

The background features a series of overlapping circles in various shades of blue, ranging from light to dark. Thin, light blue lines intersect at various points, creating a network-like structure. The circles are arranged in a way that suggests depth and movement, with some appearing to be in the foreground and others behind. The overall aesthetic is clean and modern.

Capítulo 2

**Eventos iniciais envolvidos na
formação das lesões
inflamatórias periapicais**

Mecanismos iniciais envolvidos na formação das lesões inflamatórias periapicais

As lesões inflamatórias periapicais decorrentes da necrose da polpa dental são induzidas por agentes biológicos tais como os microorganismos da microbiota intracanal (praticamente os mesmos que provocaram a pulpíte e, que, anteriormente, induziram a cárie dental).

O mecanismo flogogênico induzido por esses microorganismos conjuntamente com os produtos da decomposição tecidual, também, tem participação no mecanismo fisiopatológico de formação da doença periodontal e osteomielites; bem como na produção de mediadores químicos diretamente envolvidos no processo de formação e reabsorção óssea.^{1,2}

Na região periapical, tal mecanismo, é exacerbado pela agressão local causada por soluções químicas irrigantes usadas no tratamento endodôntico e por produtos tóxicos decorrentes do metabolismo bacteriano de microorganismos que, eventualmente, penetram nessa região.

Inicialmente, caracteriza-se por vasoconstrição imediata seguida de vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e transmigração celular (vasculite exsudativa aguda inicial). Em tal situação há o alargamento de pequenos poros de 6 nm de raio e de fendas de 8 nm de extensão, localizadas entre as células endoteliais, por fatores de permeabilidade vascular, genericamente, denominados de mediadores químicos da inflamação, que, ao induzirem a contração das células endoteliais, permitem o escape de proteínas plasmáticas necessárias à formação do exsudato inflamatório.

Tal exsudato pode ser analisado pela injeção intravenosa de corantes (Azul de Evans) que se fixam nas proteínas plasmáticas extravasando-se das vênulas e capilares com aumento da permeabilidade vascular, acumulando-se no tecido subcutâneo da região dorsal de ratos (teste edemogênico). Processo similar ocorre ao nível do tecido periapical.

Fase exsudativa inicial (participação das plaquetase células endoteliais)

No controle da permeabilidade vascular, em sua fase inicial, ressaltam-se as plaquetas e células endoteliais, pois a despeito da relativa simplicidade estrutural do endotélio vascular, as células que o constituem são funcionalmente e metabolicamente ativas, desempenhando função importante no controle das fases agudas e crônica da resposta inflamatória induzida no tecido granulomatoso periapical por agentes flogogênicos oriundos do canal radicular.

Produtos biologicamente ativos sintetizados e secretados pelas células endoteliais

Sabe-se que as células endoteliais, quando ativadas, sintetizam e secretam vários produtos biologicamente ativos capazes de aumentar ou diminuir a permeabilidade vascular, tais como: prostaciclina, trombomodulina, fatores ativadores e inibidores do plasminogênio, moléculas semelhantes à heparina, interleucina 1 (IL-1), moléculas de adesão celular, endotelinas, angiotensina, fator relaxador derivado do endotélio e fatores de crescimento.

Endotelinas

As endotelinas (ET-1, ET-2 e ET-3) são uma família de peptídeos com potentes efeitos vasoativos, produzidas por células endoteliais e células musculares lisas da parede vascular (ET-2, ET-3), que, dependendo do tipo de receptor ativado, causam vasodilação ou vasoconstrição.

Ativação dos receptores das endotelinas

Os receptores das endotelinas são macromoléculas localizadas na membrana celular que reconhecem o ligante endógeno ou drogas (medicamentos). A função desses receptores macromoleculares e a especificidade dos locais na molécula do receptor pelo ligante endógeno são determinadas geneticamente, de maneira que a sua ligação ao receptor causa perturbação ou alteração de estado na molécula do receptor, ou nas suas proximidades, ou em ambas, iniciando uma série de eventos que causam a resposta biológica (vasodilatação ou vasoconstrição).⁵⁶ (fig. 2; fig. 24, capítulo 1)

Ativação dos receptores das endotelinas produz trombina

A ativação dos receptores ETB localizados nas células endoteliais por uma baixa concentração de ET1 e ET3 induz a secreção de óxido nítrico e prostaciclina causando vasodilatação; aumento da permeabilidade vascular e exsudação plasmática, cujos fatores de coagulação contidos no plasma extravasado estimulam a via extrínseca da coagulação produzindo trombina (protease serina, que hidrolisa 4 ligações peptídicas entre os aminoácidos arginina-glicina do fibrinogênio) e fibrina, resultando na geração de mediadores vasoativos e quimiotáticos, tal como o fibrinopeptídeo formado em consequência da remoção das cadeias A ou B da molécula do fibrinogênio pela trombina.³ (fig. 1)

Efeitos biológicos da trombina

A trombina ativa as enzimas co-oxigenase, em plaquetas, resultando no aumento da concentração intracelular de cálcio, produção de prostaglandinas e tromboxanas, bem como induz a expressão do receptor para glicoproteína IIb e IIIa, resultando em agregação plaquetária. (figs. 39, 40, 41 e 42)

A trombina também induz a clivagem da osteopontina causando efeito quimiotático. Aumenta as propriedades adesivas e estimuladoras da migração celular apresentada pela osteopontina, porquanto essa

proteína não colagênica presente na matriz orgânica óssea, na sua forma clivada, é ligante de receptores para proteínas da matriz extracelular, tais como: vitronectina, fibrinogênio, trombospondina e fator de Von Willebrand.⁴ (fig. 3)

O aumento da concentração da fibrina ativa o fator ativador do plasminogênio causando aumento da permeabilidade vascular

O aumento da concentração de fibrina, ao nível do tecido granulomatoso periapical, ativa o fator ativador do plasminogênio tecidual (tPA), transformando-o em plasmina, causando fragmentação da fibrina e da matriz extracelular; ativação das metaloproteinases e do fator ativador do plasminogênio do tipo uroquinase (uPA), causando destruição tecidual, geração de fatores quimiotáticos (C3a e C5a), vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular. (fig. 4)

Regulação molecular da permeabilidade vascular por endotelinas

O mecanismo bioquímico responsável pelo efeito vasodilatador produzido pelas endotelinas (ETs) é o aumento da concentração intracelular de cálcio, necessário ao fornecimento de energia pela ATPase; enzima cuja atividade é dependente desse íon fornecendo energia necessária ao funcionamento de outra enzima (óxido-nítrico-sintase) cujo produto enzimático (óxido nítrico) é um potente agente vasodilatador.⁵ (figs. 5 e 6)

Há uma relação direta entre o aumento da concentração intracelular de cálcio e a síntese de prostaglandinas, porquanto o aumento concentração de AMPc, decorrente da estimulação da adenilciclase por prostaglandinas, produz aumento do fluxo desse íon através da membrana celular, potencializando a produção de óxido nítrico pela óxido-nítrico-sintase,⁶ cuja atividade além da arginina, ainda, é dependente da presença de cofatores essenciais, tais como: NADPH, FAD, FNM e tetrahydropterina (BH₄) (figs. 5 e 7).

Em parte, o efeito vasodilatador causado pelo aumento da concentração intracelular de AMPc diminui a resposta de contração da musculatura lisa (células musculares lisas da parede vascular), para uma determinada elevação de cálcio citoplasmático, pois o AMPc fosforila a cadeia leve quinase da miosina diminuindo sensivelmente a sua afinidade pela calmodulina dependente de cálcio²⁺.³ Nesse sistema celular e em outros, o AMPc apresenta função de um segundo mensageiro adicional ao requerimento essencial de cálcio.

O AMPc também é um potente regulador alostérico do funcionamento de várias enzimas, particularmente, das proteínas quinases,⁶ (fig. 46) cuja ativação nas células endoteliais, causa aumento da produção de endotelina 1 (ET-1), que ao ativar os receptores ETB das células endoteliais produz vasodilatação, porquanto ativa a fosfolipase C, aumentando a concentração intracelular de AMPc e de Ca⁺², estimulando a atividade da calmodulina e a produção de óxido nítrico (ON) pela óxido-nítrico-sintase (Nos).⁷ (fig. 5, 6 e 7)

Citoquinas e fatores de crescimento estimulam à síntese de óxido nítrico

Citoquinas e fatores de crescimento, tais como IFN- γ , TNF- α , IL-15, IL-2 e IL-1 aumentam a síntese e secreção de óxido nítrico (ON), pois ativam a glicólise anaeróbica, bloqueando a aeróbica, enquanto outras citoquinas (IL-4, IL-10, IL-22 e TGF- β) agem como moduladores, visto que podem tanto aumentar quanto diminuir a síntese e secreção de óxido nítrico (ON). A IL-13 apresenta efeito dual: na presença do fator estimulador de colônia macrófágico-granulocítico (CSF-GM) inibe a produção de óxido nítrico. Contudo, conjuntamente com lipopolissacarídeos e fator estimulador de colônia macrófágico (M-CSF), estimula a produção de óxido nítrico.

Outras moléculas reguladoras da permeabilidade vascular

Várias outras citocinas e fatores de crescimento liberados pelas demais células presentes no tecido periapical (fibroblastos, macrófagos, neutrófilos e eosinófilos) podem agir paracrinamente nas células endoteliais e musculares lisas da parede vascular, ativando receptores responsáveis pela vasoconstrição ou vasodilatação; conseqüentemente, aumentando ou diminuindo a permeabilidade vascular.

Moléculas vasoconstritoras

Dentre as moléculas indutoras de vasoconstrição, destacam-se: o fator 1 de contração derivado do endotélio (EDCF-1) e o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF).

Moléculas vasodilatadoras

A substância P (SP), o peptídeo relacionado com o gene da calcitonina (CGRP), e o leucotrieno E4 (LTE4), entre outros, produzem vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular.

Moléculas de adesão celular

As moléculas que medeiam a adesão celular são complexos de multiproteínas, compreendendo três classes de macromoléculas: 1) - **receptores de adesão celular**; 2) - **moléculas da matriz extracelular**; 3)- **proteínas da placa de adesão**.

Receptores de adesão celular

Os receptores de adesão celular são glicoproteínas que medeiam a ligação nas moléculas da matriz extracelular (ECM) e nos seus contrareceptores em outras células, determinando a especificidade da

interação célula-célula ou célula-matriz extracelular. Em outras palavras, estão envolvidas na conexão entre a célula e o seu envolvimento externo. Todos os quatro tipos de moléculas de adesão (**integrinas, IgSF, caderinas e selectinas**) apresentam o potencial para desenvolver esse tipo de função.

Composição da ECM

A matriz extracelular (ECM) é composta principalmente de fibras estruturais (**colágenas e elásticas**), matriz (**proteoglicanos**), moléculas de adesão (**fibronectina e laminina**) e receptores (**integrinas**).

Fibras estruturais

As **fibras colágenas** são um importante **componente estrutural** da matriz extracelular. É constituída por uma série de fibras protéicas irregulares com forma de tríplice hélice dispostas repetitivamente. A **elastina** é uma proteína fibrosa que confere **elasticidade** a estrutura da EMC, ligando-a transversalmente. É particularmente proeminente nos tecidos flexíveis, tais como pele, pulmões e intestino. Com o avançar da idade a sua síntese e secreção é diminuída. (fig. 31).

Proteoglicanos atuam como o amortecedor da EMC

Mais de 95% são constituídos por carboidratos (glicoaminoglicanos, que se ligam às moléculas de água. São oxigênio-ligados à serina e treonina); agem como uma almofada, promovendo o amortecimento das forças incidentes. Podem ligar 50% do seu peso em água e estão unidos transversalmente por moléculas de ácido hialurônico. (fig. 32)

Proteínas da matriz extracelular (ECM)

As proteínas da “ECM” são usualmente fibrilares promovendo uma rede estrutural e funcional, que pode interagir simultaneamente com múltiplos receptores da superfície celular.

Moléculas adesivas e seus receptores

As duas mais comuns moléculas adesivas da ECM são a **fibronectina** e a **laminina**. Unem-se ao colágeno, aos proteoglicanos e à superfície celular.

Fibronectina

A fibronectina é uma família de glicoproteínas que liga as células à matriz extracelular, mediante ligação em um de seus domínios receptores (**domínio heparina, sequência RDG, domínios de ligação à superfície celular, domínio de ligação à fibrina, domínio de ligação ao colágeno e domínios de ligação à heparina e fibrina**). A integrina liga-se à fibronectina através do domínio receptor RDG. A fibronectina também apresenta a função de comunicar o interior com o exterior da célula. (fig. 33)

Laminina

Liga as células à membrana basal. A molécula de laminina é constituída por três cadeias: uma vertical (α) e duas horizontais (β e γ). Possui **um domínio receptor** para a superfície celular localizado na extremidade superior da cadeia vertical (α) e **dois domínios para o colágeno IV** localizados nas extremidades direita e esquerda das cadeias horizontais (β e γ). A cadeia horizontal (γ) ainda possui um **domínio receptor para entactina**. Na extremidade inferior da cadeia vertical (α) há um

receptor com duas superfícies: a superfície esquerda liga a heparina ou heparan sulfato, e a direita liga a superfície celular. (figs. 34 e 35)

Complexos de adesão celular

Não são simplesmente entidades estruturais estáticas. São unidades dinâmicas capazes de capturar e integrar sinais do ambiente extracelular. Suas funções são precisamente reguladas por eventos bioquímicos dentro da célula. (fig. 36)

Funções da matriz extracelular

A matriz extracelular é constituída por uma rede protéica que estrutura o espaço intercelular, sendo sintetizada e secretada por células localizadas nas suas proximidades. Os efeitos da matriz extracelular são mediados por receptores localizados na superfície celular que ligam as células à matriz e medeiam os sinais químicos e mecânicos delas originados.

Integrinas

São receptores da superfície celular que interagem com a matriz extracelular (ECM) mediando vários sinais intracelulares que determinam a forma e a mobilidade, bem como regulam o ciclo celular. Desempenham função importante na ligação com outras células, assumindo função na ligação intercelular com a matriz extracelular. Além da função de ligação, desempenham importante função na sinalização de transdução, em que um tipo de sinal é transformado em outro.

As extensões citoplasmáticas de integrinas são geralmente curtas e destituídas de atividade enzimática. Consequentemente, as integrinas transduzem sinais por associação com proteínas adaptadoras, que conectam a integrina ao citoesqueleto, às quinases citoplasmáticas e aos receptores dos fatores de crescimento. (figs. 28 e 33)

As integrinas que sinalizam e estruturam o citoesqueleto estão intimamente ligadas. Quando as integrinas ligam a matriz extracelular, tornam-se agrupadas no plano da membrana celular e associadas ao citoesqueleto e a complexos de sinalização que promovem a estruturação dos filamentos de actina ($\alpha\beta4$ integrina associada com os filamentos de queratina, mediante um único e volumoso $\beta4$ citodomínio). (fig. 33)

A reorganização dos filamentos de actina em grandes fibras de tensão produz mais agrupamentos de integrinas aumentando a ligação e a organização da matriz extracelular, resultando em agregados constituídos por ECM proteínas, integrinas e proteínas do citoesqueleto em cada lado da membrana. Tais agregados podem ser detectados por microscopia de imunofluorescência, sendo conhecidas como adesões focais e contatos da matriz extracelular. Desta maneira, as integrinas servem como moléculas integradoras da ECM e o citoesqueleto.

Integrinas expressas em células endoteliais

Pelo menos 8 integrinas são expressas em células endoteliais em diferentes estágios da formação, crescimento e maturação: receptores para fibronectina: $\alpha5\beta1$; receptores para vitronectina: $\alpha v\beta3$ e $\alpha v\beta5$, receptores para o colágeno: $\alpha1\beta1$ e $\alpha2\beta1$; receptores para laminina: $\alpha3\beta1$ e $\alpha6\beta4$; e, receptores para trombopondina: $\alpha4\beta1$ e $\alpha6\beta1$. Em geral integrinas de adesão às proteínas da ECM tal como fibronectina, colágeno IV e laminina promovem angiogênese.

Eventos mediados pela Adesão Focal Quinase (FAK)

FAK é uma ligação ancorada dinâmica que liga as células à matriz extracelular através da integrina. O prolongamento citoplasmático da integrina liga-se ao filamento de actina através de outras proteínas. A ligação de um ligante extracelular, tal como fibronectina ou laminina

pode ativar as proteínas quinases tal como FAK transmitindo sinais através da célula para o núcleo. É uma importante molécula sinalizadora de transdução de aproximadamente 125 kDa, que contém um domínio central quinase; um domínio C-terminal tendo duas sequências; e, uma região requerida para o alvo da adesão focal denominada de sequência FAT.

FAK assume fundamental importância na sinalização mediada por integrinas

Estudos de imunofluorescência demonstram que a FAK se colocaliza com proteínas tal como talina e tensina, em locais focais de adesão de fibroblastos. (fig. 28) Estudos de imunoprecipitação também demonstram que a FAK sofre aumento na fosforização da tirosina, promovendo adesão à fibronectina ou a agregados de integrinas mediados por anticorpos. Além disso, os efeitos mediados por integrinas e a fosforização da tirosina em eventos mediados pela adesão focal quinase (FAK) é aumentada por numerosos receptores de superfície celular não integrina, incluindo os receptores dos fatores de crescimento acoplados à tirosina quinase e à proteína G. Resumindo: a ativação das tirosinas quinases é a chave (gatilho) para o sinal de transdução mediado por integrinas.

Regulação molecular da migração transendotelial

As células endoteliais também reagem à estimulação de citocinas próinflamatórias (IL- β , TNF- α) aumentando a expressão da E-seletina, molécula 1 de adesão intercelular (ICAM-1) e da molécula de adesão celular vascular (VCAM-1), intensificando a adesão dos leucócitos ao endotélio vascular.⁸ No processo de migração transendotelial dos neutrófilos participam a integrina beta 2 (CD18) e a molécula de adesão célula endotelial-plaquetária (PECAM-1, CD31). (figs. 29, 30 e 38)

α -Trombina e a proteína associada à integrina aumentam a adesão celular

Essas citocinas, também, induzem a secreção por células endoteliais da alfatrombina (α -trombina); um mediador prócoagulante que aumenta a aderência dos neutrófilos à superfície endotelial, bem como a contração do citoesqueleto dessas células, aumentando a permeabilidade vascular e a transmigração celular.⁵⁰

Foi demonstrado que a proteína associada à integrina (IAP-CD47) é outra molécula essencial à migração transendotelial de neutrófilos, (figs. 29, 30 e 37) porquanto anticorpos bloqueadores dessa proteína inibem a migração dessas células, sem alterar a expressão das proteínas de adesão ou a produção de IL-8 pelas células endoteliais.

O efeito redutor da adesão celular de anti-inflamatórios esteróides é mediado pelo aumento da síntese de lipocortim.

Tem sido demonstrado que a migração transendotelial é mediada por uma baixa concentração de lipocortim-1, visto que o prétratamento com anti-inflamatórios esteróides (dexametasona) aumentou o nível de lipocortim nos leucócitos circulantes, fazendo com que 65% dos leucócitos aderentes ao endotélio vascular se separassem e voltassem à corrente sanguínea, enquanto que a população leucocitária restante teve o processo de diapedese, comparativamente ao grupo controle, prolongado de três a quatro vezes.⁹

Fragmentação da matriz extracelular subendotelial

Para que os neutrófilos e macrófagos consigam atingir a região periapical e fagocitar o agente flogógeno não inerte e os restos necróticos presentes na região periapical decorrentes da destruição tecidual causada pela ativação dos mecanismos de defesa de natureza imune e não imune induzidos, ainda, é necessária a destruição da matriz subendotelial (ECM).

Atividade fragmentadora da matriz subendotelial é variável segundo o tipo celular

Nesse processo, as plaquetas participam mediante a produção de heparinase, enquanto que as células endoteliais promovem a destruição tecidual mediante a síntese e secreção de enzimas tais como: proteases, heparinases e sulfatases. Em relação aos leucócitos, evidenciam-se diferenças, pois a atividade fragmentadora dos neutrófilos é superior à dos monócitos. Cada tipo de leucócito apresenta atividade enzimática predominante; sendo a atividade da heparinase, da protease e da sulfatase, respectivamente, mais acentuada nos linfócitos, neutrófilos e monócitos. (fig. 27)

Atividade enzimática fragmentadora da matriz subendotelial é influenciada por citocinas

A produção de enzimas lisossomais é influenciada por citocinas, tais como a IL-1, TNF e IL-8. Dessas, particularmente a IL-1 e o TNF aumentam a degradação da matriz extracelular (ECM) induzida por neutrófilos e células endoteliais. Contudo, inibem a fragmentação da matriz extracelular induzida por linfócitos. Já, a IL-8 aumenta a degradação da matriz celular endotelial (ECM) por neutrófilos, linfócitos e células endoteliais. Tanto a IL-1 quanto o TNF e a IL-8 estimulam as células endoteliais e monócitos à atividade da sulfatase; não obstante, em monócitos, essa atividade enzimática ter sido também induzida pelo fator quimiotático para monócitos e pelo fator ativador de macrófagos.¹⁰

Mecanismo molecular da quimiotaxia celular

Vários outros agentes produzidos pelas células endoteliais e demais células presentes no local da inflamação, bem como os agentes

quimiotáticos (fig. 14) decorrentes da ativação dos sistemas fibrinolítico e do complemento, presentes no plasma extravasado, conseqüente ao aumento da permeabilidade vascular por proteínas teciduais alteradas resultantes da secreção e ativação enzimática no foco inflamatório, ligam-se em receptores específicos na superfície da membrana celular dos leucócitos causando a ativação da proteína G e da fosfolipase C; produzindo inositol trifosfato, aumentando a concentração intracelular de cálcio,¹¹ resultando na expressão de receptores do tipo integrina na superfície celular dos leucócitos,¹² capazes de ligar proteínas da matriz extracelular inflamada, tais como: vitronectina, fibronectina, fibrinogênio, trombospondina e fator de Von Willebrand.

Efeitos biológicos (migração e secreção de enzimas lisossomais) resultantes da ativação de receptores para os fatores quimiotáticos

A ativação dos receptores para fatores quimiotáticos estimula a migração de neutrófilos, mediante a emissão e contração dos pseudópodos, constituídos pela proteína filamentosa actina e pela contrátil miosina. Esse processo é regulado pela concentração intracitoplasmática de cálcio e por proteínas regulatórias gelsolina, profilina e, especialmente, pela enzima calmodulina, dependente de cálcio,¹⁰ que regula a fosforização da miosina pela quinase miosina.

