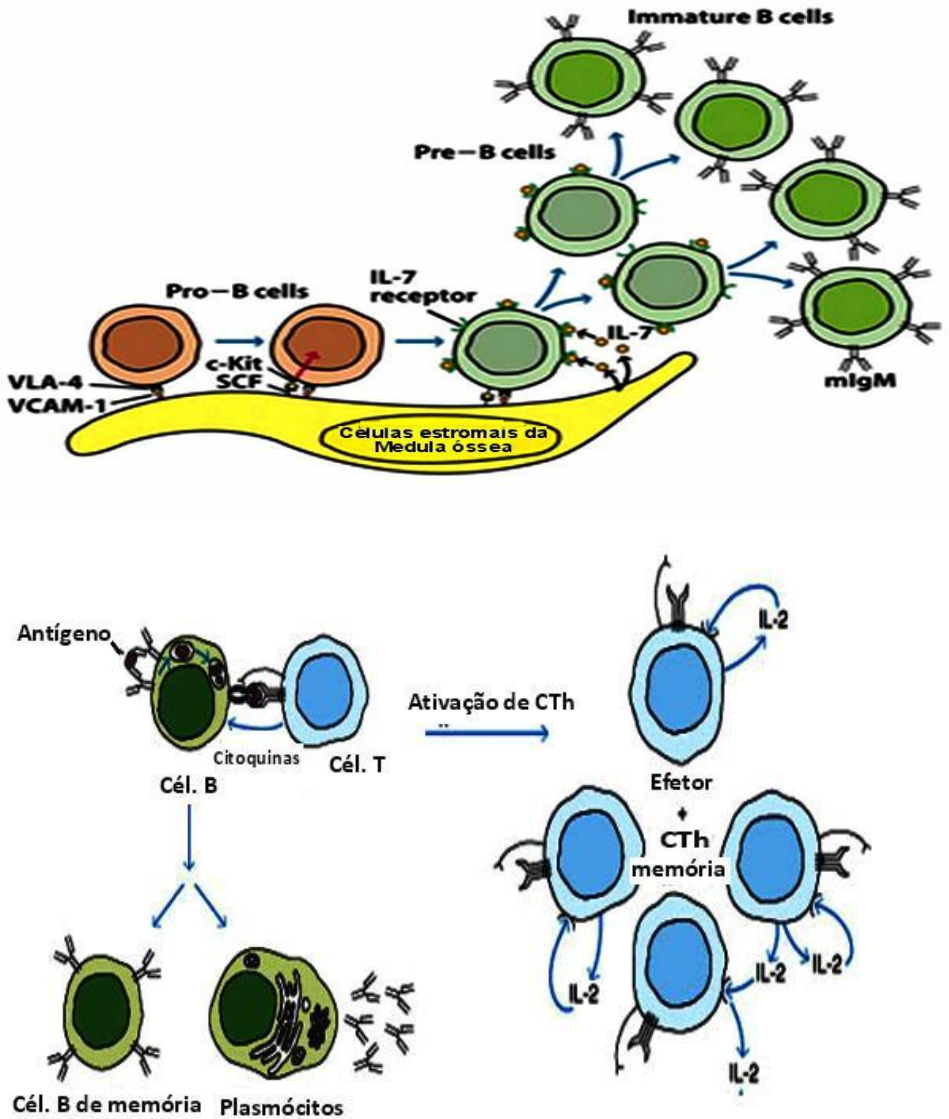


Fig. 25: Diferenciação e ativação de linfócitos B e T.