Fator ativador de plaquetas (PAF) estimula a produção de enzimas lisossomais e radicais livres

Os neutrófilos presentes no tecido granulomatoso também são estimulados pelo fator ativador de plaquetas (PAF) à produção de enzimas lisossomais e do radical superóxido, exacerbando a destruição tecidual geradora de vários outros fatores leucotáticos (capazes de atrair leucócitos), dos quais se destacam: os produtos resultantes da ativação dos sistemas do complemento, da coagulação e da fibrinólise, assim como de prostaglandinas, leucotrienos, interleucinas e fatores de

crescimento. Durante a destruição tecidual com a consequente geração desses mediadores, há o aumento do consumo de oxigênio, da glicólise, e da formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2).¹ (fig. 17)

Mecanismos de desenvolvimento do tecido granulomatoso periapical

A persistência do agente flogogênico (toxinas bacterianas, produtos tóxicos não inertes oriundos do metabolismo bacteriano e resultantes da necrose da polpa dentária), na região periapical, causa destruição tecidual estimulando a contínua produção de mediadores quimiotáticos aumentando o recrutamento celular para essa região. Como a cinética da produção dos monócitos na medula óssea é de aproximadamente 48 horas, permanecendo, tais células, maior tempo na circulação sanguínea (36 a 104 horas), comparativamente aos neutrófilos, que têm o tempo de permanência de aproximadamente 10 horas,¹¹ e pelo fato dos monócitos não responderem mediante ativação dos receptores do tipo integrina à estimulação induzida por agentes quimiotáticos presentes em maior quantidade na fase inicial do processo inflamatório, essas células são observadas tardiamente no tecido granulomatoso periapical; não obstante, constituírem a população celular predominante dos granulomas inflamatórios de alta renovação celular, também, denominados de granulomas periapicais imunológicos.¹ (fig. 38)

Modulação da quimiotaxia celular pelo sistema imune

A respeito das diferenças numéricas constatadas nos componentes celulares do granuloma periapical, evidenciada durante a evolução dessa lesão, a exemplo do observado nas fases aguda e crônica do processo inflamatório, há participação do sistema imune modulando a ativação de receptores integrina; portanto, regulando o tráfego de neutrófilos, eosinófilos, monócitos e linfócitos.¹²

A continuidade dos granulomas, depende, portanto, da contínua migração e proliferação destas células, ao nível do foco da lesão periapical.

A secreção de enzimas lisossomais liberada pelos macrófagos ativados causa dano (destruição) tecidual, originando antígenos capazes de desencadear reações imunes e de formar imunocomplexos com os anticorpos circulantes, ativando o complemento, bem como gerando mediadores quimiotáticos para leucócitos, tais como C3a e C5a, fibrinopeptídeos, linfocinas, fatores de crescimento (PDGF, TNF, FGF, EGF, TGF) e produtos de degradação do colágeno; determinando o contínuo recrutamento celular para o tecido granulomatoso culminando com a formação de granulomas periapicais do tipo imunológico de alta renovação celular.

Destrução tecidual estimula a proliferação fibroblástica e a síntese de colágeno

Além da contínua quimiotaxia de monócitos, que ao nível do foco inflamatório, diferenciam-se em macrófagos, a destruição tecidual gera o aparecimento de áreas necróticas estimulando a proliferação fibroblástica e a síntese de colágeno.⁶

Hipóxia tecidual causa destruição tecidual também influenciando o diâmetro vascular

Em estados transitórios de hipóxia há uma contração passageira seguida por uma acentuada relaxação vascular. Foi demonstrada que, ao nível arteriolar, a queda da PO₂ de 150 mm Hg para 15 mm Hg induz vasodilatação, que é inibida pela denudação endotelial e por indometacina; indicando que a dilatação arteriolar é mediada por prostaglandinas (PGs) derivadas do endotélio vascular, e produzidas em decorrência da ativação da fosfolipase A₂ estimulada pelo aumento da concentração intracelular de cálcio resultante da depleção (diminuição) do oxigênio.¹³ Contudo, quando a hipóxia é prolongada,

tal como na constante estimulação flogogênica oriunda do canal radicular, há uma contração vascular sustentada nas proximidades do forame apical não influenciada por adenosina, endotelinas, inibidores da ciclo-oxigenase e radicais livres. Depende basicamente da energia obtida pela hidrólise do ATP, conseqüente a ativação da ATPase dependente do Mg^{+} . O mecanismo envolvido não parece ser causado por uma citoquina vasoconstritora (fator contrátil derivado do endotélio – EDCF); mas, sim, devido à inibição da óxido-nítrico-sintase (Nos), constatada durante a hipóxia prolongada (figs. 15 e 16).

Hipóxia tecidual induz as células da parede vascular à secreção de citoquinas e fatores de crescimento

Além da vasoconstrição, outra conseqüência importante da hipóxia tecidual é a indução das células musculares lisas da parede vascular à produção de mediadores químicos e citoquinas mitogênicas para as células endoteliais, tal como as prostaglandinas (PGs) e fator de crescimento dos fibroblastos (FGF), que, ao se ligarem aos receptores associados à proteína G e a receptores promotores da hidrólise do inositolglicolípídeos da membrana das células endoteliais, ativam proteínas citoplasmáticas estimulando à produção de fatores de transcrição nuclear iniciadores da proliferação celular,¹⁴ necessária à formação da população celular do granuloma periapical. Tal mecanismo, possivelmente, explica o porquê de episódios repetidos de necrose estimular a formação de tecido de granulação, que amadurece gerando extensas áreas de fibrose.¹ (fig. 16)

Radicais livres geram lesões microvasculares ativando a apoptose nas lesões inflamatórias periapicais

Os produtos tóxicos derivados do oxigênio (radicais livres, incluindo o radical superóxido), gerados por oxidases quando da síntese de citoquinas inflamatórias tal como as prostaglandinas (PGs), também, podem produzir necrose, em conseqüência de lesões microvasculares

resultantes da formação de pontes dissulfetos em proteínas superficiais da membrana; da cisão das ligações lipídio-lipídio; e, da peroxidação vascular, resultando no extravasamento de grandes moléculas protéicas (figs. 17 e 21).

A geração desses radicais, também, está relacionada com o controle da população celular do granuloma, visto que produtos tóxicos derivados do oxigênio aumentam a concentração intracelular de cálcio (Ca^{+2}), ativando a morte celular programada (apoptose).¹⁵

Mecanismos da proliferação da celular no granuloma

O aumento da proliferação celular é outro mecanismo pelo qual ocorre o aumento do componente celular (células endoteliais, macrófagos e fibroblastos), em inflamatórias periapicais. Nesse processo, nucleotídeos cíclicos, citoquinas, poliaminas, fatores de crescimento e de diferenciação, produzidos e secretados localmente pelas células inflamatórias, apresentam acentuada participação na formação dessas lesões, pois controlam a atividade proliferativa da população celular das lesões granulomatosas periapicais.

Genes têm participação no controle da atividade proliferativa

Ao nível molecular, a atividade proliferativa desses mediadores tem relação com a ativação de genes que atuam no controle da proliferação e diferenciação celular (**fos**, **jun** e **myc**) ou estimulando a expressão de receptores para os fatores de crescimento (**erb B**) e na regulação da produção do RNAm para a produção dos genes de transcrição (**myc**, **myb** e **fos**).¹⁶ Outros genes, tal como o **P53**, estão envolvidos no controle do ciclo celular; na síntese e diferenciação celular; e, no reparo do DNA, ativando o programa da morte celular programada (apoptose), quando o dano não puder ser reparado,⁵⁴ enquanto o **bcl-2** é um inibidor da apoptose.⁵²

O sistema imune gera linfocinas que estimulam a proliferação celular

Os processos imunes que ocorrem no tecido granulomatoso, contribuem para o aumento da população celular, ao nível das lesões granulomatosas, porquanto linfocinas, tais como a interleucina 1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF- α), além de apresentarem efeito estimulador da proliferação de fibroblastos, estimulam as demais células presentes no tecido granulomatoso à produção de interleucina 8 (IL-8) e fator derivado das plaquetas (PAF); que, respectivamente, estimulam a quimiotaxia e a proliferação dos fibroblastos. Também, são sintetizados e secretados no tecido granulomatoso inibidores da proliferação celular, tais como: prostaglandinas, TGF- β e interferon gama (IFN- γ).

Relação macrófagos-osteoblastos

A proximidade dos macrófagos com os osteoblastos em áreas de formação e de reabsorção óssea sugere que os produtos biológicos de síntese e secreção dos monócitos/macrófagos têm acentuada participação no controle desses processos.¹⁸ Foi demonstrado que há migração de monócitos/macrófagos em ambas as regiões, sugerindo que as populações celulares de macrófagos são funcionalmente distintas,¹⁹ (fig. 24) porquanto os seus produtos de síntese e secreção tal como as hidrolases ácidas, em tais regiões, induzem a fragmentação da matriz orgânica óssea liberando proteínas e fatores de crescimento, que agem tanto na formação quanto na reabsorção óssea.

Na área de reabsorção óssea, esses produtos induzem os osteoblastos à síntese e secreção de RANKL e demais fatores estimuladores dos osteoclastos à reabsorção óssea, enquanto que na região de formação, os produtos de síntese e secreção dos macrófagos (PDGF, FGF, TGF- β), conjuntamente com a proteína morfogenética óssea e demais fatores de crescimento liberados (EGF, FGF, SGF, IGF, BGF, PDGF, osteocalcina, osteonectina, osteopontina, proteoglicanas, proteínas gla da matriz e α -pró-peptídeo) em consequência da fragmentação da matriz óssea, induzem a proliferação, migração e

diferenciação das células mesenquimais perivasculares em osteoblastos estimulando a formação de tecido ósseo.

Citoquinas e fatores de crescimento liberados por macrófagos e demais células presentes, em ambas as regiões, ativam os receptores de superfície do tipo integrina para as proteínas da matriz extracelular (osteopontina), bem como aumentam a expressão de moléculas de adesão celular, causando adesão dos osteoclastos, porquanto aumentam a sua aderência na matriz óssea.

A importância dos produtos de síntese e secreção do endotélio vascular na formação das lesões granulomatosas periapicais

Na fase inicial do processo inflamatório crônico granulomatoso periapical, a despeito da relativa simplicidade estrutural do endotélio vascular, as células que o constituem (células endoteliais e musculares lisas da parede vascular) são funcional e metabolicamente ativas, de maneira que essas células, conjuntamente com as plaquetas, desempenham papel importante na fase aguda e crônica da resposta inflamatória. São capazes de gerar vários produtos biologicamente ativos. Tais mediadores, entre outros efeitos, agem controlando o diâmetro vascular e o alargamento dos espaços ou fendas localizadas entre as células endoteliais.

Endotelinas de origem vascular

As endotelinas (ET-1, ET-2 e ET-3) são peptídeos com potentes propriedades vasoativas, sendo o seu efeito dependente do tipo de receptor ativado. As células endoteliais produzem exclusivamente endotelinas 1, enquanto que a ET-2 e ET-3 são sintetizadas e secretadas por outros tipos de células, dentre as quais as musculares lisas.

Ativação dos receptores para endotelinas e efeitos biológicos

Receptores ETBr

Os receptores ETBR ativados por esses peptídeos, localizam-se em células endoteliais apresentando efeitos vasodilatadores e vasoconstritores, dependentes da concentração. Tais efeitos estão relacionados à secreção de óxido nítrico e/ou secreção de prostaciclina. Quando ativados por uma baixa concentração de endotelina 1 (ET-1) ou endotelina 3 (ET-3) estimulam a enzima óxido-nítrico-sintase à produção de óxido nítrico causando vasodilatação (fig. 2, 5 e 6). Esses receptores também podem ser ativados nas células musculares lisas por uma alta concentração de ETs-1, 2, e 3 induzindo vasoconstrição. Não distingue entre os três isopeptídeos. Nesses receptores, a ET-1 e a ET-3 apresentam a mesma afinidade.

Receptores ETAr e ETCr

O receptor **ETAR** é identificado exclusivamente nas células musculares lisas da parede vascular, que ao ser ativado, produz vasoconstrição e proliferação celular. Apresenta maior afinidade para endotelina 1 (ET-1), seguida da ET-2 e ET-3 com igual afinidade; tendo sido identificado um terceiro receptor (ETC) cuja função permanece desconhecida.²⁰ (fig. 2)

Mecanismo da síntese de endotelinas

A produção de endotelinas é dependente do aumento da concentração de cálcio [Ca^{+2}] mobilizada dos depósitos intracelulares (retículo sarcoplasmático), mediante indução por hipóxia, trombina, angiotensina II, vasopressina, arginina, fator beta transformador do crescimento (TGF- β) e IL-1.²¹

Ao nível molecular, esse efeito pode ser explicado pela ligação desses mediadores a receptores conectados à proteína G, resultando na ativação da enzima fosfolipase C e na formação do trifosfato de inositol (IP₃), capaz de mobilizar cálcio do retículo endoplasmático e diacilglicerol, a partir de glicopeptídios, contendo inositol, presentes na membrana celular, que, conjuntamente, com o cálcio ativam a proteína quinase C.

Outra via metabólica de produção das ETs é a ativação das enzimas Ca⁺⁺-calmodulina (fig. 7) e tirosina quinase por IL-1 e TNF- α , resultando na produção de ET-1 e AMPc.^{6,22}

Modulação da síntese e secreção do fator inibidor do plasminogênio (PAI-I) por endotelinas e outros mediadores vasoativos

Há uma estreita relação entre a síntese de ET-1 e a síntese e secreção do fator ativador do plasminogênio (PA) com a produção do fator inibidor do plasminogênio (PAI) por células endoteliais, sugerindo que a fibrinólise mediada por essas células pode ser modulada por ET-1 (ET-1) por meio de mecanismos que envolvem a ativação da fosfolipase C e produção do AMPc, que, respectivamente, estimulam e suprimem a produção endotelial do ativador (t-PA) e do inibidor (PAI-1) do plasminogênio.²³ (fig. 44) A produção desses mediadores é igualmente influenciada pela síntese de outros mediadores vasoativos, tais como a trombina, histamina e citocinas (IL-1, TNF e FGF). A propósito desse efeito, sabe-se que as células endoteliais, quando estimuladas por interleucina 1 (IL-1), via ativação da proteína quinase C produzem interleucina e AMPc. O fator de crescimento fibroblástico (FGF) é outra proteína capaz de aumentar a produção do fator ativador do plasminogênio tecidual (t-PA) por células endoteliais fragmentando a fibrina e gerando produtos dessa fragmentação com propriedades quimiotática e vasoativas, aumentando a permeabilidade vascular.²⁴ (fig. 43)

Efeito biológico das endotelinas é dependente da concentração e mediado por prostaglandinas e óxido nítrico

O diâmetro e a permeabilidade vascular são influenciados por produtos enzimáticos, tais como o óxido nítrico produzido pela enzima óxido nítrico sintase (ONS), e por prostanóides gerados via ativação da ciclooxigenase, uma vez que a síntese desses produtos enzimáticos é modulada pela endotelina 1 (ET-1).²⁶ O efeito da endotelina 1 (ET1) é dependente da concentração. Em baixa concentração ativa os receptores ETB das células endoteliais produzindo efeito vasodilatador, conseqüente a ativação da óxido-nítrico-sintase com produção de óxido nítrico. Efeito semelhante também é apresentado pela endotelina 3 (ET-3).

Ativação da enzima fosfolipase A₂ por endotelinas

Existe uma relação direta entre a síntese e secreção de endotelinas (ET-1 e ET-3) com a síntese de prostaglandinas (PGs), porquanto as endotelinas ativam a fosfolipase A₂. A ET-1 aumenta a produção de prostaciclina (PGI), enquanto que a endotelina 3 (ET-3) aumenta a produção de tromboxana A₂. Por outro lado, em alta concentração, a endotelina 1 (ET-1) ativa os receptores ETA localizados nas células musculares lisas da parede vascular produzindo vasoconstrição; sendo esse efeito dependente da produção de prostanóides pelas células endoteliais, via ativação da fosfolipase A₂.²⁵ Por outro lado, o efeito vasodilatador, resultante dos receptores ETB, por uma baixa concentração de endotelina 1 (ET-1) parece ser independente da produção de prostanóides, visto que anti-inflamatórios não esteróides (indometacina e aspirina) não influenciaram o efeito vasodilatador da ET-1.

Ativação da óxido-nítrico-sintase por endotelinas é parcialmente dependente da produção de óxido nítrico

O mecanismo envolvido na ativação da óxido-nítrico-sintase (ONS) resulta na produção de óxido nítrico a partir da L-arginina e vasodilatação; que pode ser atenuada pelo inibidor enzimático da Nos-NG-monometil-L-arginina (L-NMMA). Contudo, a inibição somente parcial do efeito vasodilatador da endotelina 3 (ET-3) proporcionada pelos inibidores da síntese de óxido nítrico sugere que o mecanismo vasodilatador induzido somente é parcialmente dependente da produção de óxido nítrico.⁷

Síntese do óxido nítrico

O vasodilatador óxido nítrico é sintetizado pela enzima óxido-nítrico-sintase, que existe em diferentes isoformas, das quais as principais são eNOS (endotelial) e iNOS (induzível), cuja ativação resulta em diferentes produtos, mediante a oxidação de um dos átomos de nitrogênio guanidínico da L-arginina, por uma via dependente de Ca^{++} /calmodulina. (fig. 5, 6 e 7) Além desse substrato, ainda, é necessário para o funcionamento dessa enzima a presença de cofatores essenciais, tais como: NADPH, FAD, FMN e tetra-hidropterina (BH_4); sendo esse último, um cofator essencial para a atividade das hidrolases ácidas aminoaromáticas.²⁷ Nos macrófagos, por conterem moléculas de calmodulina, que mantêm uma conformação ativa, a ativação da iNOs não é dependente do nível de ligação do cálcio (Ca^{+2}), visto que quantidades mínimas desse íon ativam a óxido-nítrico-sintase induzível (iNOs) (figs. 5 e 6).²⁸

O efeito vasodilatador induzido pela resposta imune é modulado pelo óxido nítrico

Além da produção de óxido nítrico, o consequente efeito vasodilatador é causado pela resposta imune protetora contra os microorganismos da microbiota intracanal, que, eventualmente, conseguem atingir a região periapical. O óxido nítrico é considerado uma importante molécula reguladora do sistema imune e um dos principais mediadores

citotóxicos produzidos por células efectoras imune ativadas.²⁸ Também tem sido sugerido que a produção de óxido-nítrico pelas células apresentadoras de antígenos bloquearia a proliferação das células T.²⁹

Ativação da óxido-nítrico-sintase por citoquinas, fatores de crescimento e produtos bacterianos

Os produtos bacterianos e citoquinas próinflamatórios, tal como: TNF- α e IL-1 também podem induzir os macrófagos à ativação da enzima óxido-nítrico-sintase (ONS) à produção do óxido nítrico; um mediador químico de vida curta que contribui para o aumento da atividade antimicrobiana e citotóxica dessas células. O controle da transcrição do gene para a síntese dessa enzima (iNOS) ocorre via uma estrutura complexa de genes promotores e amplificadores, cuja indução por lipopolissacarídeos envolve a ligação do fator nuclear NF-kB heterodímeros p50/relA em um NF-K β , no promotor, enquanto que o gama interferom (IFN- γ) envolve a ligação do fator I regulador do interferom em um local de ligação desse fator.³⁰ A ativação desse receptor, nas células precursoras dos osteoclastos, implica em sua diferenciação em osteoclastos maduros. (fig. 45)

Efeitos biológicos dos mediadores derivados do óxido nítrico

Os efeitos biológicos do óxido nítrico, também, podem ser causados por várias outras formas dele derivada, tal como os cátions óxido nitroso (N₂O)⁺ e os ânions nitroxil (HNO)⁻. As reações biologicamente importantes envolvem reações do óxido nítrico com íons metálicos e formas reduzidas do oxigênio, bem como tióis (-SH) e outros centros nucleofílicos (aminas e outros radicais aromáticos).

Mecanismo de ação do óxido nítrico

O mecanismo de ação proporcionado por uma pequena quantidade de óxido nítrico, produzido tanto pela via neuronal quanto pelas células endoteliais, está relacionado com a sua habilidade em estimular a enzima guanilato ciclase, mediante ligação do óxido nítrico (ON) no seu centro catalítico, elevando a produção de GMPc, (figs. 18 e 20) que serve como um segundo mensageiro na ativação das proteínas quinases,³¹ que podem elevar a atividade proliferativa de certos sistemas celulares tal como dos restos epiteliais de Malassez.

A propósito do efeito vasodilatador, existe, entre o óxido nítrico (ON) de origem endotelial e a nitroglicerina, produzida pelas células musculares lisas da parede vascular, uma interação competitiva pelo sítio ativo da enzima guanilato ciclase, pois o óxido nítrico atenuou o efeito vasodilatador induzido pela nitroglicerina, enquanto que a oxihemoglobina, um inibidor da ativação dessa enzima, diminui a vasodilatação induzida pela nitroglicerina.³²

Controle farmacológico da atividade da óxido-nítrico-sintase

Os quelantes de flavoproteínas, ou os inibidores da calmodulina podem inibir a atividade da óxido-nítrico-sintase. Também o próprio óxido nítrico em alta concentração pode inativar a atividade dessa enzima mediante efeito direto no seu centro ligante heme.^{33,34}

Relação entre a concentração de óxido nítrico e o metabolismo do ácido araquidônico

Esse mediador interfere no metabolismo do ácido araquidônico por macrófagos, uma vez que produz efeito dual dependente da concentração. Em alta concentração estimula a lipo e a ciclo-oxigenase, enquanto que em baixa concentração inibe a atividade dessas enzimas. Tais produtos conjuntamente com o óxido nítrico causam vasodilatação, aumentando a permeabilidade vascular e o extravasamento plasmático.³⁵

Óxido nítrico é um modulador da resposta imune

Além desse efeito, o óxido nítrico tem sido identificado como uma molécula reguladora da resposta imune e um mediador citotóxico secretado pelas células efetoras imunes (linfócitos), plaquetas, neutrófilos, macrófagos e fibroblastos.

A óxido nítrico sintase é capaz de produzir tanto óxido nítrico, quanto produtos tóxicos derivados do oxigênio (radicais livres), em condições de baixa concentração de arginina 1, pois o óxido nítrico pode reagir com ânions superóxidos para formar ânions de peróxidonitrito, que, rapidamente, formam radicais hidroxil (OH^\cdot) altamente reativos.³⁶ Esse mediador (peróxidonitrito) pode ser liberado ao nível do foco inflamatório periapical a partir de seu desligamento do ferro presente nas metaloproteinases, que servem como carreadoras do óxido-nítrico (ON), porquanto tanto a proteína quanto o grupo heme contendo ferro Fe^{+2} na porção central são capazes de ligar óxido nítrico (ON).³⁷ Por meio da formação de complexos ditiolodinitrosil-ferro, o óxido nítrico neutraliza vários tipos de enzimas metabólicas mediante ligação em seus grupos prostéticos [4Fe-4S] e centros catalíticos, causando perda de ferro intracelular pelas células alvo. (fig. 19)

A nitrosilação do centro Fe-S está associado com a inativação da enzima aconitase do ciclo de Krebs, NADPH:ubiquinona óxidoredutase e succinato:ubiquinona oxidoredutase, envolvidas no transporte de elétrons, bem como às enzimas ribonucleotídeo redutase, que está envolvida na síntese do DNA e na proliferação celular.^{38,39}

Microorganismos podem burlar a resposta imune protetora

Em contraposição, os microorganismos podem escapar à destruição pelas células imunes efetoras ativadas, uma vez que podem estimular a produção de uma resposta ineficiente, diminuindo a resposta imune potencialmente protetora. No caso, imunidade mediada por células Th1, pode ocorrer indução da produção de citocinas inibidoras da IL-

4, IL-10 e TGF- β . Tais citocinas são conhecidas por suprimirem a proliferação ou a produção de IFN- γ pelas células Th1, bem como inibir a produção de óxido-nítrico (ON) e a atividade citotóxica dos macrófagos.⁴⁰

Citoquinas moduladoras da síntese de óxido-nítrico

Várias citocinas produzidas ao nível do foco inflamatório periapical estimulam a produção de óxido nítrico (ON). Dentre essas citocinas merecem destaque o interferom gama (IFN- γ), fator necrótico tumoral (TNF- α) e IL-2. Várias outras citocinas são capazes de inibir a proliferação ou a produção de interferom gama pelos linfócitos Th1; deste modo, inibindo a ativação das células efetoras e, indiretamente, a produção de óxido nítrico. Algumas dessas citocinas, tal como a interleucina 4 (IL-4) e a interleucina 10 (IL-10) são produzidas pelas células auxiliares h2 (Th2). A interleucina 4 (IL-4), interleucina 10 (IL-10) e o TGF- β , também, apresentam efeito modulador da produção de óxido nítrico, visto que essas citocinas inibem a atividade citotóxica dos macrófagos.⁴⁰ A interleucina 13 é outra citocina que apresenta efeito dual, em relação à produção de óxido nítrico, sendo capaz de reduzir a produção de óxido nítrico pelos macrófagos estimulados por lipopolissacarídeos conjuntamente com o fator estimulador de colônia macrófágico-granulocítico. Contudo, estimula a produção de óxido nítrico na presença de lipopolissacarídeos e do fator estimulador de colônia de macrófagos.⁴⁰ A IL-15 e IL-22 também participam do controle da produção de óxido nítrico, considerando que apresentam efeitos semelhantes aos da IL-2 e IL-10, respectivamente. (fig. 9)

Influência da tensão do oxigênio no diâmetro vascular

A tensão do oxigênio, ao nível das lesões inflamatórias periapicais, está diretamente relacionada com o diâmetro vascular, influenciando a exsudação plasmática, migração transendotelial e reação necrótica. Em estados transitórios de hipoxia há uma vasoconstrição passageira

seguida por acentuada vasodilatação arteriolar, sempre que houver a queda da PO_2 de 150 mm Hg para 15 mm Hg. Esse processo é mediado por prostaglandinas sintetizadas por células endoteliais, em decorrência da ativação da enzima fosfolipase A_2 induzida pela depleção (diminuição) do oxigênio.⁴² Contudo, em estados de hipóxia prolongado, tal como na fase inicial da formação do tecido granulomatoso, principalmente nas proximidades do forame apical, onde o processo necrótico é acentuado; a contração vascular é sustentada, tendo como causa a inibição da enzima óxido-nítrico-sintase (ONS).

Produtos derivado do oxigênio

Os produtos tóxicos derivados do oxigênio (radicais livres, incluindo radical superóxido, gerados por oxidases – P450, NADPH – quando da síntese de mediadores inflamatórios, tal como as prostaglandinas (PGs), também, podem produzir lesões intravasculares decorrentes da formação de pontes dissulfetos nas proteínas superficiais da membrana celular; da cisão das ligações lipídio-lipídio; da peroxidação lipídica, aumentam a permeabilidade vascular e o extravasamento de grandes moléculas. (fig. 15 e 16)

Outros mediadores vasoativos sintetizados e secretados pelas células endoteliais

Várias outras citoquinas e fatores de crescimento sintetizados e secretados pelas demais células presentes no foco inflamatório periapical podem agir paracrinamente nas células vasculares estimulando a vasoconstrição ou a vasodilatação; interferindo, portanto, no processo exsudativo, bem como na transmigração endotelial e na quimiotaxia celular.

Mediadores vasoativos indutores de vasoconstrição

Dentre os mediadores vasoativos indutores da vasoconstrição, destacam-se o fator 1 de contração derivado do endotélio (EDCF-1); o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF); a tromboxana A (TBA); o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF).

Mediadores vasoativos indutores de vasodilatação

A substância P (SP), o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), ou os leucotrieno B4 (LB4), a prostaglandina E2 (PGE2), a bradicinina, a neuroquinina, o peptídeo relacionado ao hormônio paratireoidiano (PTHrP) e o leucotrieno E4 (LTE4), entre outros, produzem vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular.

Substância P (SP)

A substância P secretada pelas células neurais induz o relaxamento vascular (vasodilatação) mediante dois mecanismos: **1**) - relaxação (vasodilatação) dependente do endotélio mediada por secreção de óxido nítrico, resultando em aumento do GMPc (via ativação) da guanilato ciclase; **2**) - relaxação independente do endotélio relacionada com o aumento do AMPc, causada por secreção de prostaglandinas do tecido subendotelial.⁵³

Além desses dois mecanismos, foi sugerida a possibilidade do mecanismo responsável pelo efeito vasodilatador da substância P (SP) e do gene relacionado peptídeo da calcitonina (CGRF) ser decorrente do estímulo à liberação de histamina por mastócitos, ou por estimulação da produção do fator ativador das plaquetas (PAF) pela substância P (SP).⁴³

Como os antagonistas dos receptores NK1, que medeiam os efeitos biológicos das taquicinininas, inibem o efeito da substância P, foi sugerida a possibilidade da ativação desses receptores ser o responsável pelos efeitos biológicos da substância P.⁵⁵

PTH/PTHrP

O peptídeo relacionado ao hormônio paratireoidiano (**PTHrP**) é outra citocina liberada no foco inflamatório que apresenta propriedade vasodilatadora, pois as células musculares lisas de vários tecidos, incluindo o tecido vascular, apresentam receptores para PTH/PTHr, que ao serem ativados, produzem vasodilatação. Por outro lado, as células endoteliais apesar de produzirem PTHrP não possuem receptores para esses peptídeos (PTH/PTHrP). (fig. 26) Contudo, podem agir paracrinamente, em outras células, tais como nas células musculares lisas da parede vascular induzindo vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular.⁴⁴

Fatores de crescimento

Outros mediadores secretados pela população celular do granuloma, tais como: o fator de crescimento fibroblástico (FGF), fator transformador de crescimento (TGF) e fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) estimulam as células musculares lisas da parede vascular à produção do fator de crescimento endotelial vascular (EVGF), também denominado de fator de permeabilidade vascular (VPF), aumentando a permeabilidade vascular e o extravasamento de proteínas plasmáticas; resultando em ativação da via extrínseca da coagulação e na geração de trombina, ativando a partir da plasmina, a fragmentação de proteínas da matriz extracelular e a interação entre os receptores do tipo integrina da superfície celular e os componentes da matriz extracelular. (fig. 12)⁴⁵

Transmigração endotelial

As células endoteliais reagem à estimulação das citocinas próinflamatórias (IL-1 e TNF- α) aumentando a expressão de selectina E, molécula 1 de adesão intercelular (ICAM-1) e da molécula de adesão

celular vascular (VCAM-1), intensificando a adesão dos leucócitos ao endotélio vascular.⁸

No processo de transmigração endotelial dos neutrófilos participam os receptores do tipo integrina beta 2 (CD18) e a molécula de adesão celular endotelial plaquetária (PECAM-1, CD31). Essas citocinas, ainda, induzem a secreção pelas células endoteliais de α -trombina, um mediador prócoagulante, que aumenta a aderência dos neutrófilos a superfície endotelial, bem como a contração do citoesqueleto dessas células, intensificando a permeabilidade vascular e a transmigração celular.⁵⁰

Importância das plaquetas nos processos de transmigração endotelial e quimiotaxia

As plaquetas também têm importante participação na fase inicial de formação das lesões inflamatórias periapicais, pois a sua ativação determina liberação das moléculas de adesão p-selectina dos grânulos- α capazes de mediar a sua interação com os leucócitos polimorfonucleares neutrófilos, localizados nas proximidades dos vasos agredidos, de maneira que essa glicoproteína transmembrana (p-selectina), estruturalmente semelhante ao fator de crescimento epidérmico (EGF), participa do mecanismo de migração dos polimorfonucleares neutrófilos no interior do tecido inflamatório periapical. Outrossim, secretam o fator 4 plaquetário (PF4) (anti-heparina) e o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), ambos quimiotáticos para neutrófilos.

As prostaglandinas e tromboxanas secretadas pelas plaquetas, ativadas durante a agressão e geradas a partir do metabolismo do ácido araquidônico, constituintes de sua membrana celular, são outros mediadores presentes no foco inflamatório que apresentam acentuada importância na fase inicial de formação do tecido granulomatoso periapical, pois, dependendo da concentração intracelular de AMPc induzida, aumentam, ou não, a expressão de glicoproteínas receptoras do fibrinogênio (GPIIb) e ou o fator de Von Willebrand (GPIIb);

conseqüentemente, aumentando ou diminuindo a agregação plaquetária, bem como o extravasamento plasmático decorrente de microlesões ao endotélio vascular, que, na fase inicial da estimulação flogogênica, aumentam a permeabilidade vascular, causando o extravasamento de grandes moléculas protéicas; formando, conjuntamente, com os leucócitos, o exsudado inflamatório.^{11,1} (figs. 4 e 25)

Fragmentação da matriz extracelular subendotelial

Para que os leucócitos consigam atingir a região inflamada, ainda, é necessária a destruição da matriz extracelular subendotelial (EMC).

Plaquetas

As plaquetas participam da fragmentação da EMC mediante a produção de heparinase, enquanto que as células endoteliais promovem a destruição por meio da síntese e secreção de proteases, heparinases e sulfatases. (figs. 39, 40, 41 e 42)

Atividade fragmentadora da EMC por células mononucleares

Em relação aos leucócitos, a atividade destrutiva dos neutrófilos e linfócitos é superior à dos monócitos. Cada tipo celular apresenta uma atividade enzimática predominante, sendo a atividade da heparinase, protease e sulfatase, respectivamente, mais acentuada nos linfócitos, neutrófilos e monócitos.

A atividade fragmentadora da matriz extracelular é potencializada por citocinas

Tal atividade é influenciada por citocinas, tais como: a IL-1 e TNF- α , que aumentam a degradação da matriz extracelular induzida por neutrófilos e células endoteliais. Contudo, inibem a degradação da matriz extracelular induzida por linfócitos. Já, a IL-4 aumenta a degradação da matriz extracelular subendotelial (ECM) por neutrófilos, linfócitos e células endoteliais. A IL-1, o TNF- α e a IL-8, estimulam as células endoteliais e monócitos à atividade da sulfatase, enquanto que nos monócitos, a atividade dessa enzima, também, foi induzida pela citocina quimiotática para neutrófilos e pelo fator ativador de macrófagos.¹⁰

Mediadores quimiotáticos também causam fragmentação da ECM

Mediadores quimiotáticos, tais como: PDGF, TNF, EGF, TGF, C3a, C5a e o fibrinopeptídeo, produzidos pelas células presentes no local da inflamação e decorrentes da ativação dos sistemas da coagulação, fibrinolítico e do complemento (presente no plasma extravasado, conseqüente ao aumento da permeabilidade vascular), por proteínas teciduais alteradas resultantes da liberação e da ativação enzimática no foco inflamatório, ligam-se em receptores específicos (do tipo integrina) localizados na superfície da membrana celular dos neutrófilos, causando ativação da proteína G e da fosfolipase C, produzindo trifosfato de inositol, aumento da concentração intracelular de cálcio; e, estímulo a migração dos neutrófilos em direção ao foco inflamatório.^{11,1}

A ativação dos receptores C3b e FC em neutrófilos estimula a síntese de enzimas fragmentadoras da matriz extracelular

Ao chegar ao tecido granuloso periapical, os neutrófilos aumentam em número, e com a ligação do agente flogógeno aos receptores para o C3b e FC, localizados na superfície celular, passam a produzir enzimas capazes de destruir os componentes colagênicos e proteoglicanas teciduais, tais como: a β -glucoronidase, fosfatase ácida,

mieloperoxidase, catepsina ácida e lisozima, resultando na produção de peptídeos leucotáticos.

A ativação dos neutrófilos pelo PAF também causa fragmentação da matriz extracelular

Os neutrófilos também são estimulados pelo fator ativador das plaquetas (PAF) à produção de enzimas e do radical superóxido, exacerbando a destruição tecidual capaz de gerar vários outros fatores leucotáticos, dos quais se destacam: os produtos resultantes da ativação dos sistemas do complemento, da coagulação e da fibrinólise, bem como de prostaglandinas, leucotrienos, interleucinas e fatores de crescimento. Durante esse processo há o aumento do consumo do oxigênio, da glicólise e da formação do peróxido de hidrogênio,¹ resulta em necrose tecidual.

Importância da reação necrótica na formação das lesões inflamatórias periapicais

O mecanismo inicial de formação da região necrótica, presente nas lesões periapicais, em parte, também é decorrente da lesão isquêmica, causada pelo fenômeno de Arthus, que diminui a tensão local de O₂, causando dano à membrana celular e aumento da concentração intracelular de cálcio (Ca⁺²), resultando na ativação da fosfolipase A2 e no aumento da síntese das PGs e de LTs.

Com a redução da disponibilidade do oxigênio há diminuição da produção do ATP comprometendo o funcionamento da bomba de sódio causando o aumento da concentração intracelular de sódio e água. Outra consequência da diminuição da produção de ATP é o estímulo da glicólise anaeróbica por ativação da fosfofrutoquinase, resultando na produção do ácido láctico e na queda do pH, causando a secreção de enzimas lisossomais que lesam as membranas celulares, as quais, estando em contato com o meio aquoso, modelam

estruturas concêntricas denominadas de figuras de mielina, ou podem se unir com os íons cálcio, que entraram livremente nas células em desintegração, formando sabões.¹

Ativação celular gera fatores mitogênicos e quimiotáticos que aumentam a população celular do granuloma

Em decorrência da ativação celular, ao nível do foco inflamatório, são gerados outros produtos biologicamente ativos, igualmente, quimiotáticos e mitogênicos para fibroblastos e células endoteliais; bem como ativadores dessas células à síntese de novas fibras colágenas. Dentre esses produtos, destacam-se os fatores de crescimento, que além de serem angiogênicos e aumentarem a quimiotaxia dos neutrófilos, linfócitos, macrófagos e fibroblastos, elevam a atividade fagocitária dos macrófagos e neutrófilos, causando a liberação de enzimas lisossomais para o meio extracelular. Esses fatores, também, são capazes de estimular ou suprimir genes ativadores ou repressores da transcrição de proteases, aumentando a destruição tecidual.³ Devemos também ressaltar a importância das reações de hipersensibilidade do tipo imediato e tardio, capazes de produzirem linfocinas estimuladoras dos macrófagos e linfócitos, assim como ativá-los no foco inflamatório periapical.

Agentes infecciosos indutores da reação necrótica

A destruição tecidual induzida por agentes infecciosos e por agentes químicos usados no tratamento dos canais radiculares, bem como as reações imunológicas por eles estimuladas, é de fundamental importância na formação das lesões granulomatosas periapicais, uma vez que a hipóxia sustentada induzida pelo agente flogogênico, mediante mecanismos dependentes da inibição da enzima óxido-nítrico-sintase causa destruição tecidual produzindo vários antígenos capazes de estimular a produção de anticorpos e formar imunocomplexos indutores da produção de mediadores quimiotáticos

promotores da migração e da ativação celular no tecido granulomatoso periapical. (fig. 21)

Ativação celular por microorganismos

Sabe-se que os microorganismos bacterianos diretamente ativam os macrófagos e neutrófilos à síntese e secreção de radicais livres. (fig. 21) Essas células também liberam ao nível do foco inflamatório outros mediadores químicos, tais como: cininas, fator ativador de plaquetas, (PAF), fator necrótico tumoral (TNF- α), interleucina 1 (IL-1), fator transformador do crescimento α e β (TGF- α e β) e interferon gama (IFN- γ). As bactérias, igualmente, produzem enzimas destrutivas teciduais (fosfolipases A2, glicoproteínas, collagenases e proteases) capazes de causarem destruição tecidual. Mediante mecanismos indiretos exacerbam o processo destrutivo tecidual, pois ativam os linfócitos aumentando a citotoxicidade celular, a produção de anticorpos e a síntese e secreção de citoquinas, entre outras, do LTB4, TNFs, IL-1 e IL-8, que são reguladoras da expressão de moléculas de adesão celular e quimotaxia. (fig. 29, 30, 36 e 38)

Mecanismos envolvidos na reação necrótica

Dentre os mecanismos gerados em decorrência da destruição tecidual destacam-se os relacionados com a integridade da membrana celular, tais como: depleção do ATP; radicais livres; e, a reação de Sanarelli-Schwartzman, que causa a aglutinação das plaquetas, ativando o fator de Hageman, bem como os receptores beta-adrenérgicos (vasoconstrição).

Radicais livres

Os radicais livres são gerados em decorrência do metabolismo respiratório das células fagocitárias, tais como: radical superóxido (So_2^-)

), o íon (ânion) oxidrila (OH^-) e a água oxigenada (H_2O_2); ativam a peroxidação lipídica, (fig. 16) causando destruição das proteínas estruturais, dano ao DNA e lesão das células endoteliais, estimulando a formação de trombos oclusivos, causadores de necrose hemorrágica. (figs. 17 e 21)

Mecanismos de formação dos radicais livres

A explicação para os efeitos danosos dos radicais livres pode ser dada com base no fato de que os radicais (ânions) oxidrilas (OH^-), sendo negativos, removem íons (cátions) H^+ dos ácidos graxos, formando radicais lipídicos livres capazes de reagir com o oxigênio produzindo radical peróxido lipídico ($\text{LOO}\bullet$), que, ao remover uma segunda molécula de hidrogênio produz um novo radical lipídico iniciador da reação em cadeia.^{46,11} Outro mecanismo resulta da ativação do sistema enzimático xantina desidrogenase/xantina oxidase (XD/XO), cujas enzimas derivam de um único produto translacional (de transferência da informação genética). A conversão da xantina desidrogenase em xantina oxidase pode ocorrer tanto irreversivelmente por proteólise como reversivelmente por oxidação, resultando na produção de radicais livres. Ambas as enzimas catalisam, entre outras reações, a oxidação da hipoxantina em xantina e esta em ácido úrico, necessitando, para isso, da participação do cofator (NAD^+) e de O_2 .⁴⁷ (fig. 21)

Radicais livres e a xantina estimulam a produção do fator ativador do plasminogênio (t-PA)

Os radicais livres bem como a xantina resultante da ativação do sistema xantina desidrogenase/xantina oxidase mediante uma baixa tensão do oxigênio (hipóxia) também estimulam os fibroblastos e células endoteliais à produção do fator ativador do plasminogênio (t-AP). (fig. 44) O mecanismo molecular envolvido parece ser a ligação dos radicais livres aos receptores do tipo integrina.

Mecanismo de ativação do fator ativador do plasminogênio tecidual pelos radicais pode ser mediado pelo TNF

O fato dos radicais livres também ativarem os receptores NF- κ B, que é uma proteína ligante do DNA, envolvida tanto na ativação gênica transcricional de várias citocinas próinflamatórias, tal como do fator de necrose tumoral (TNF- α), quanto na ativação da produção do fator ativador do plasminogênio (t-PA), (fig. 44) pelo TNF, sugere que o mecanismo envolvido no aumento da expressão gênica do fator ativador tecidual do plasminogênio (tAP) pelos radicais livres pode ser mediado pelo fator necrótico tumoral.⁴⁸ (fig. 13, 14, 15 e 16).

O ferro como indutor da reação necrótica

O ferro, além de desempenhar função importante no mecanismo de defesa contra o agressor, também, é um nutriente necessário ao crescimento de microorganismos, podendo ser, ao nível do tecido granulomatoso, reduzido pelos radicais superóxido a íon ferroso (Fe^{3+}); que, por sua vez, igualmente, reage com outros radicais superóxido produzindo ânions hidroxila (OH^-) mediante reação conhecida pelo epônimo de Fenton, exacerbando a destruição tecidual periapical.⁴⁹

Hepcidin

É um hormônio peptídico constituído por 25 aminoácidos, localizado no cromossoma 19 sintetizado pelos hepatócitos que apresenta atividade antimicrobiana intrínseca, cuja produção está aumentada em processos inflamatórios, infecciosos (endotoxinas) e diminuída pela hipóxia e estresse oxidativo. No tecido ósseo, membros do fator transformador do crescimento β (proteína morfogenética óssea – BMPs, 2, 4, 5, 6, 7 e 9) ativam receptores do tipo I e II, resultando na fosforização de receptores citoplasmáticos (R-smads), que, associado

ao Smad4, translocado para o núcleo, ativa genes alvos do hepcidin, aumentando a sua expressão.

Hepcidin e inflamação

A IL-6 é um proeminente indutor de hepcidin mediante mecanismo transcricional dependente do gene STAT-3. Outras citocinas também podem induzir hepcidin dependente de IL-6. Macrófagos também expressam hepcidin em resposta à estimulação microbiana. Nessas células, a hepcidin pode funcionar de maneira autócrina para degradar a ferroportin, causando a retenção de ferro em macrófagos. O estímulo inflamatório atuando por meio do TNF- α suprime o RNAm do HJV (antagonista solúvel da sinalização da expressão de hepcidin via BMP), desta maneira prevenindo a rota regulatória do ferro, de supressão do hepcidin durante a hipoferranemia constatada na inflamação. Quelantes do ferro ativo intralisossomal também têm sido utilizados para tratar processos inflamatórios, porquanto tornam a membrana lisossomal mais resistente ao estresse oxidativo.