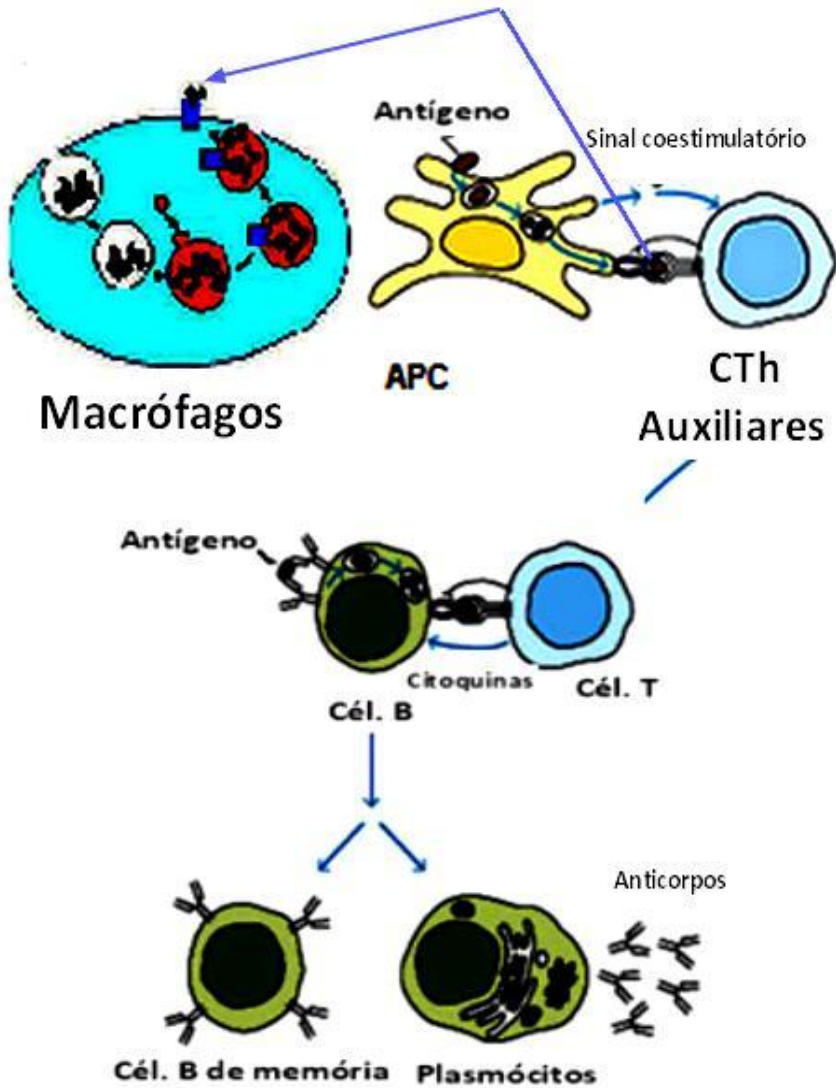


Fig. 26: Relação entre macrófagos e linfócitos (produção de anticorpos).

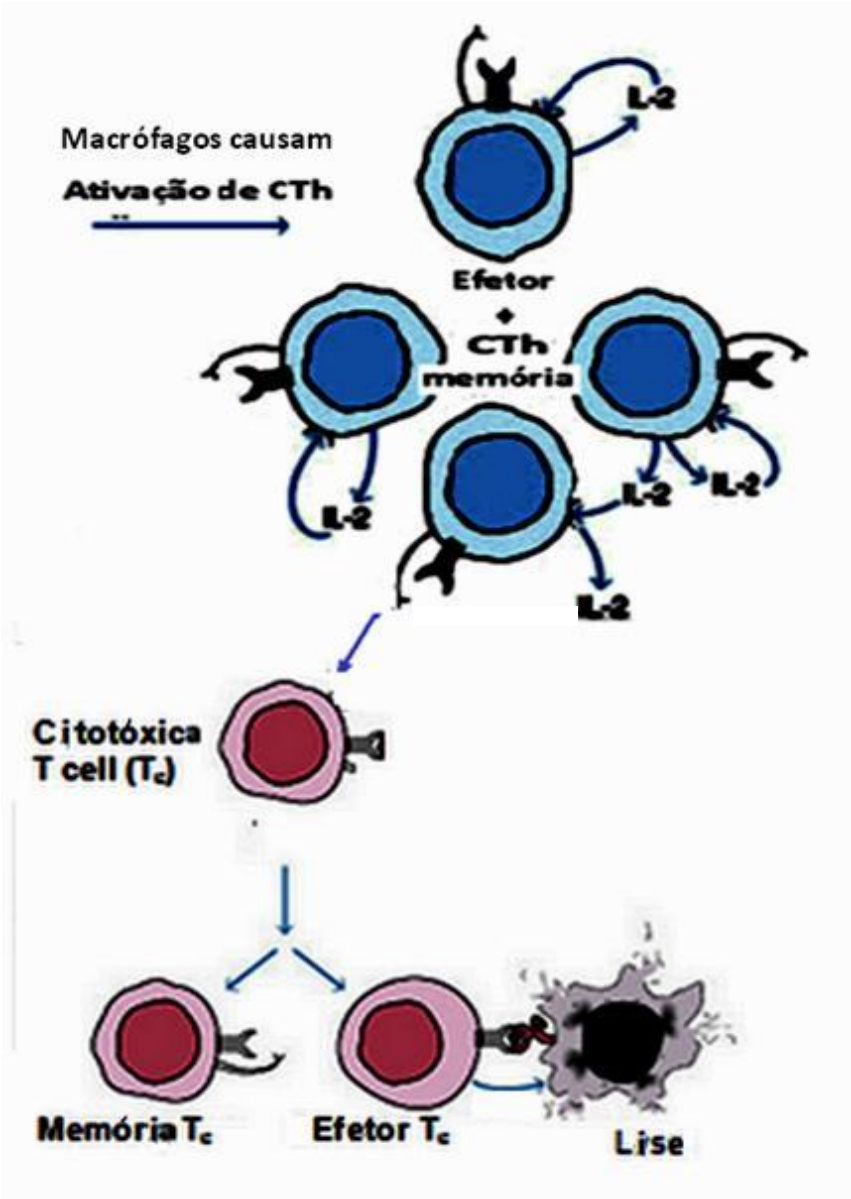
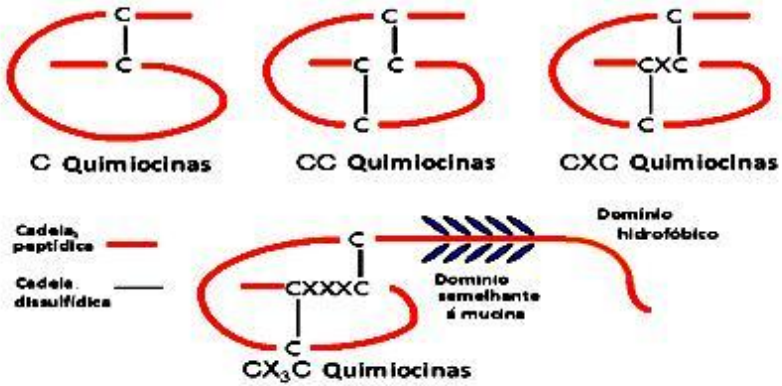