Referências Bibliográficas

1. Catanzaro-Guimarães Patologia Básica da cavidade Bucal. Guanabara Koogan, 1982.
2. Akatsu T, Catanzaro-Guimarães AS Comparative effects of non-steroidal antiinflammatory response induced by subcutaneous implantation of human dental plaque and the mitotic activity of isoproterenol stimulated parotid glands of rats. Biol, 1986; 32: 619-26
3. Murray RK, Granner DK, Mayes PA Bioquímica. 7a. ed. São Paulo, Atheneu, 1994.
4. 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.
5. Emori T, Hirata Y, Marumo F J Endothelin-3 stimulates prostacyclin production in cultured bovine endothelial cells. *J Cardiovascular Pharmacol*, 1991; 17: S140-142-2.
 6. Durieu-Trautman O et al Nitric oxide and endothelin secretion by brain microvessel endothelial cells: regulation by cyclic nucleotides *J Cell Physiol*, 1993; 155: 104-11.
 7. Taniguchi I et al Effects of NG-monomethyl-L-arginine, indomethacin, and aspirin on the vasodepressor response to low doses of endothelin-1 and endothelin-3 in rats. *Jpn Circ J*, 1994; 58: 69-75.
 8. Klein S et al Basic fibroblast growth factor modulates integrin expression in microvascular endothelial cells *Mol Biol Cel*, 1993; 4: 973-82.
 9. Mancuso F, Flower RJ, Perreti M Leukocyte transmigration, but not rolling or adhesion, is selectively inhibited by dexamethasone in the hamster post-capillary venule. Involvement of endogenous lipocortin 1. *J immunol*, 1995; 155: 377-86.
 10. Barlett MR, Underwood PA, Parish CP Comparative analysis of the ability of leucocytes, endothelial cells and platelets to degrade the subendothelial basement membrane: evidence for cytokine dependence and detection of a novel sulfatase. *Immunol Cell Biol*, 1975; 73: 113-1.
 11. Kumar V, Abbas A, Fausto N, Mitchell R Robbins: patologia básica. Rio de Janeiro, 8ª ed., Elsevier Saunders, 2008.
 12. Schleiffebaum B, Fehr J Regulation and selectivity of leukocyte emigration. *J Lab Clin Med*, 1996; 127: 151-68.
 13. Messina EJ et al Role of endothelium-derived prostaglandins in hypoxia-elicited arteriolar dilation in rat skeletal muscle. *Circ Res*, 1992; 71: 790-98.
 14. Michiels C, et al Hypoxia stimulates human endothelial cells to release smooth muscle cell mitogens: role of prostaglandins and bFGF. *Exp Cell Res*, 1994; 213: 43-54.

15. Okabe F ET al Reactive oxygen species in apoptosis-redox regulation of programmed cell death. Bull Kanagawa Dental Coll, 1994; 24: 97-06.
16. Scully C Oncogenes, onco-suppressors, carcinogenesis and oral cancer. Br dent J, 1992; 173: 53-9.
17. Nicosia RF, Nicosia SV, Smith M Vascular endothelial growth factor, platelet-derived growth factor, and insulin-like growth factor-1 promoted rat aortic angiogenesis in vitro. Am J Pathol, 1994; 145: 1023-29.
18. Anan H et al A histochemical study of bone remodeling during experimental apical periodontitis in rats. J Endod, 1991; 17: 332-7.
19. Volejnikowa S, Lakari M, Maks Jr, Graves DT Monocytes recruitment and expression of monocyte chemoattractant protein-1 are developmentally regulated in remodeling bone in the mouse. Am J Pathol, 1997; 150: 1711-21.
20. Wren AD, Hiley CR, Fan TF Endothelin-3 mediated proliferation in wounded human umbilical vein endothelial cells. Biochem Bioph Research Comm, 1993; 196: 369 -75.
21. Luscher TF, Wenzel RR Endothelin and endothelin antagonists: pharmacology and clinical implication. Agents Action, 1995; 45: 237-253.
22. Feldman SR, Yaar M. Oncogenes. The growth control genes. Arch Dermatol, 1991; 127: 707-11.
23. Yamamoto C et al Modulation by endothelin-1 of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 release from cultured human vascular endothelial cells: interaction of endothelin-1 with cytokines. Biol Pham Bull, 1993; 16: 714-5.
24. Blei F et al Mechanism of action of angiostatic steroids: suppression of plasminogen activator activity via stimulation of plasminogen activator inhibitor synthesis. J Cell Physiol , 1993; 155: 568-78.

25. Stanimirovic DB, McCarron RM, Spatz M. Dexamethasone down-regulates endothelin receptors in human cerebromicrovascular endothelial cells. *Neuropeptides*, 1994; 26: 145-52.
26. Lopez-Belmonte J, Whitte BJ The involvement of endothelial dysfunction, nitric oxide and prostanoids in the rat gastric microcirculatory responses to endothelin-1 *Br J Pharmacol*, 1994; 112: 267-71.
27. Schoedon G et al Regulation of the L-arginine-dependent and tetrahydrobiopterin-dependent biosynthesis of nitric oxide in murine macrophages. *Eur J Biochem*, 1993; 213: 833-9.
28. James SL Role of nitric oxide in parasitic infections. *Microbiol Ver*, 1995; 59: 533-47.
29. Roland CR, Walp L, Stack RM, Flye MW. Outcome of Kupffer cell antigen presentation to a cloned murine Th1 lymphocyte depends on the inducibility of nitric oxide synthase by IFN-gamma. *J Immunol*, 1994; 153: 5453-64.
30. Wang CY, Stashenko P The role of interleukin-1 alpha in the pathogenesis of periapical bone destruction in a rat model system. *Oral Microbiol Immunol*, 1993; 8: 50-6.
31. Marletta MA. Nitric oxide: biosynthesis and biological significance. *Trends Biochem Sci*, 1989; 14: 488-92.
32. Dinerman JL, Lawson DL, Mehta JL Interactions between nitroglycerin and endothelium in vascular smooth muscle relaxation. *Am J Physiol*, 1991; 260: H698-701.
33. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 1987; 327: 524-6.
34. Stuehr DJ, Marletta MA Mammalian nitrate biosynthesis: mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1985; 82: 7738-42

35. Robison TW, Forman HJ. Dual effect of nitrogen dioxide on rat alveolar macrophage arachidonate metabolism. *Exp Lung Res*, 1993; 19: 21-36.
36. Beckman JS et al Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990; 87: 1620-4.
37. Stamler JS S-nitrosothiols and the bioregulatory actions of nitrogen oxides through reactions with thiol groups. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1995; 196: 19-36.
38. Drapier JC, Hibbs JB Jr. Murine cytotoxic activated macrophages inhibit aconitase in tumor cells. Inhibition involves the iron-sulfur prosthetic group and is reversible. *J Clin Invest*, 1986; 78: 790-7.
39. Kwon NS, Stuehr DJ, Nathan CF. Inhibition of tumor cell ribonucleotide reductase by macrophage-derived nitric oxide. *J Exp Med*, 1991; 174: 761-7.
40. Oswald IP, Gazzinelli RT, Sher A, James SL. IL-10 synergizes with IL-4 and transforming growth factor-beta to inhibit macrophage cytotoxic activity. *J Immunol*, 1992; 148: 3578-82.
41. Doherty TM, Kastelein R, Menon S, Andrade S, Coffman RL. Modulation of murine macrophage function by IL-13. *J Immunol*, 1993; 151: 7151-60.
42. Messina EJ, Sun D, Koller A, Wolin MS, Kaley G. Role of endothelium-derived prostaglandins in hypoxia-elicited arteriolar dilation in rat skeletal muscle. *Circ Res*, 1992; 71: 790-6
43. Bussolino F et al Platelet activating factor induces dopamine release in PC-12 cell line. *Am J Physiol*, 1988; 255: C559-65.
44. Rian E et al Parathyroid hormone-related protein is produced by cultured endothelial cells: a possible role in angiogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994; 198: 740-7.
45. Couffinhal T. et al Regulation of vascular cell adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1 in human vascular smooth muscle cells. *Circ Res*, 1994; 74: 225-34.

46. Krinsky NI. Mechanism of action of biological antioxidants. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1992; 200: 248-54.
47. Hassoun PM, Yu FS, Shedd AL, Zulueta JJ, Thannickal VJ, Lanzillo JJ, Fanburg BL. Regulation of endothelial cell xanthine dehydrogenase xanthine oxidase gene expression by oxygen tension. *Am J Physiol*, 1994; 266: L163-71.
48. Tanaka F, Ogura N, Abiko Y. Stimulation of plasminogen activator/plasmin system in gingival fibroblast cells by oxygen radicals. *Arch Oral Biol*, 1997; 42: 263-70.
49. Stedman Dicionário Médico, 23a. ed, Rio de Janeiro, p. 464.
50. Drake WT, Lopes NN, Fenton JW 2nd, Issekutz AC. Thrombin enhancement of interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha induced polymorphonuclear leukocyte migration. *Lab Invest*, 1992; 67: 617-27.
51. Hom DB, Maisel RH. Angiogenic growth factors: their effects and potential in soft tissue wound healing. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1992; 101: 349-54.
52. Korsmeyer SJ. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death. *Blood*, 1992; 80: 879-86.
53. Enokibori M, Okamura T, Toda N. Mechanism underlying substance P-induced relaxation in dog isolated superficial temporal arteries. *Br J Pharmacol*. 1994; 111: 77-82.
54. Harris CC, Hollsten M. Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. *N Engl J Med*. 1993; 329: 1318-27.
55. 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.
56. Korolkovas A, Burckhalter JH. Química farmacêutica. Rio de Janeiro, Guanabara koogan, 1988.

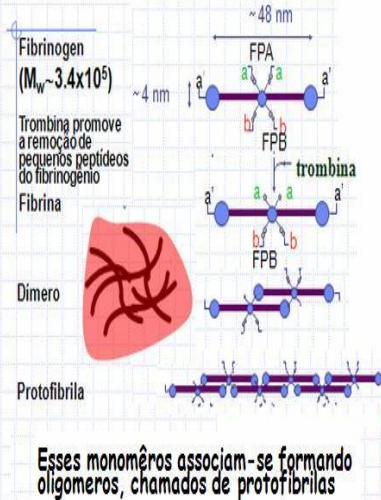


Figuras

Capítulo 2

**Eventos iniciais envolvidos na
formação das lesões
inflamatórias periapicais**

Formação de fibrina



Sistema da coagulação

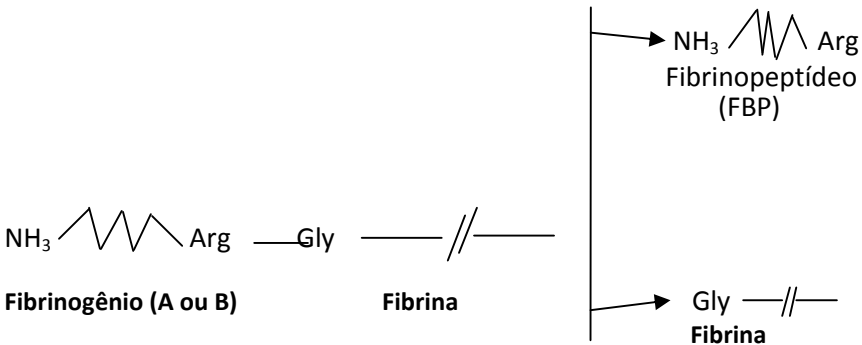
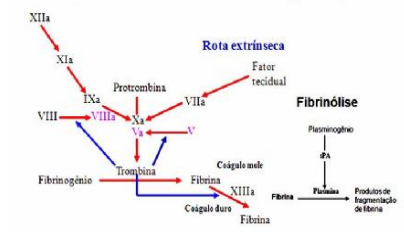


Fig.1: Fragmentação do fibrinogênio.

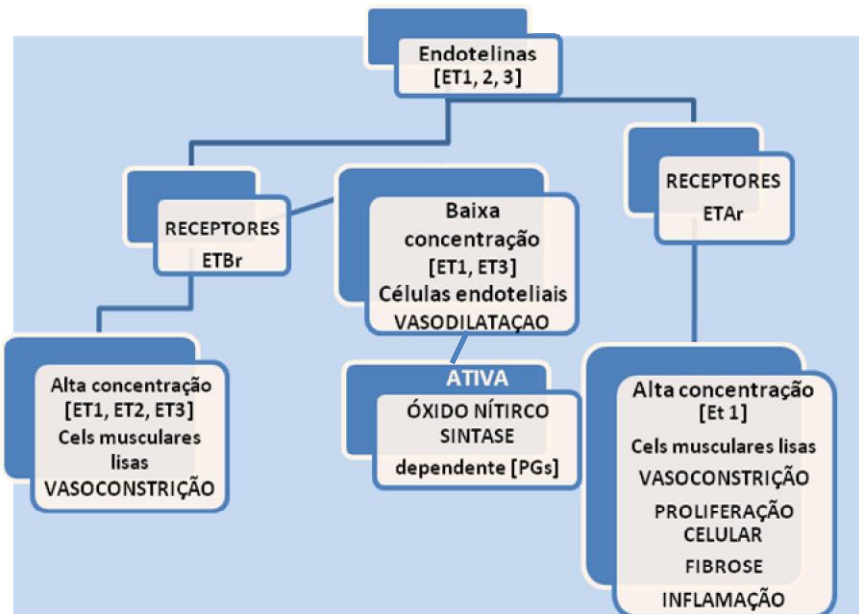
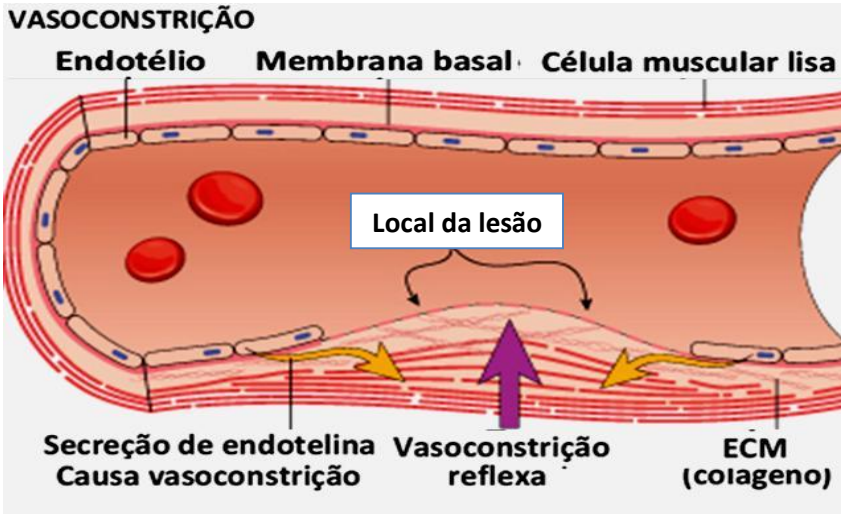
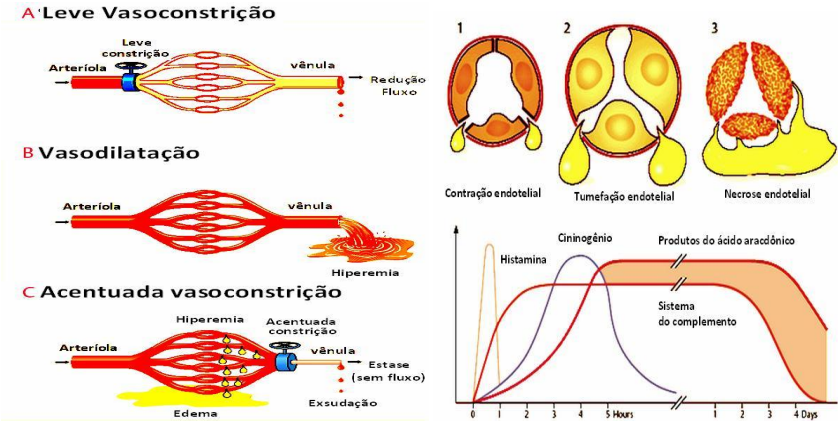


Fig. 2: Ativação dos receptores ETBr, ETAr por ET-1, ET-2 e ET-3.



Osteopontina

Células Endoteliais

↑

IL-1

INF- γ

Glicocorticóides

VEGF

Fator de ativação dos linfócitos T

É constituída por arginina, glicina e ácido aspártico

Participa do processo inflamatório

Proteínas da matriz extracelular

Medeia a interação com as integrinas

Liga CD44, Integrina $\alpha 5\beta 3$ aos receptores das células endoteliais

Fator de sobrevivência

Adesão celular

Quimiotaxia

Participa do processo de cicatrização e reação de corpo estranho

Protege da apoptose via $\alpha 5\beta 3$ via fator NF- κB

Fig. 3: Osteopontina, síntese e principais efeitos biológicos.

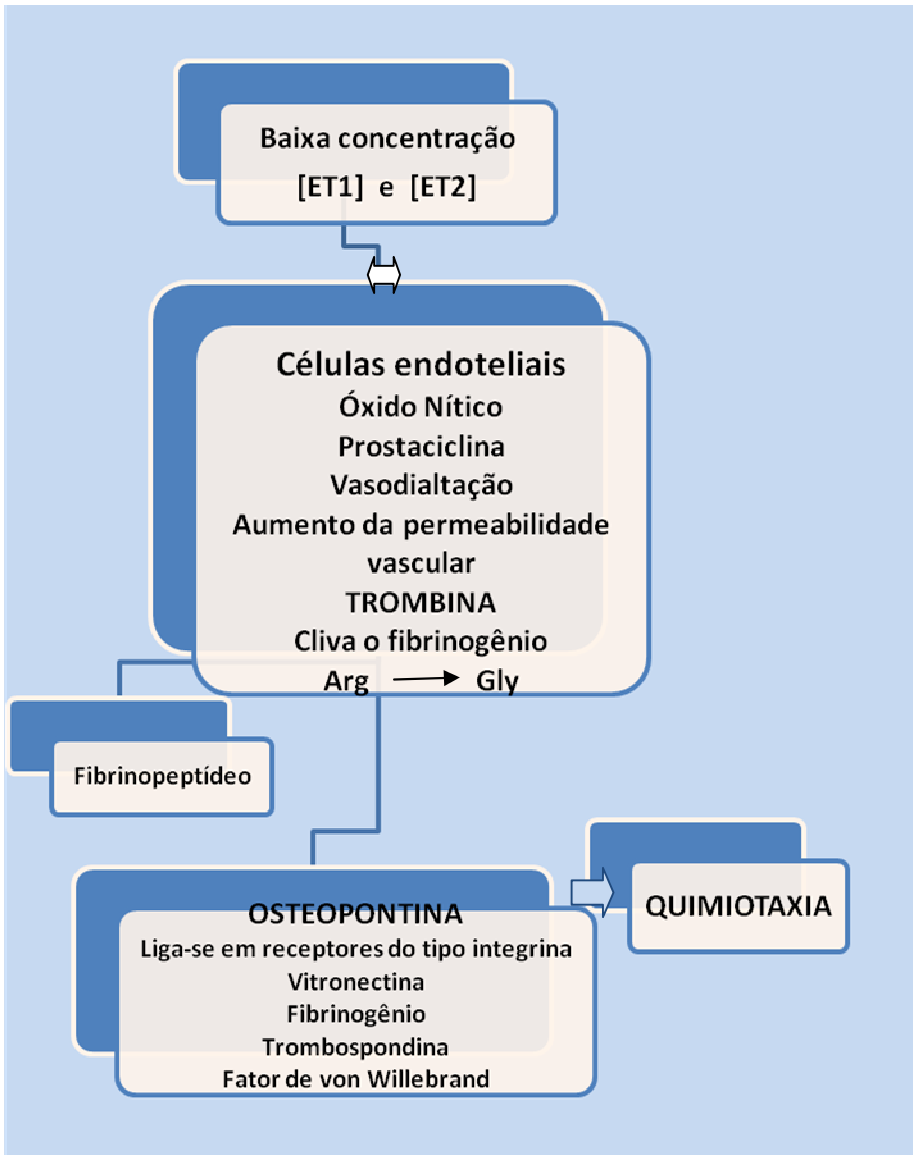


Fig. 4: Efeito da baixa concentração de endotelinas 1 e 2 em células endoteliais.

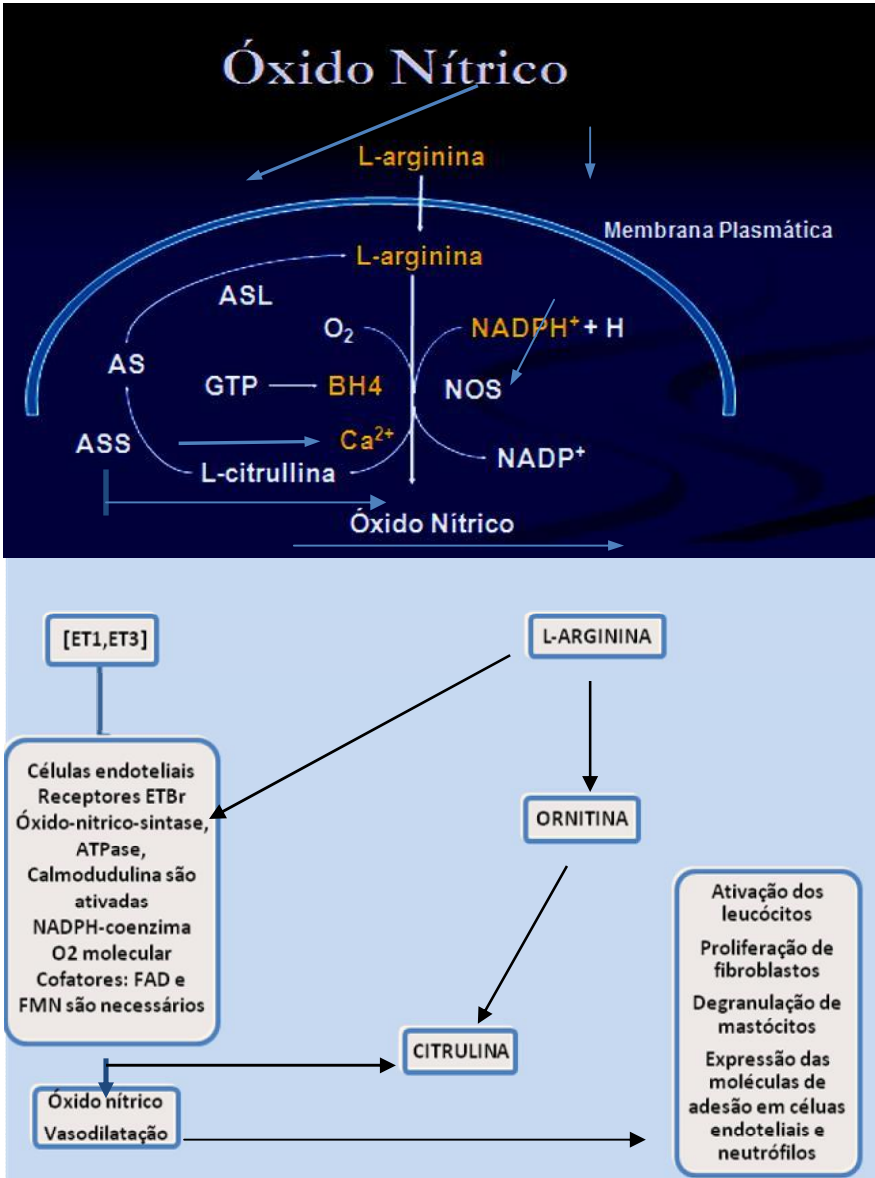


Fig. 5: Síntese de óxido nítrico e estímulo por endotelinas.

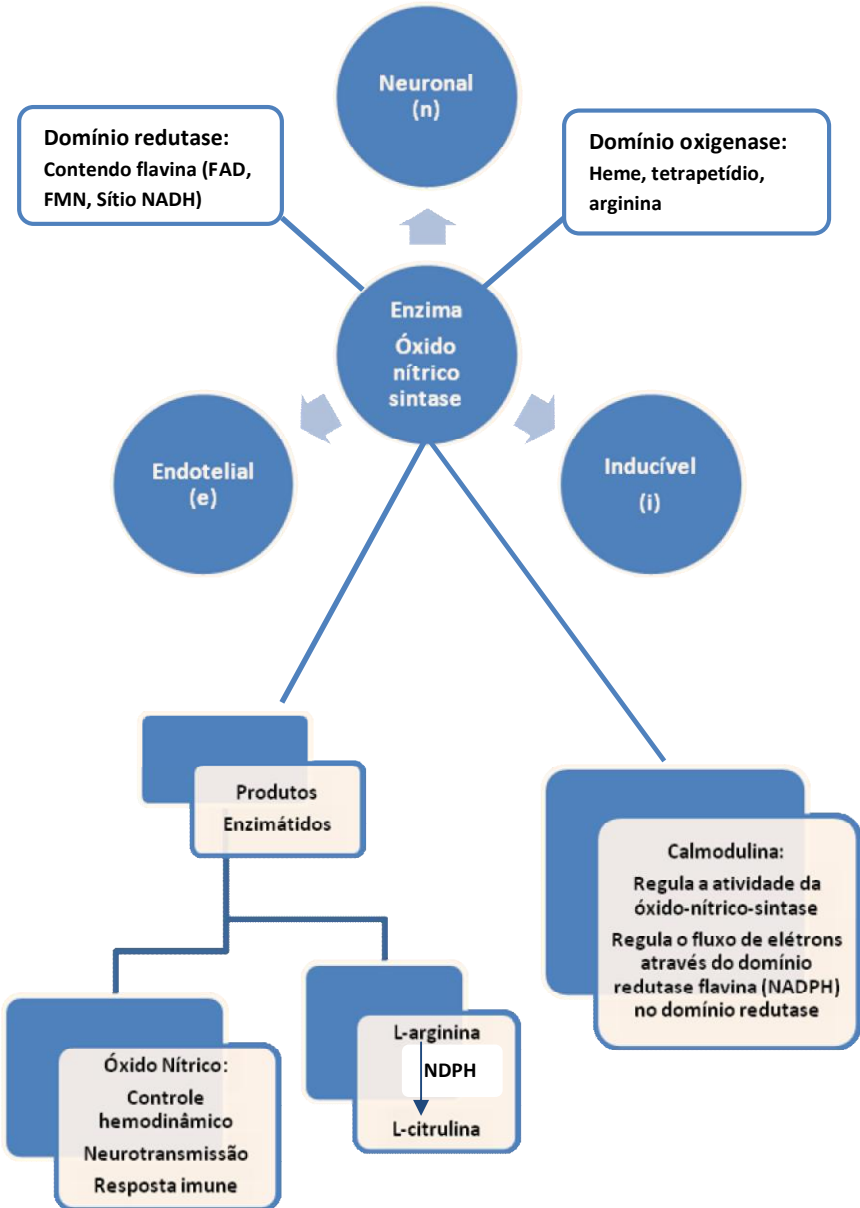
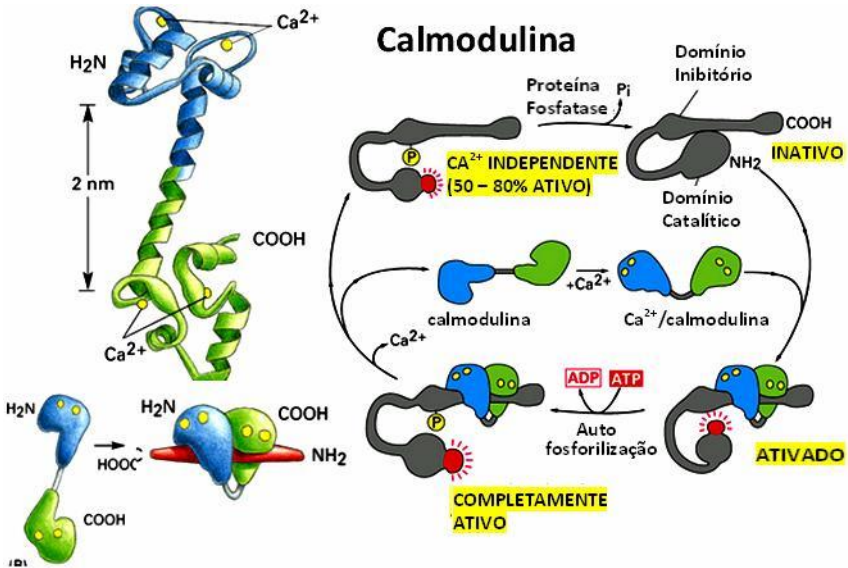


Fig. 6: Enzima óxido-nítrico-sintase, tipos, produtos enzimáticos e relação com a enzima calmodulina.



A enzima calmodulina liga-se a ambos domínios da óxido-nítrico-sintase

Domínio Oxigenase:
 Heme
 Tetrahydropterina
 Arginina

Domínio Redutase:
 Sítio Flavina
 FAD, FMN
 Sítio NADPH

Regulação da atividade da óxido-nítrico-sintase

Regula a concentração de cálcio necessário ao funcionamento da óxido-nítrico-sintase

Fornecer nucleotídeos cíclicos (cofatores necessários ao funcionamento da óxido-nítrico-sintase)

Regula o fluxo de elétrons através do domínio redutase

Fig. 7: Atividade reguladora da óxido-nítrico-sintase pela calmodulina.

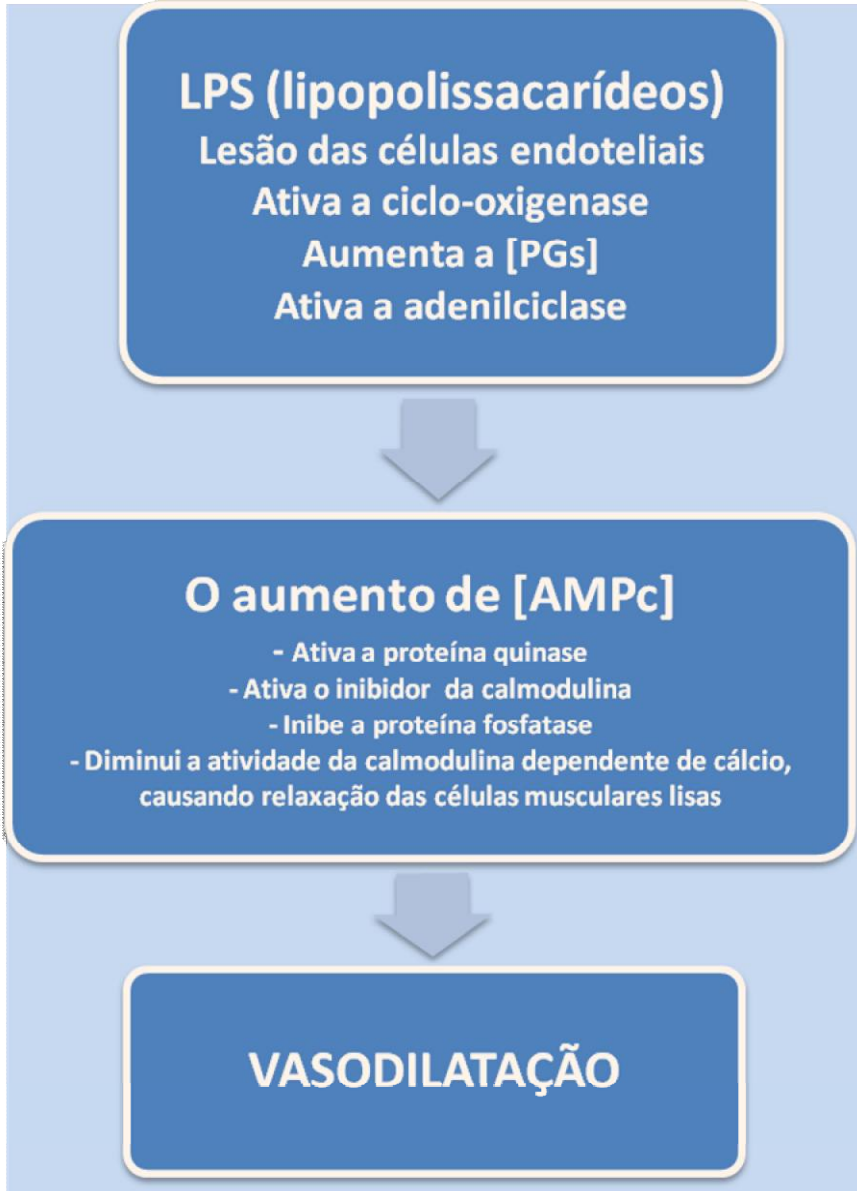
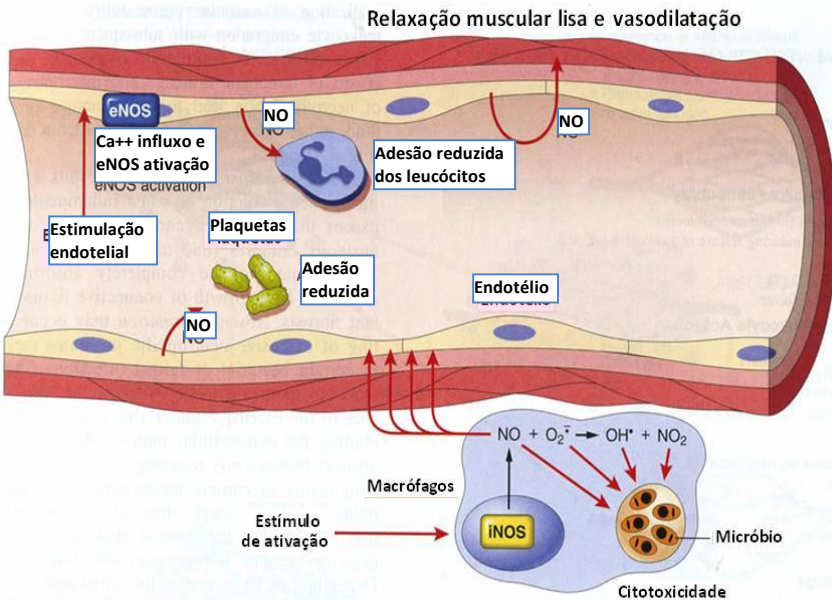


Fig. 8: Efeito vasodilatador causado pelo aumento intracitoplasmático de AMPc.



<p>Aumentam a síntese de óxido nítrico, pois inibem a glicólise aeróbica, estimulando a anaeróbica, ativando a óxido nítrico sintase (ONS)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • IFN-γ • TNF-α • IL-2 • IL-15 • IL-1
<p>São moléculas moduladoras da atividade da enzima óxido nítrico sintase (ONS)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • IL-4 • IL-10 • IL-22 • TGF-β
<p>Apresenta efeito dual: em presença o fator estimulador de colônia macrófago-granulocítico (CSF-GM) ativa a ONS e em presença de LPS + CSF-M (fator estimulador de colônia de macrófagos) inibe a ONS</p>	<ul style="list-style-type: none"> • IL-13

Fig. 9: Efeito de algumas citocinas e fatores de crescimento na síntese de óxido nítrico.

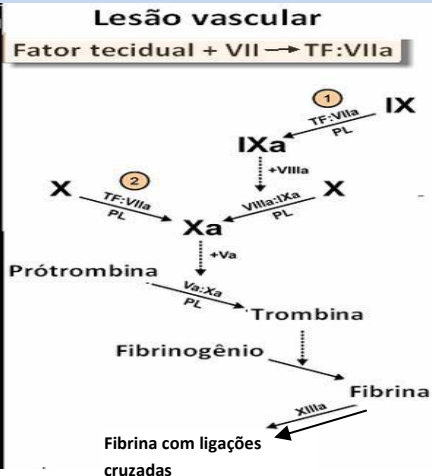
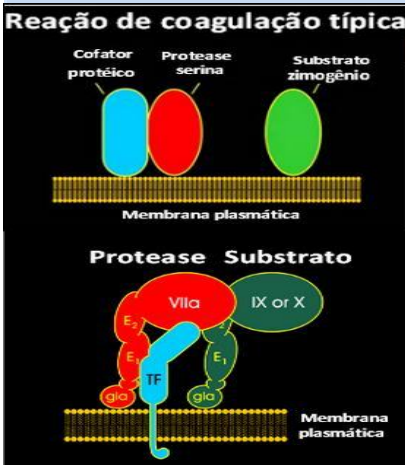
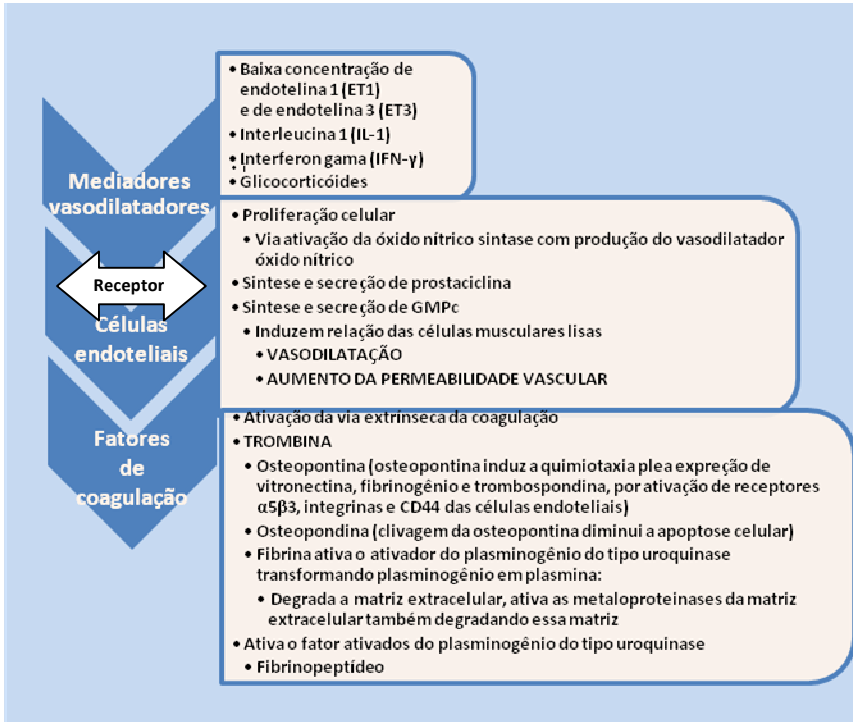


Fig. 10: Mecanismo de vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e exsudação plasmática via trombina.

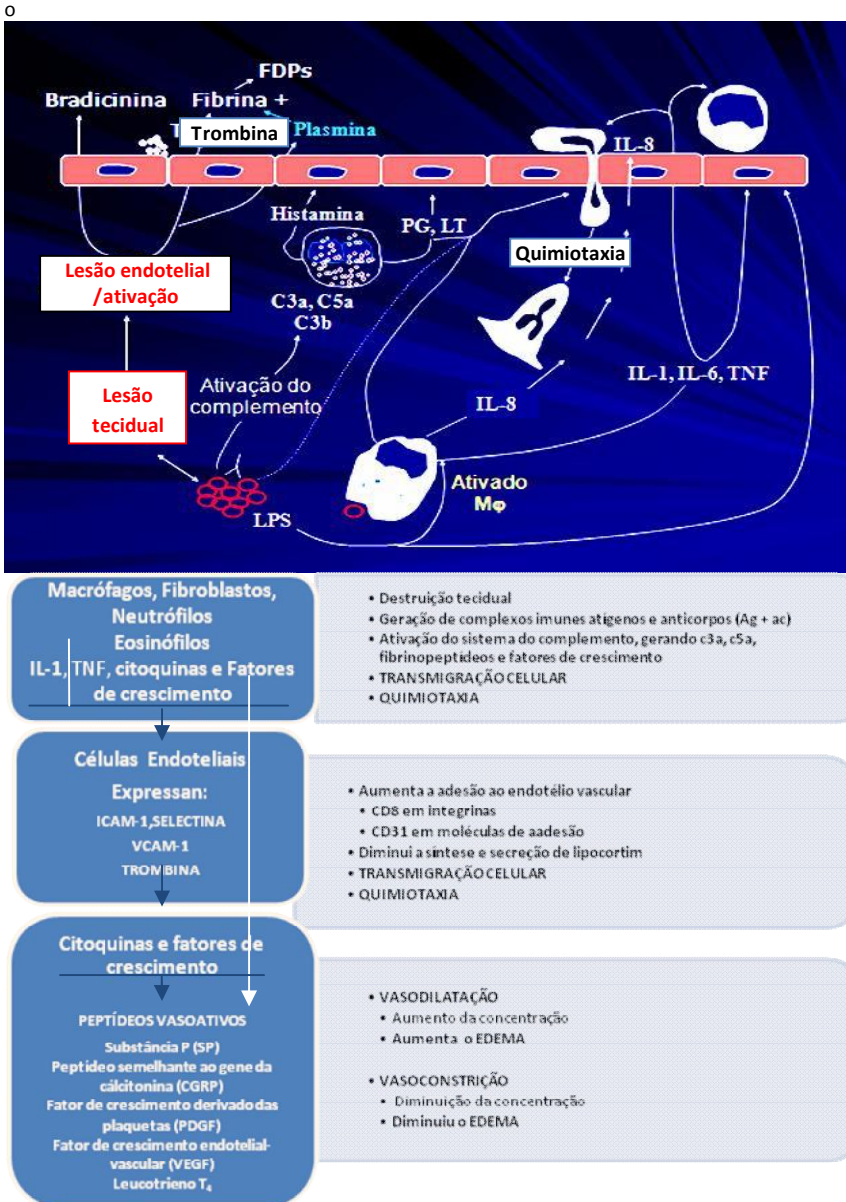


Fig. 11: Mecanismo de vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular e exsudação plasmática induzida por outros peptídeos vasoativos.

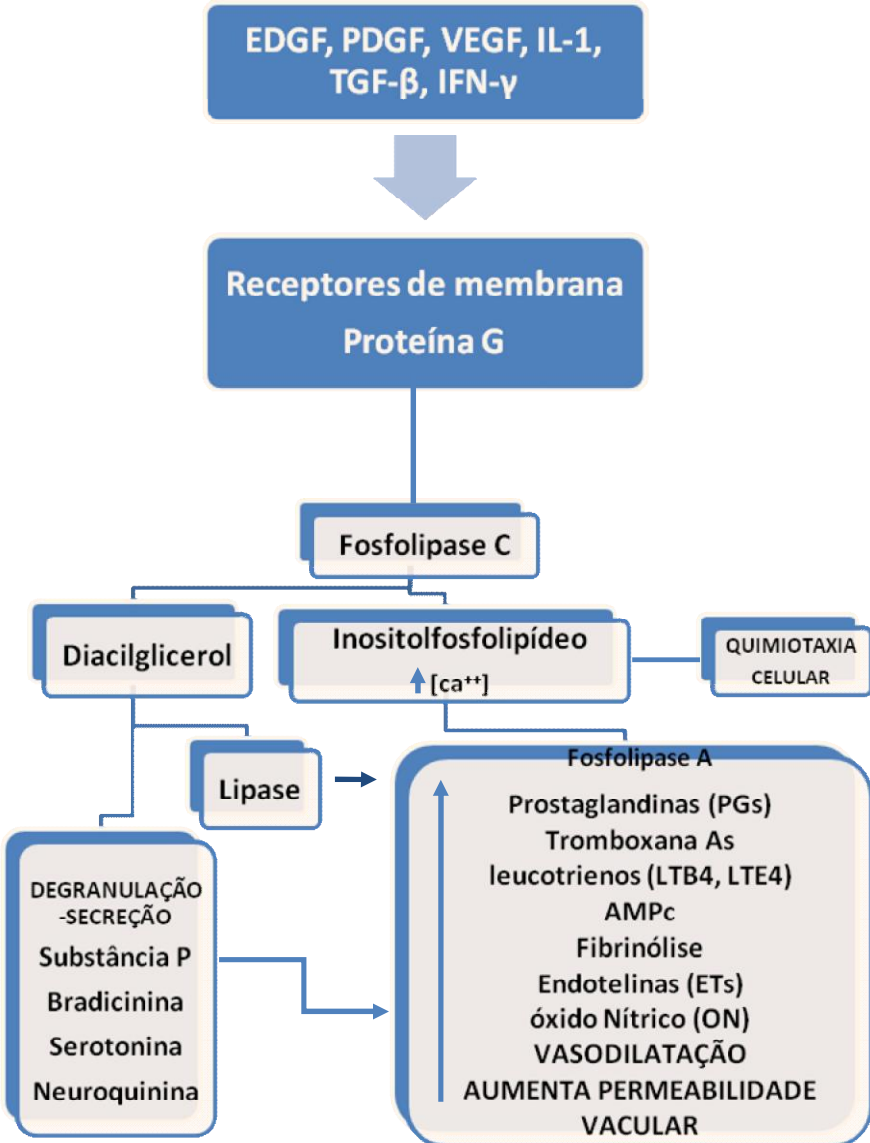


Fig. 12: Mecanismo bioquímico inicial de formação das lesões inflamatórias perivascularis.