Fig. 27: Relação entre macrófagos e linfócitos (destruição celular).

Estrutura das classes de quimiocinas



Estrutura tri-dimensional das quimiocinas

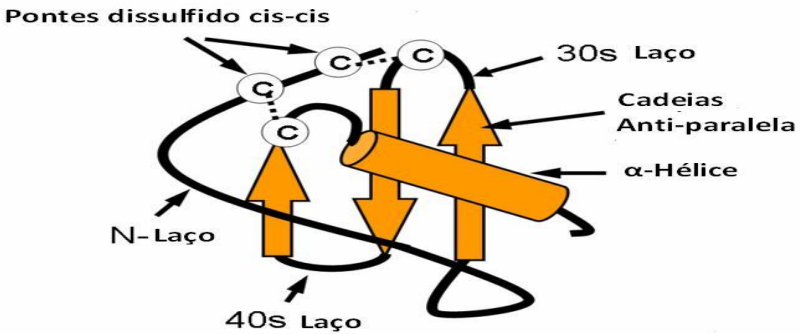


Fig. 28: Estrutura da quimiocina e influência de sua concentração.

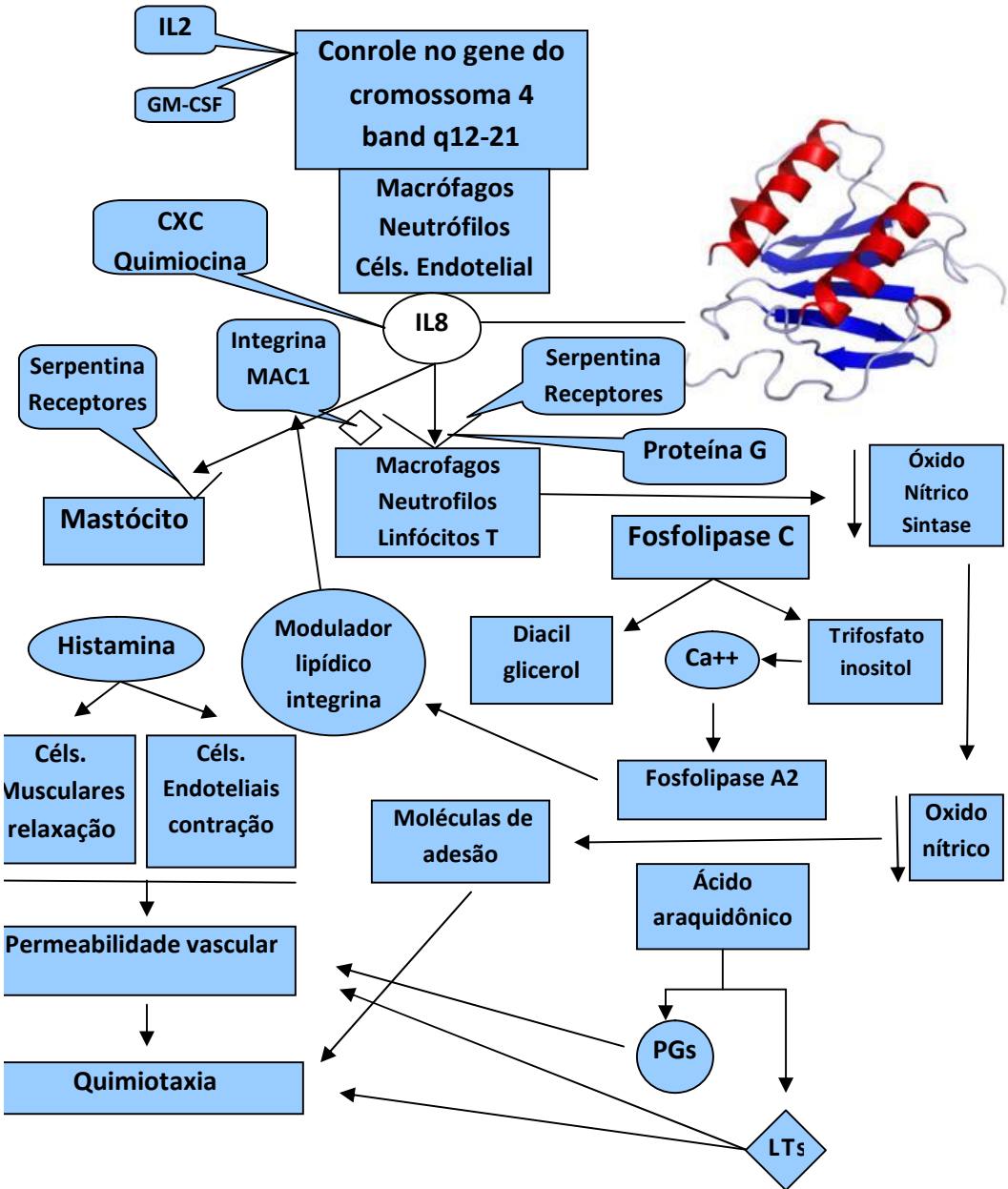


Fig. 29: Quimiotaxia induzida pela IL-8.

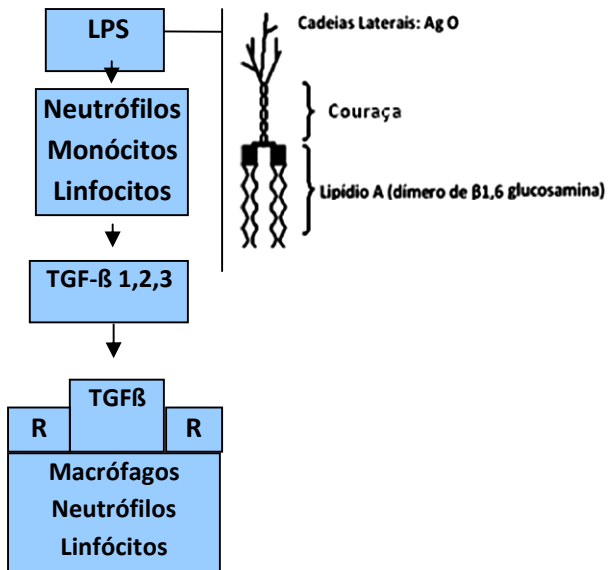
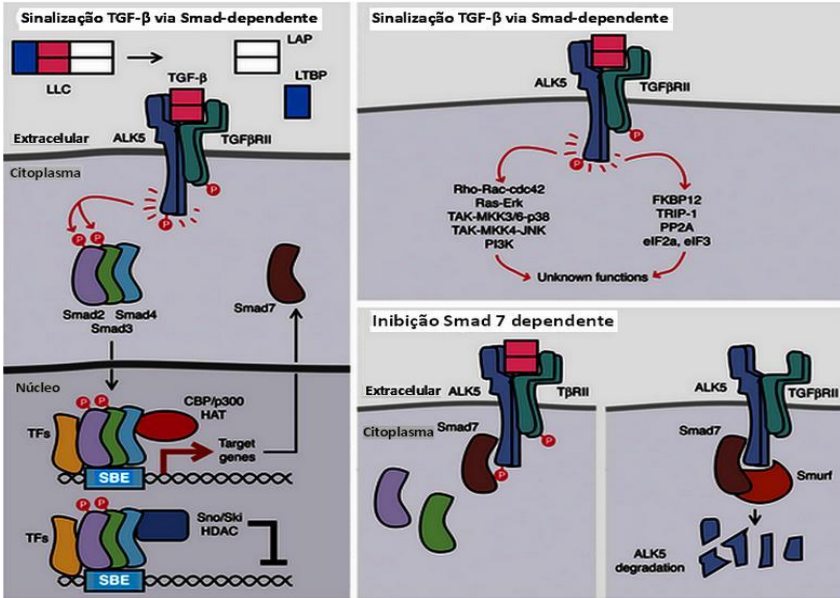


Fig. 30: Mecanismos de ativação, inibição e quimiotaxia induzida pelo TGFβ.