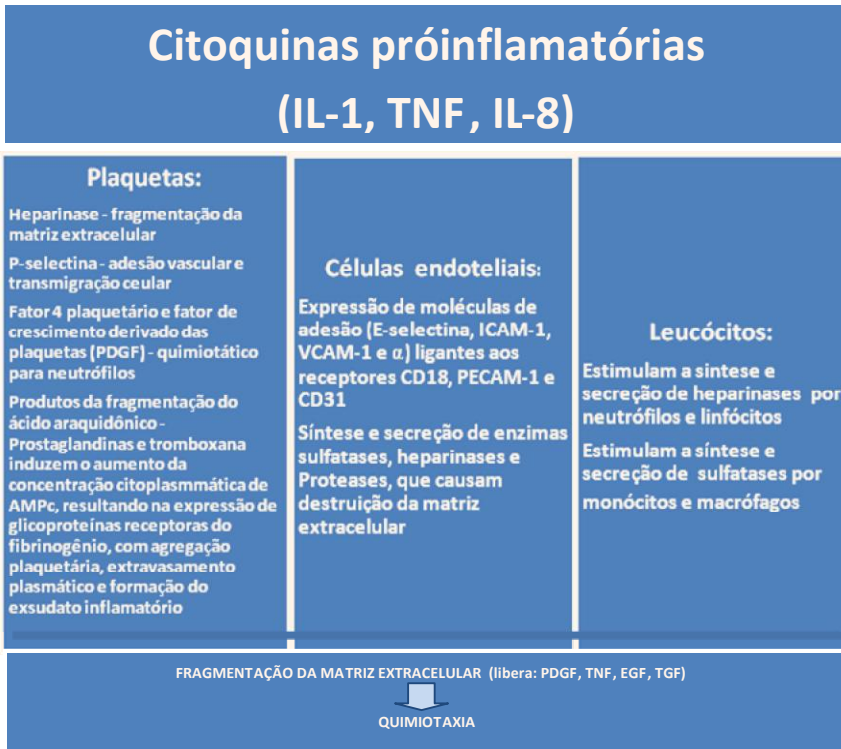


Fig. 13: Quadro demonstrativo dos principais efeitos da IL-1 e TNF em plaquetas e células endoteliais.

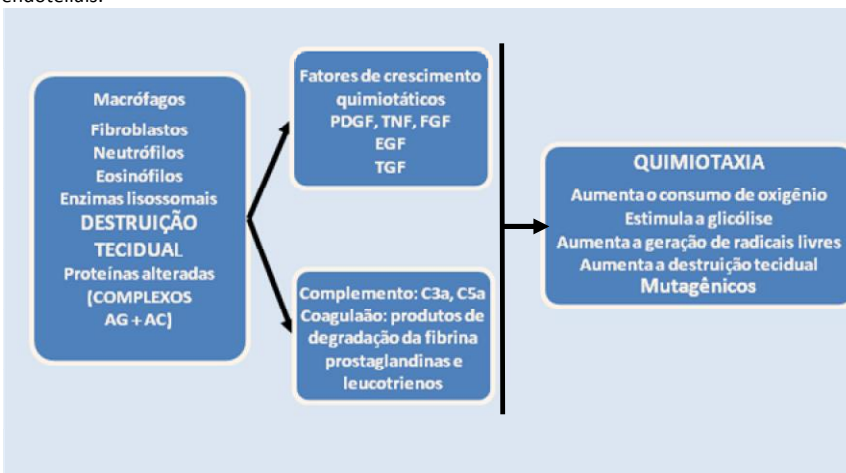


Fig. 14: Quimiotaxia induzida por fatores de crescimento e do complemento.

Tensão do oxigênio

Estados transitórios de hipóxia

Acentuada hipóxia

PGs

Ativação da fosfolipase A2

VASOCONSTRIÇÃO PASSAGEIRA, seguida de **VASODILATAÇÃO**

Diâmetro vascular

Influencia a exsudação plasmática, a migração transendotelial e a reação necrótica

Inibição da óxido nítrico sintase (ONS)

VASOCONSTRIÇÃO SUSTENTADA

Efeitos da hipóxia tecidual (diminuição da tensão do oxigênio)

Passageira

Ativação da ATPase
Vasodilatação

Sustentada

Inibição da enzima óxido-nítrico-sintase (ONS)
Diminuição da síntese e secreção de óxido nítrico
Vasoconstricção

Efeitos da hipóxia sustentada em células endoteliais

PROLIFERAÇÃO CELULAR

Ativa receptores associados à proteína G
inisolglicolipídeos:
Ativa proteínas citoplasmáticas
Fatores de transcrição nuclear

Efeitos da hipóxia sustentada (células musculares lisas)

Prostaglandinas (PGs)

Fator de crescimento fibroblástico

(FGF)

Radicais livres

Formação de pontes dissulfetos

Cisão da ligação lipídeo-lipídeo

Peroxidação lipídica

NECROSE
APOPTOSE

Fig. 15: influência da hipóxia no diâmetro vascular.

Principais oxidantes
Produzidos por fagócitos



Fig. 16: Efeitos da diminuição da tensão do oxigênio no local da inflamação periapical.

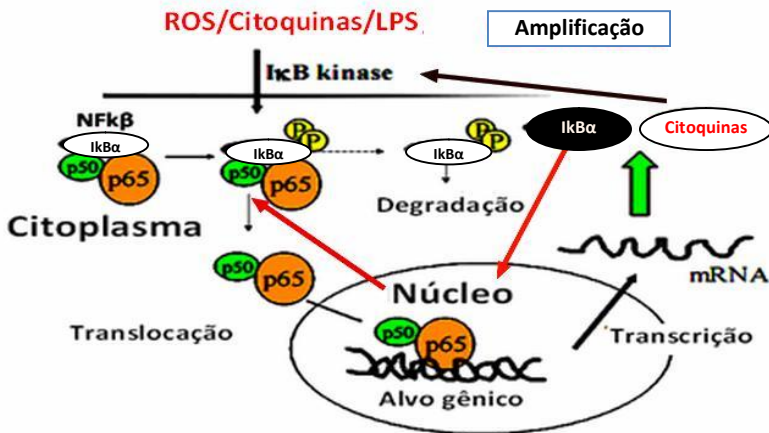
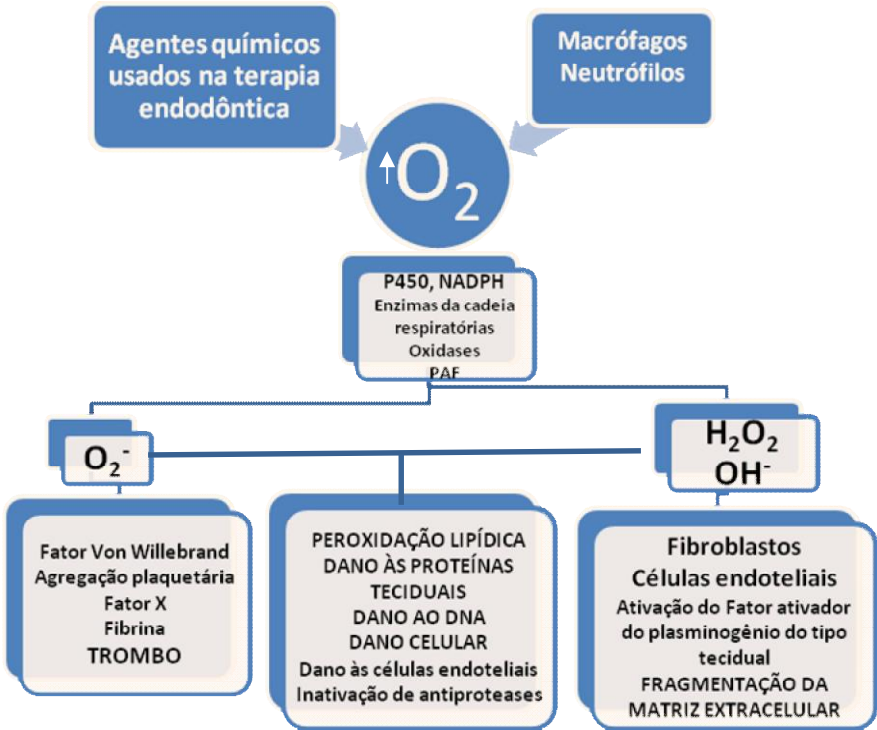


Fig. 17: Efeito do aumento da concentração de oxigênio em lesões granulomatosas periapicais.

Relaxação dependente do endotélio

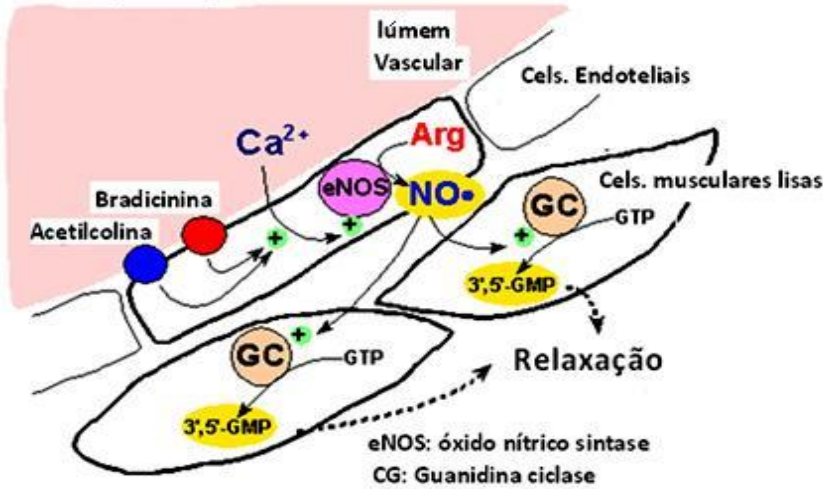


Fig. 18: relaxação dependente do endotélio.

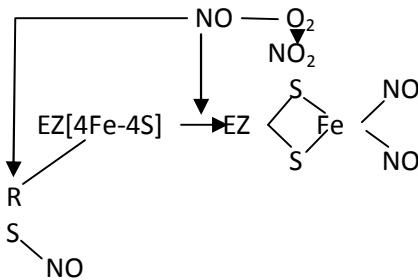
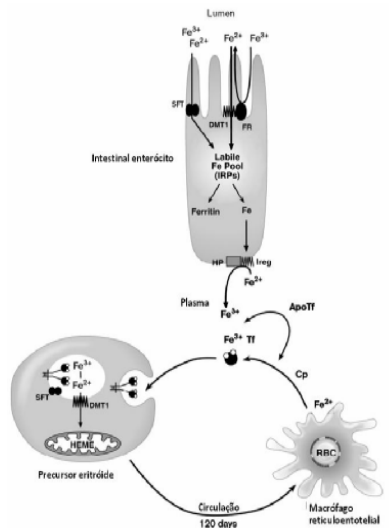


Fig. 19: Regulação do ferro e inativação enzimática por reações (1) com centros sulfúricos-ferro para formar o complexo ditiolato-dinitrosil-ferro; (2) reação com superóxido para formar peróxido-nitroso e radical hidroxil; (3) nitrosação do tiol e outros centros nucleofílicos (aminas e complexos aromáticos).



Óxido nítrico sintase (ONs)

Substratos, cofatores

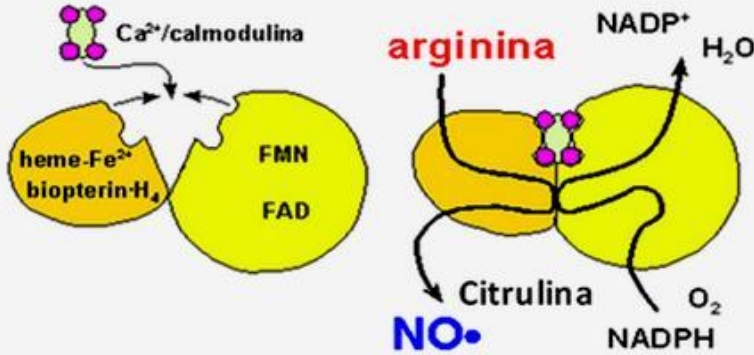


Fig. 20: Ativação da enzima óxido-nítrico-sintase.

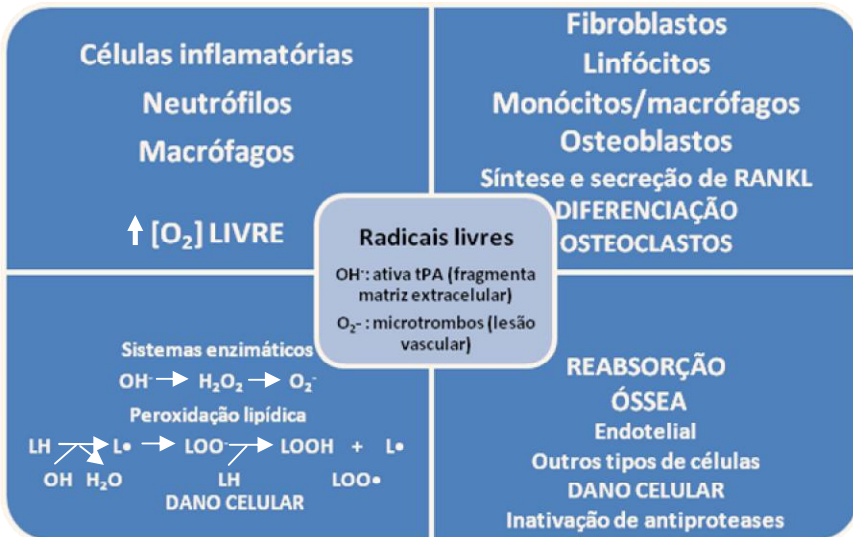


Fig. 21: Mecanismos de formação e principais efeitos dos radicais livres.

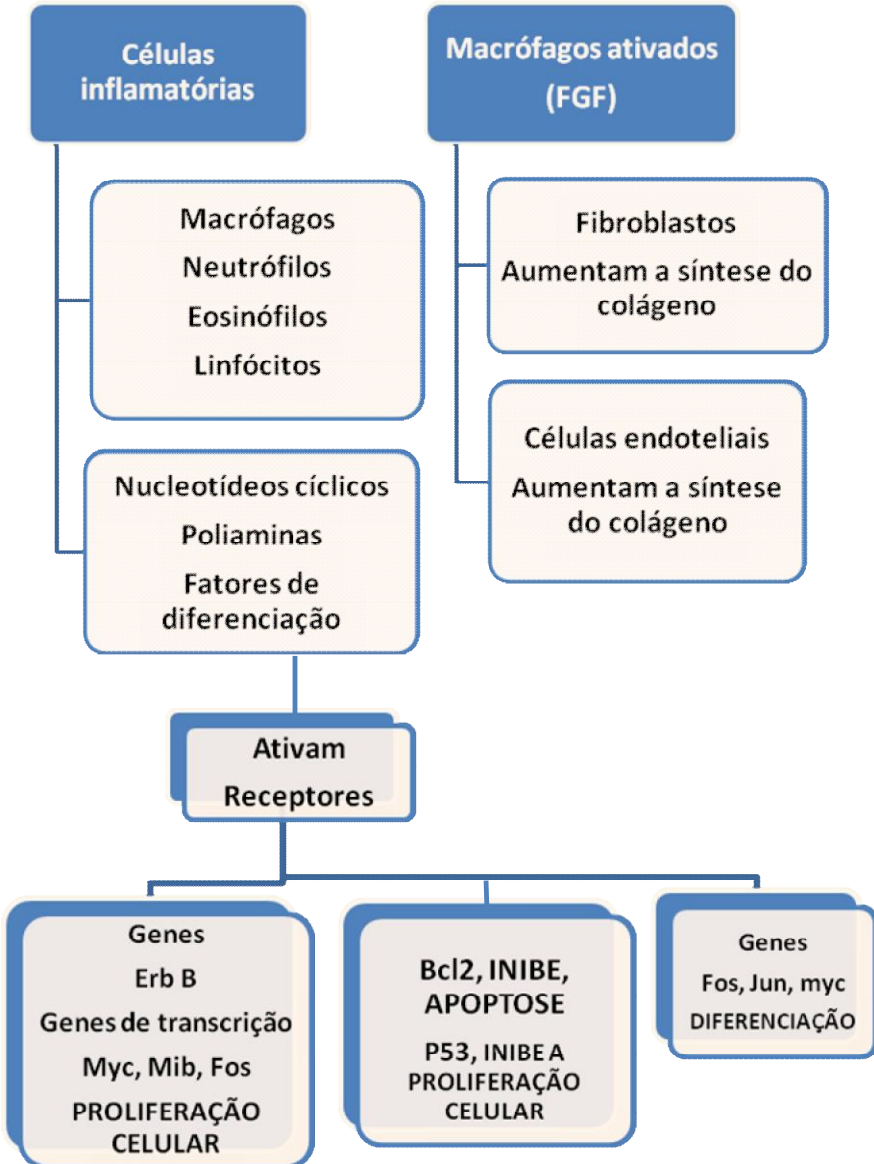


Fig. 22: Proliferação celular e formação de fibras colágenas em lesões inflamatórias periapicais.

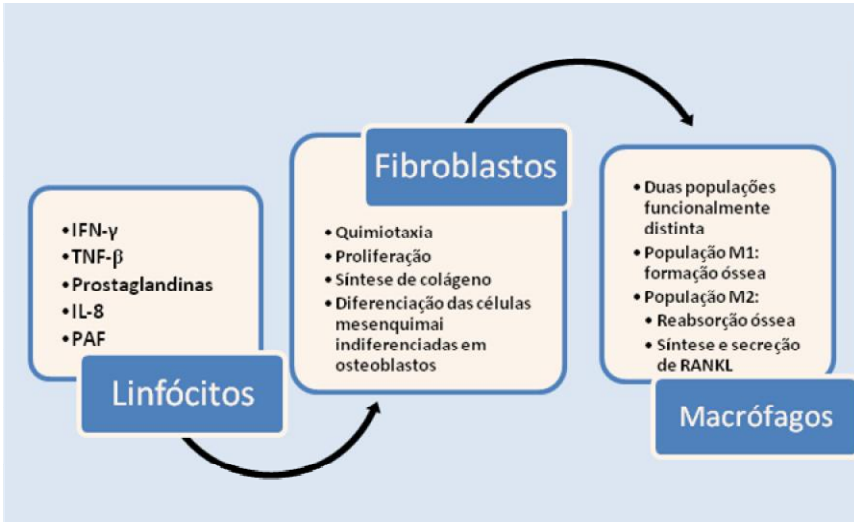


Fig. 23: Relação entre linfócitos, fibroblastos e macrófagos via sistema imune.

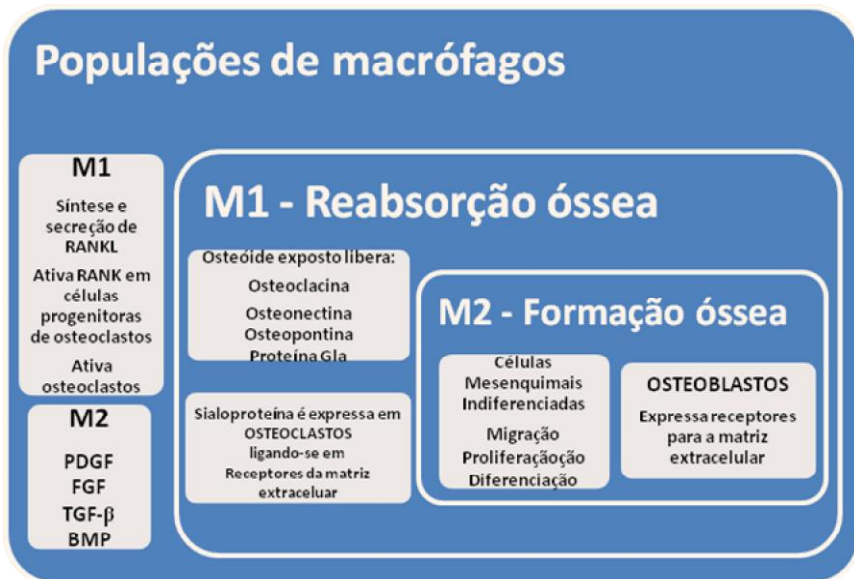


Fig. 24: Populações de macrófagos nas lesões periapicais e no processo de reabsorção ósseo.

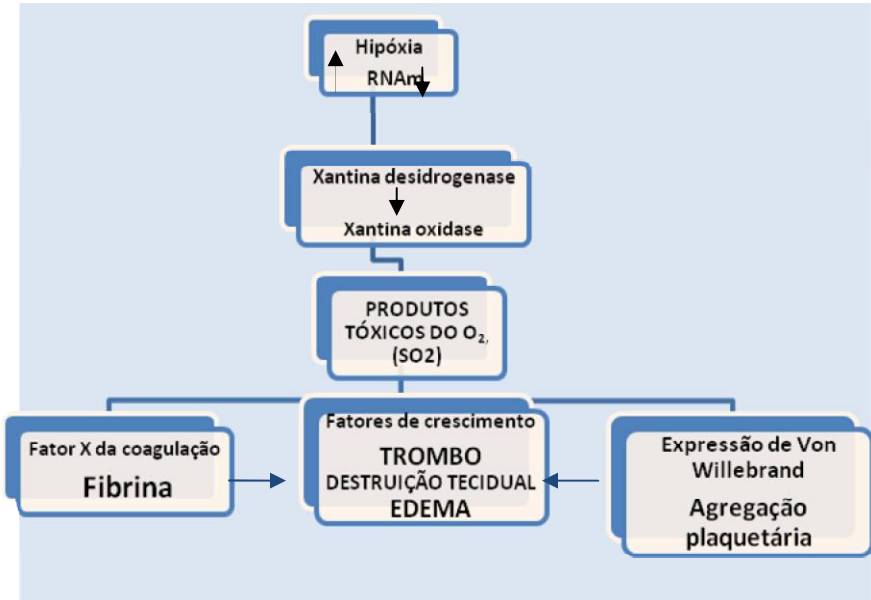


Fig. 25: Mecanismo de destruição tecidual via ativação do sistema XD/XO e radicais tóxicos derivados do oxigênio

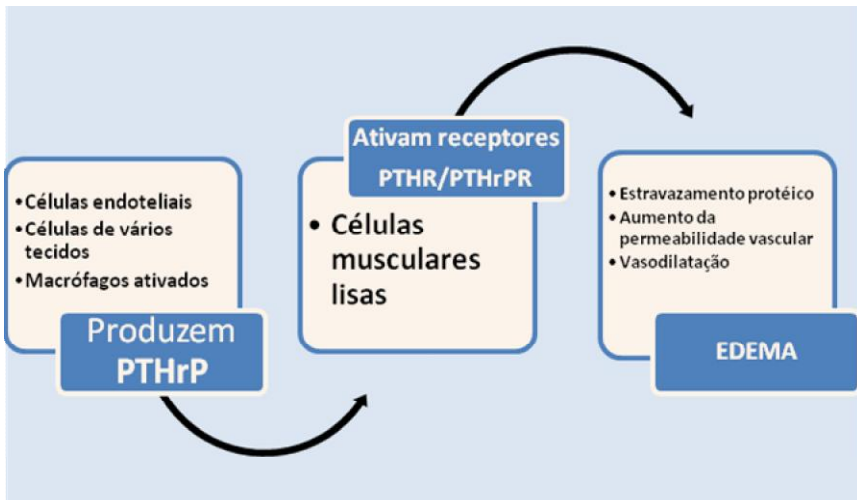


Fig. 26: Síntese e secreção do PTHrP e formação do edema.

IL-8, IL-1, TNF- α , CSFs

Enzimas lisossomais

Membrana semelhante a um saco localizada no interior da célula em que proteínas provenientes do exterior da célula são fragmentadas.

São mais de 50 tipos de enzimas digestivas hidrolíticas.

pH = 5 (pH ótimo de atividade)

Células endoteliais
sulfatase, heparinase e protease

Plaquetas - heparinase

Neutrófilos - proteases

Monócitos/macrófagos -
sulfatases

linfócitos - heparinases

Mecanismo 1 de secreção:

Citotóxico - durante a lise celular

Secundário - durante a fagocitose

Mecanismo 2 de secreção:

Tem relação com a estrutura do agente flogógeno

Se particulado -
acentuada secreção
de enzimas lisossomais

Plaquetas, Monócitos e Macrófagos

Fosfatase alcalina

Lisoeroxizima

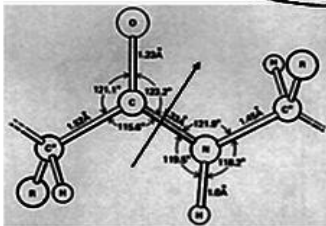
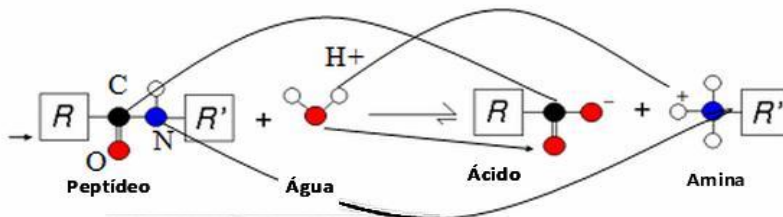
Poxidaseer

Catepsina

Colagenase

Macrófagos

DEGRADAÇÃO PROTÉICA INDUZIDA PELAS ENZIMAS LISSOSSOMAIS (HIDROLÍTICAS)



Hidrólise da ligação peptídica

27: indução de secreção de enzimas lisossomais por citocinas e fatores de crescimento e o seu mecanismo de destruição tecidual.

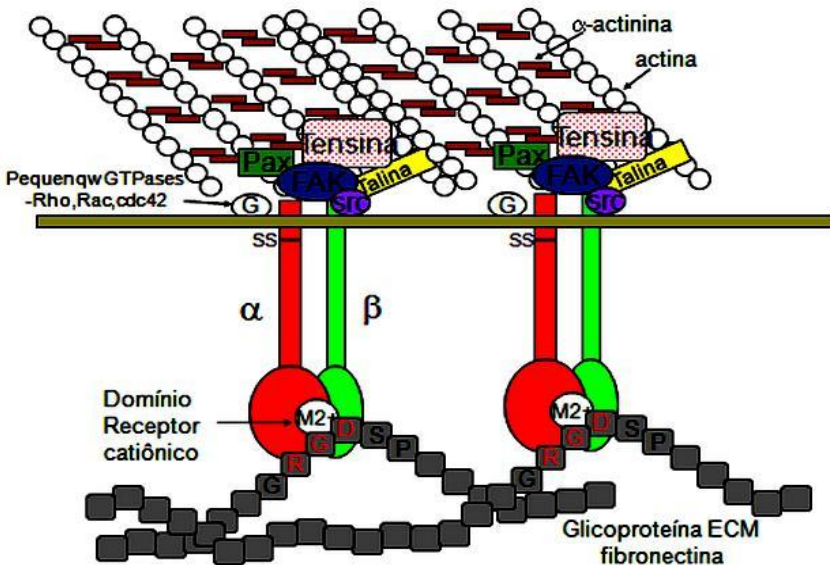
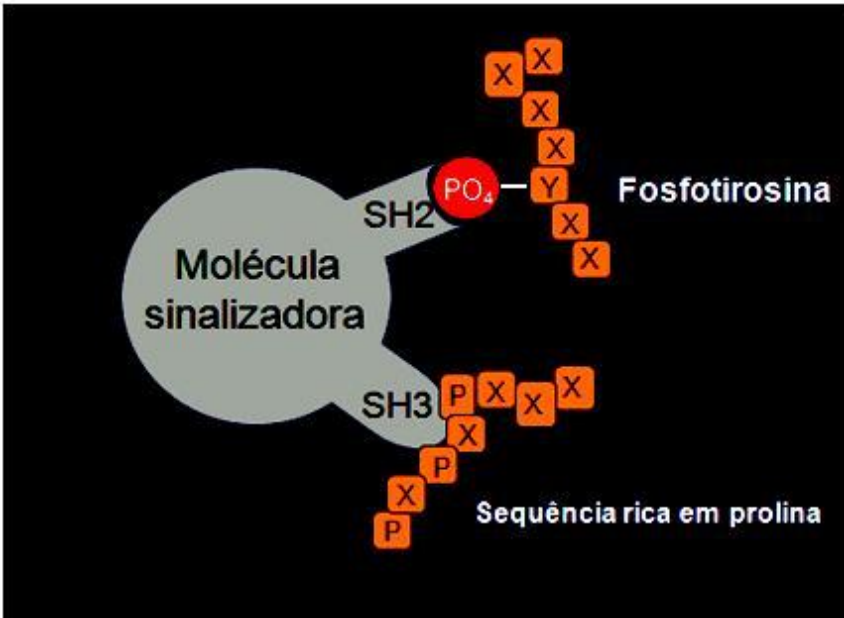


Fig. 28: Receptor do tipo integrina.

Quimiotaxia

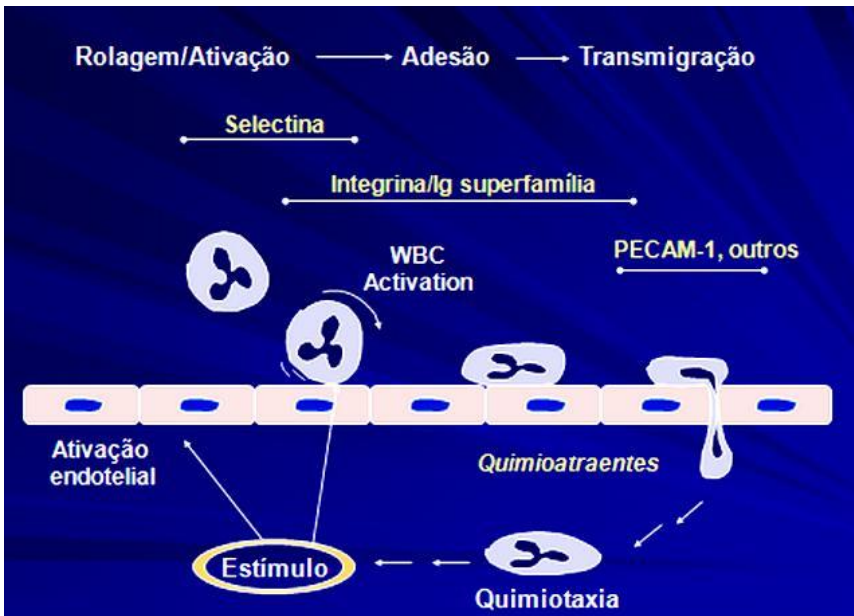
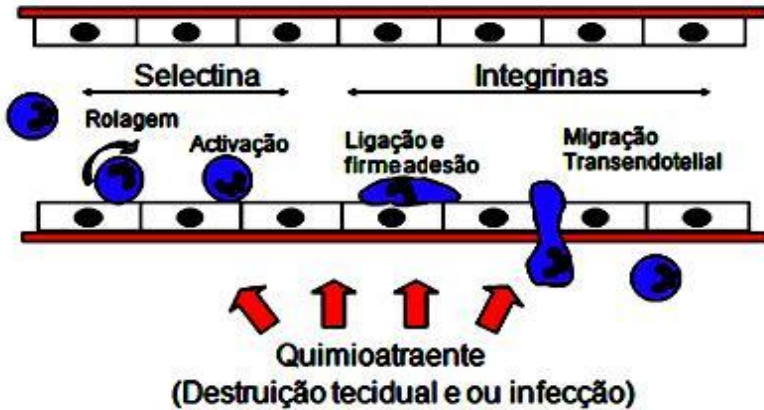


Fig. 29: Quimiotaxia celular.

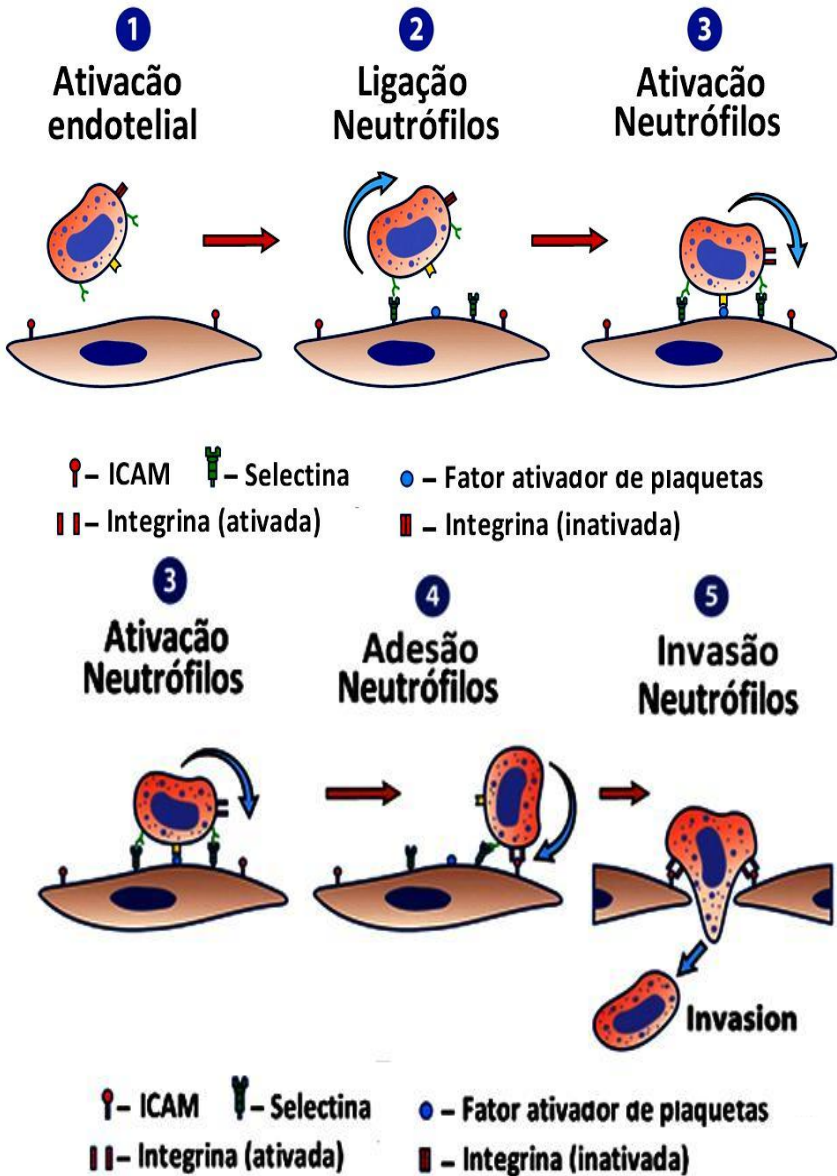


Fig. 30: Adesão ao endotélio vascular .

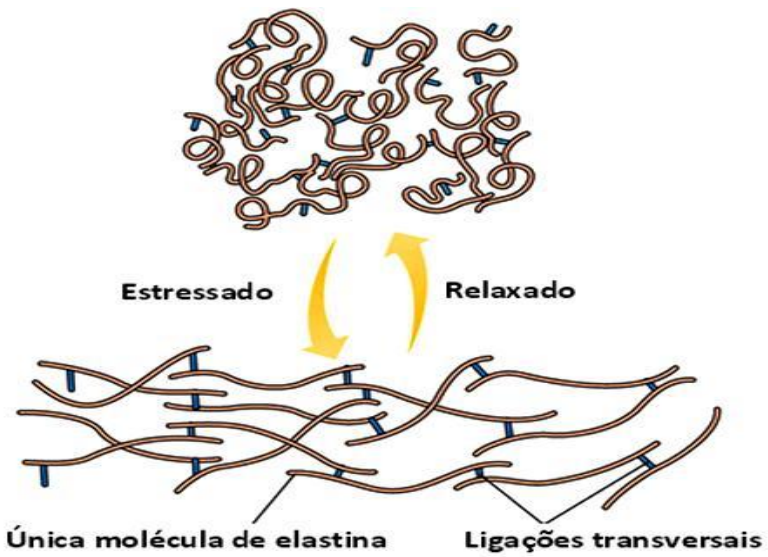
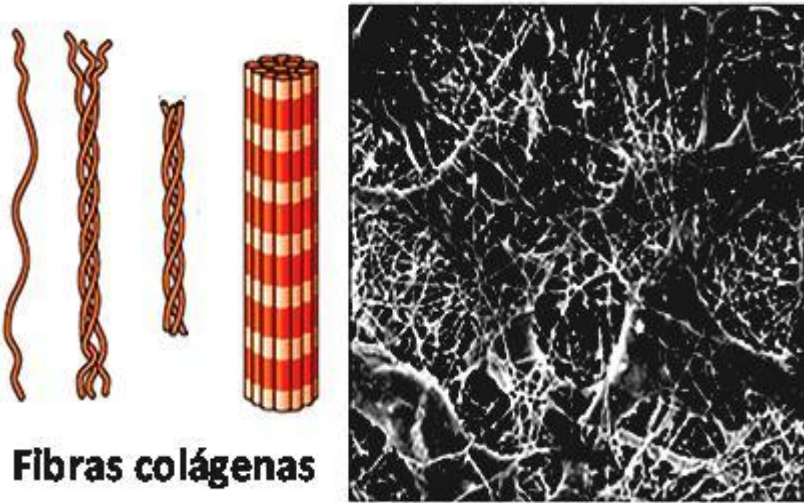


Fig. 31: Estrutura das fibras colágenas e elásticas.

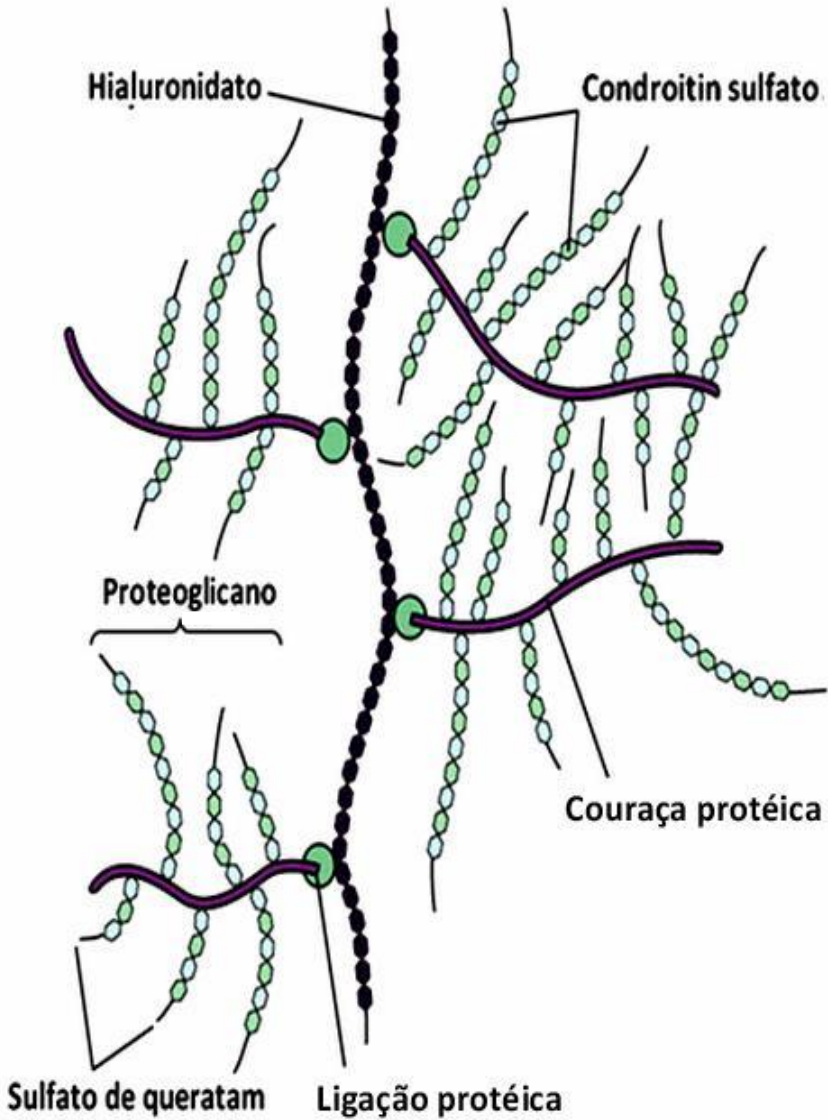
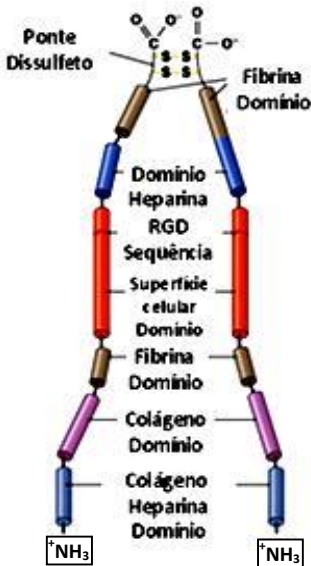


Fig. 32: Estrutura complexa do proteoglicano.



Fibronectina liga células à ECM

Fibronectina tem múltiplos sítios de ligação

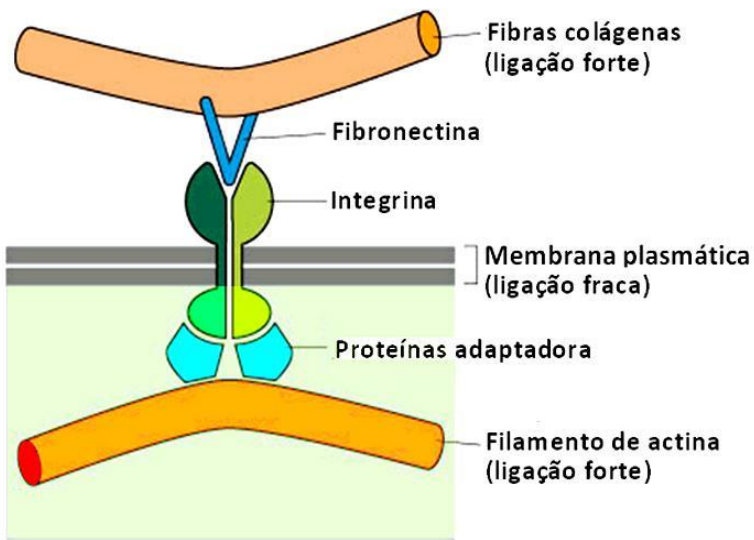


Fig. 33: Fibronectina liga-se à integrina comunicando o exterior ao interior da célula.

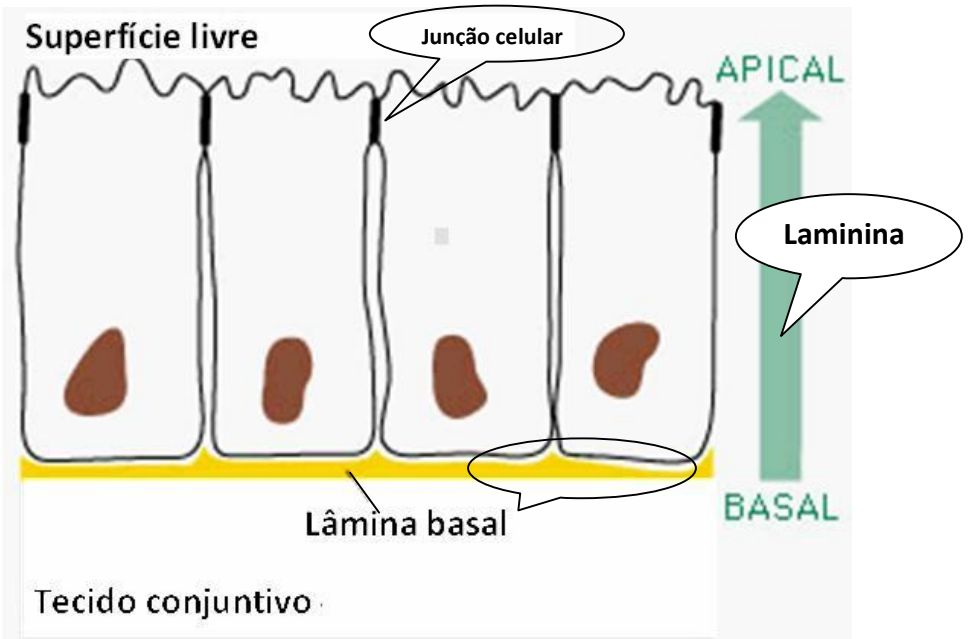


Fig. 34: Laminina une a célula à lâmina basal.