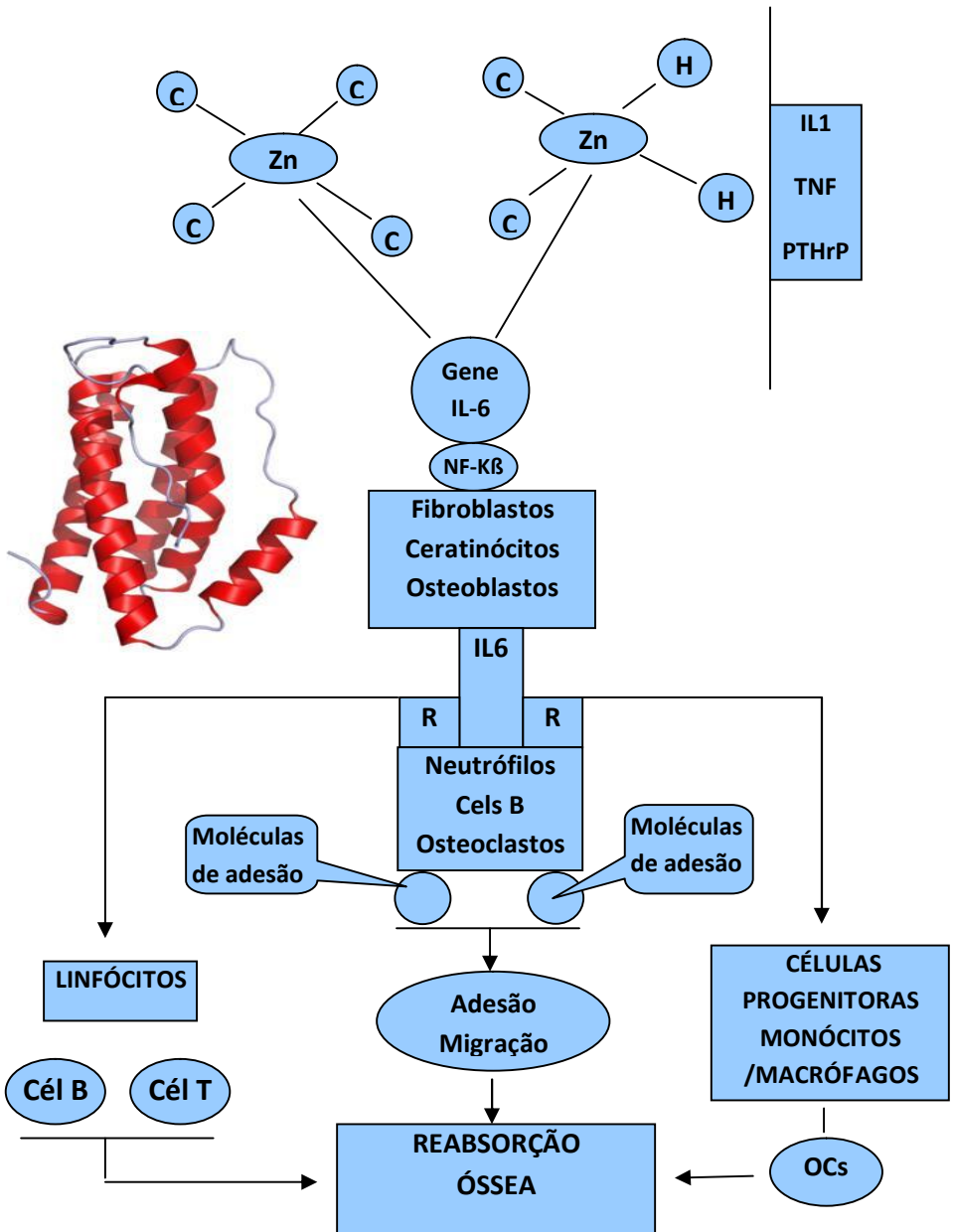


Fig. 31: Mecanismo de ação e quimiotaxia induzida pela IL-6.