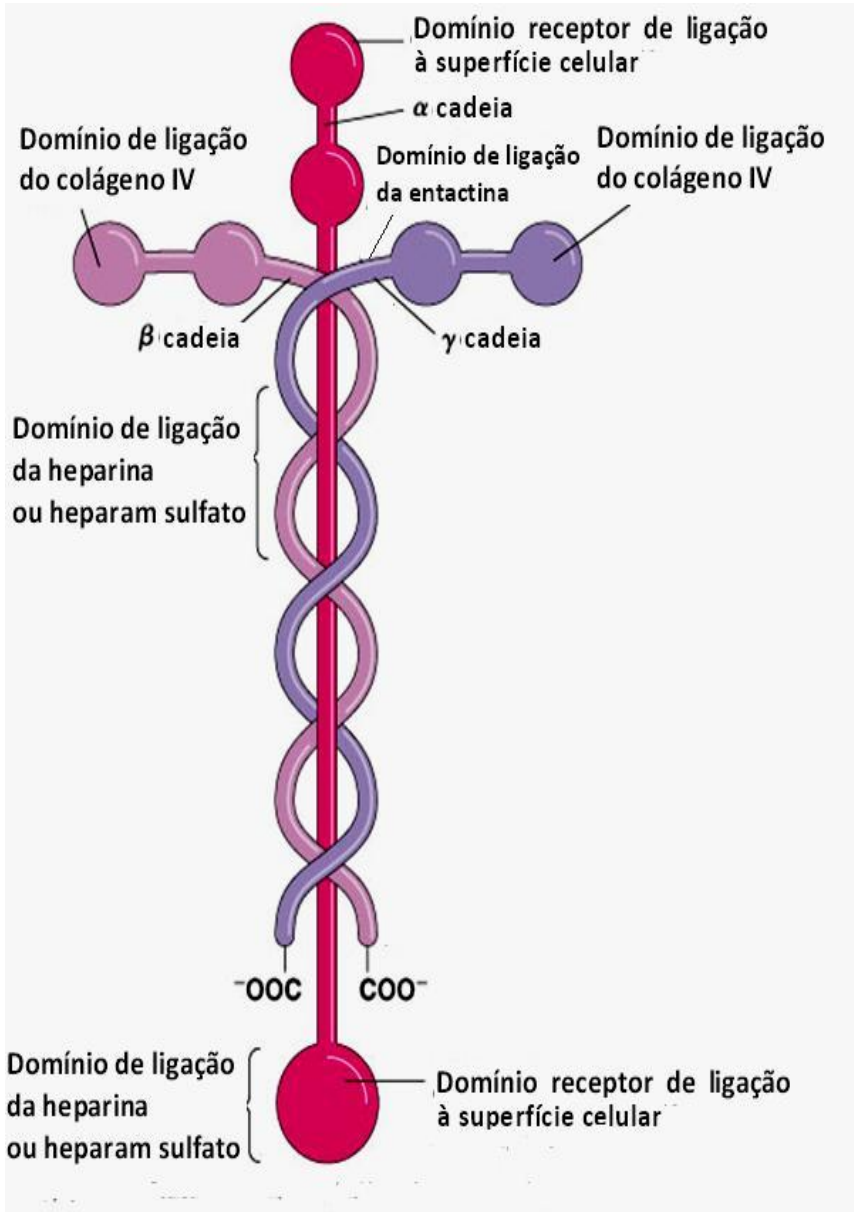


Fig. 35: Estrutura da molécula de laminina.

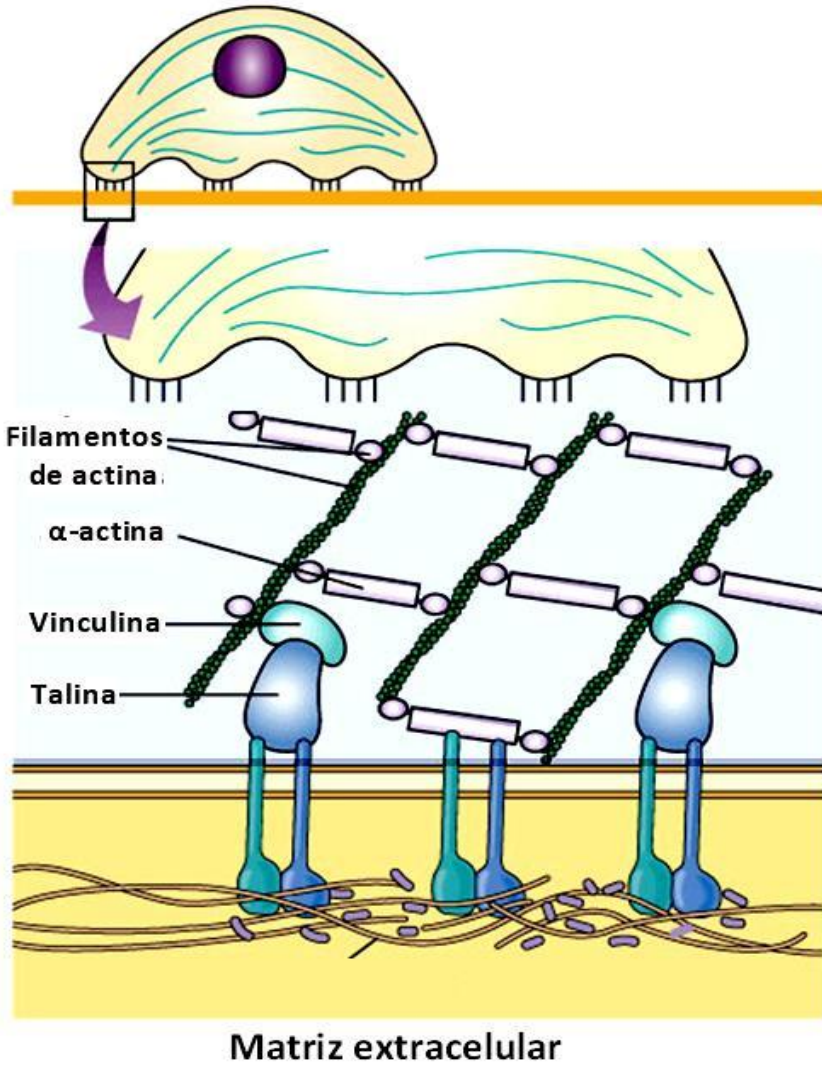
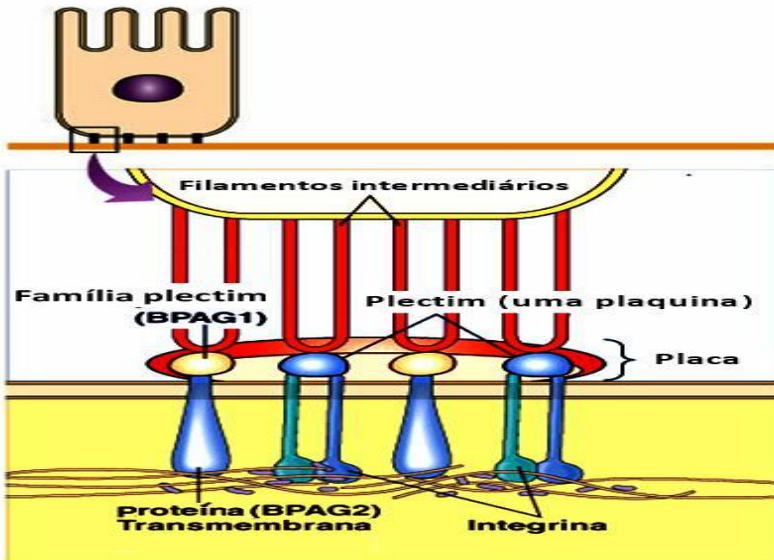


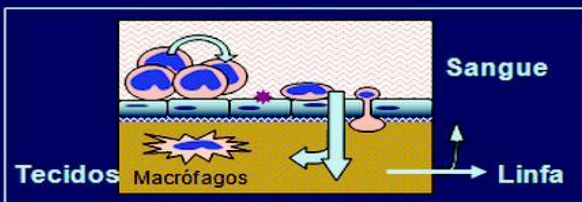
Fig. 36: Migração celular via ligação focal à ECM.



Hemidesmosomas

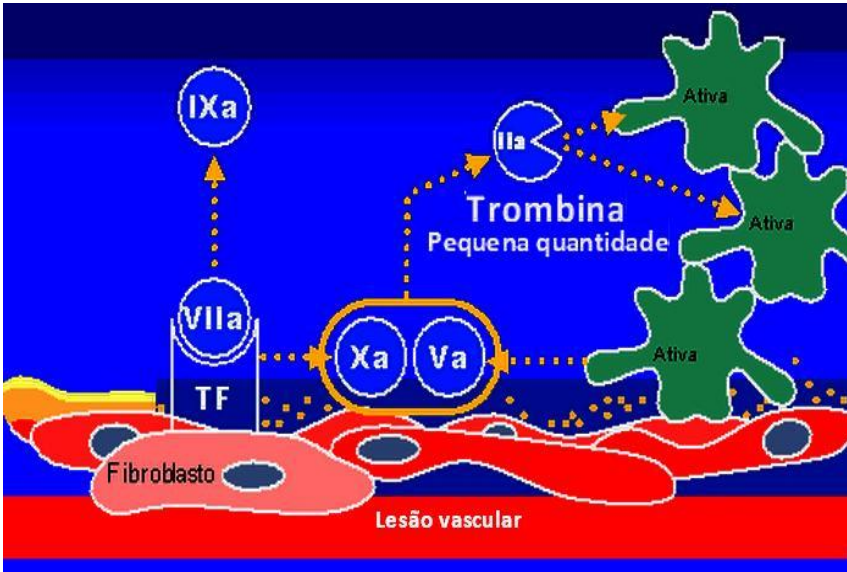
Fig. 37: Células estacionárias ligam-se a ECM por hemidesmosomas.

Monócitos continuamente migram para os tecidos



- **Monócitos saem os tecidos por via reversa à migração transendotelial**

Fig. 38: Migração dos macrófagos.



Superfície conectada
Ao sistema canalicular

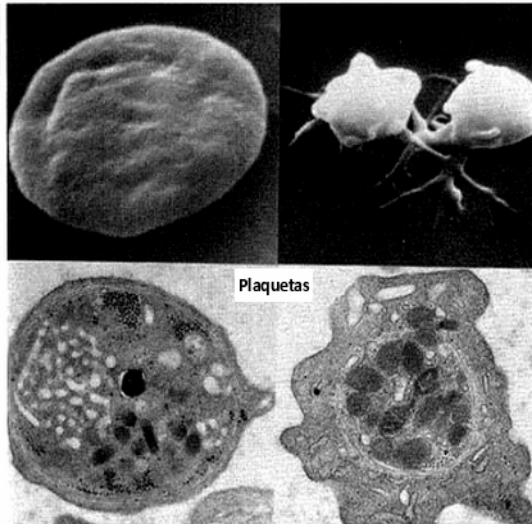
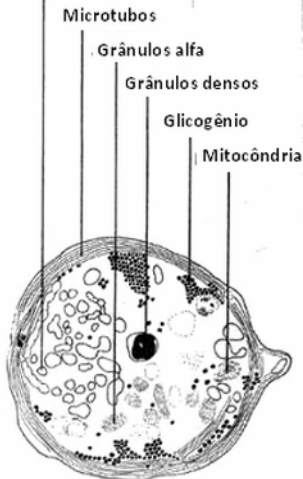


Fig. 39: Microlesões vasculares induz a produção de trombina resultando na ativação de plaquetas.

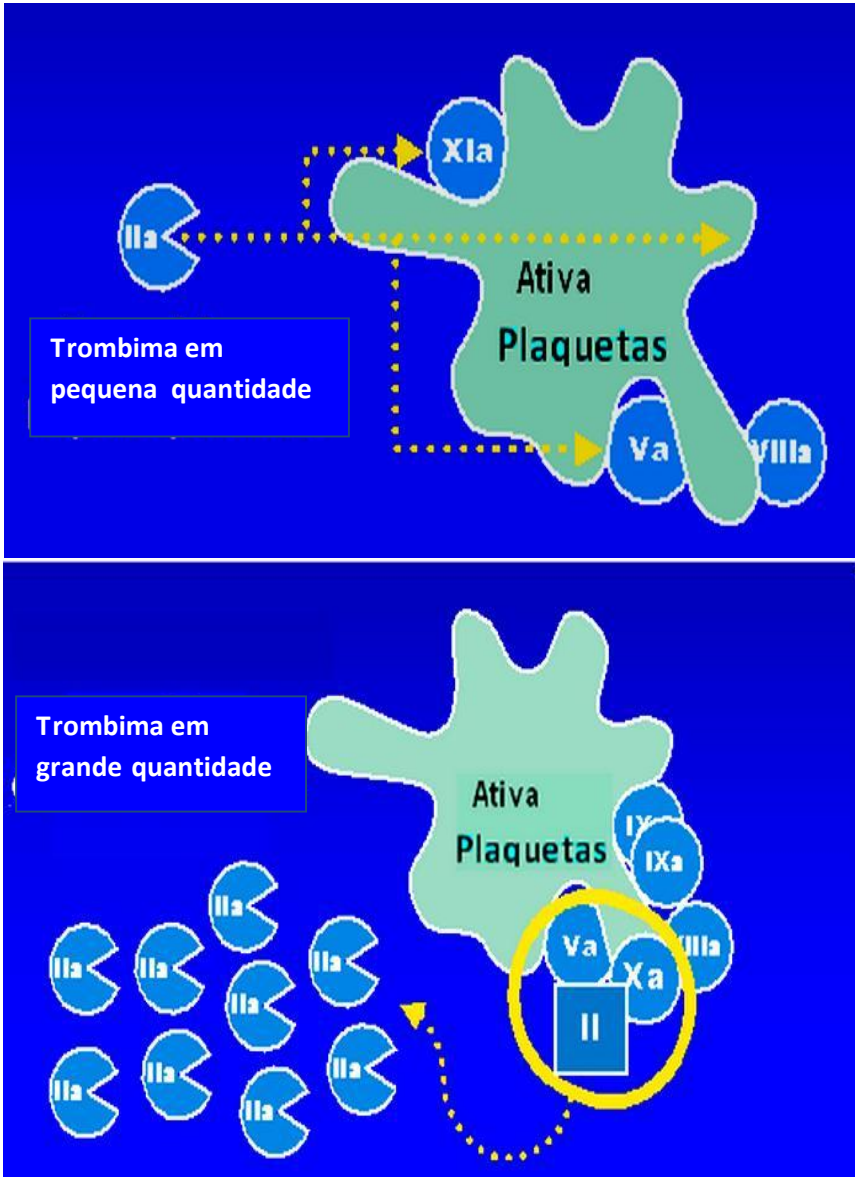


Fig. 40: influência da concentração de trombina na geração de fatores da coagulação.

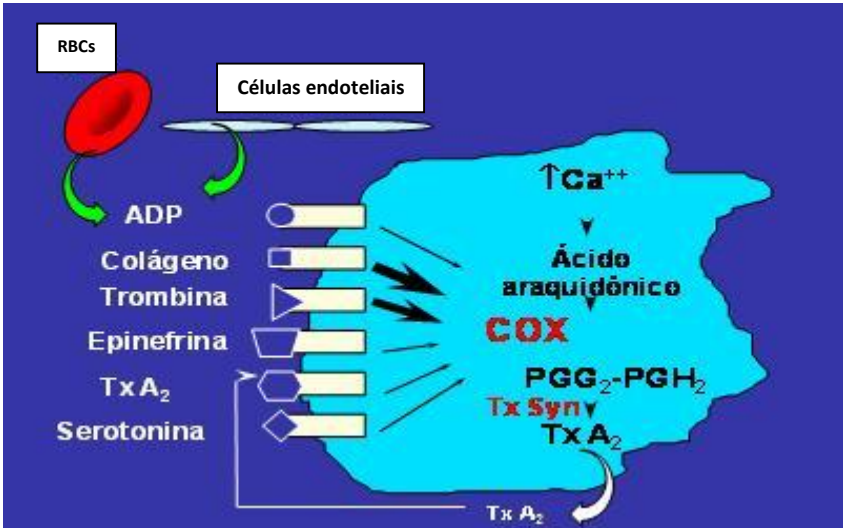


Fig. 41: Geração de trombina e ativação das plaquetas resultando na produção de PGs e agregação plaquetária.

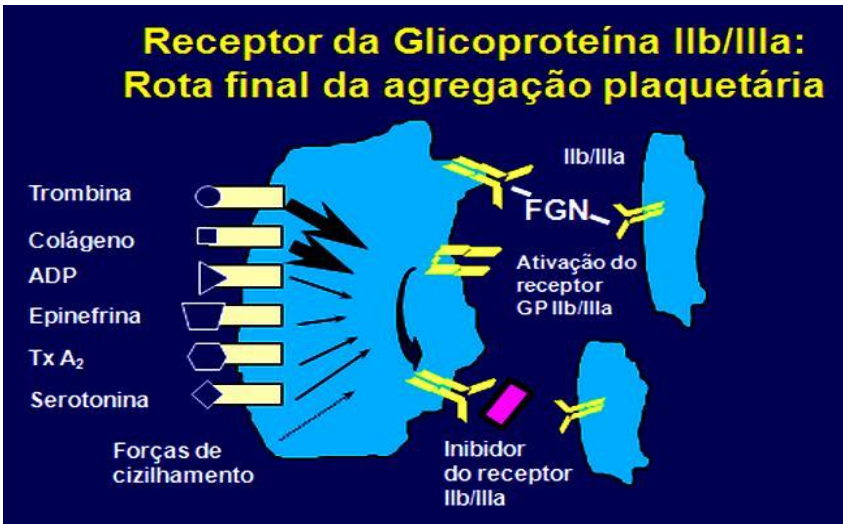


Fig. 42: A trombina induz a expressão do receptor da glicoproteína IIb e IIIa induzindo agregação plaquetária.

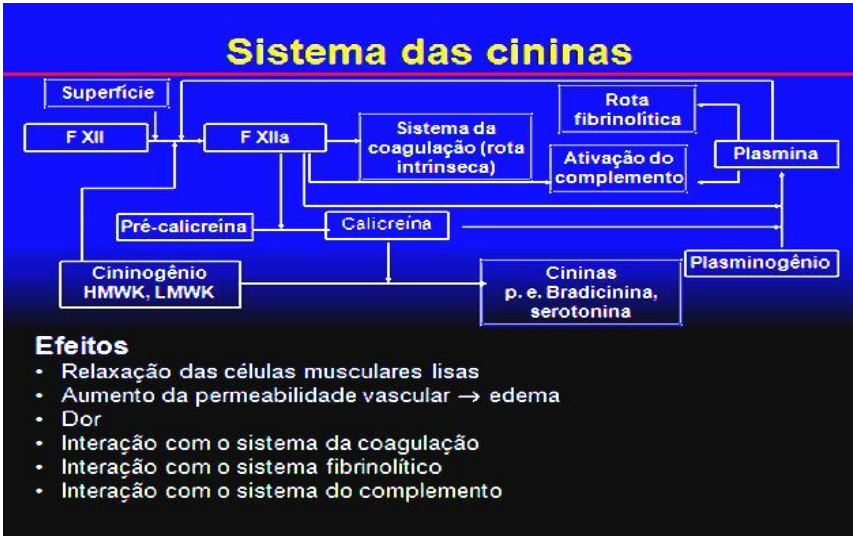


Fig. 43: Sistema das cininas e geração do plasminogênio.

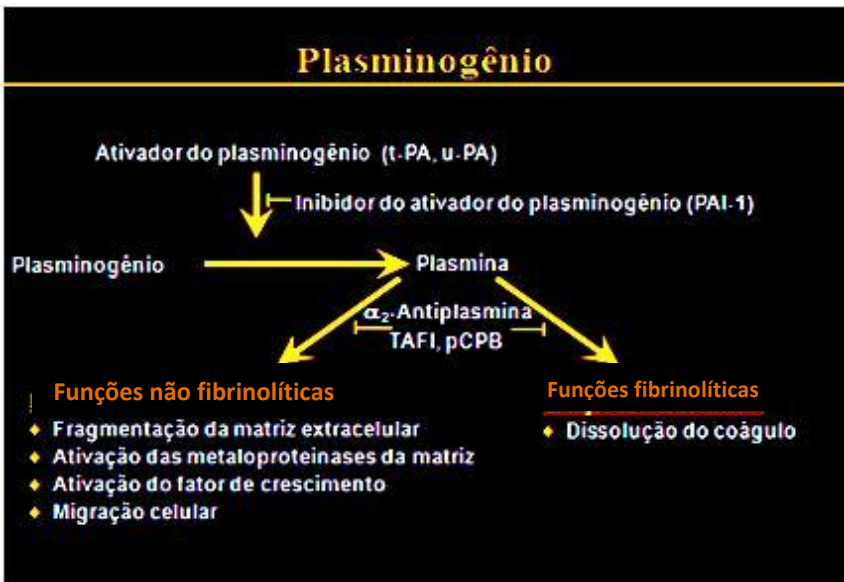


Fig. 44: Mecanismos de ativação e inibição do plasminogênio.

A ativação do receptor do NF- κ B (Rank)

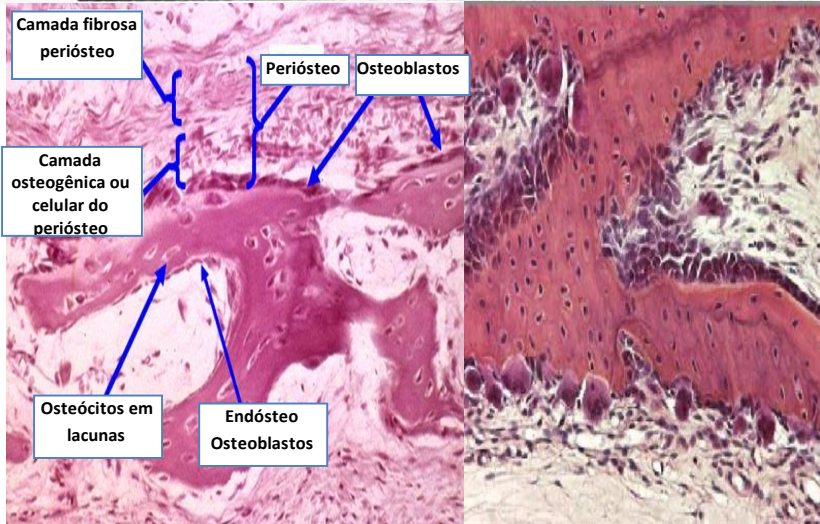
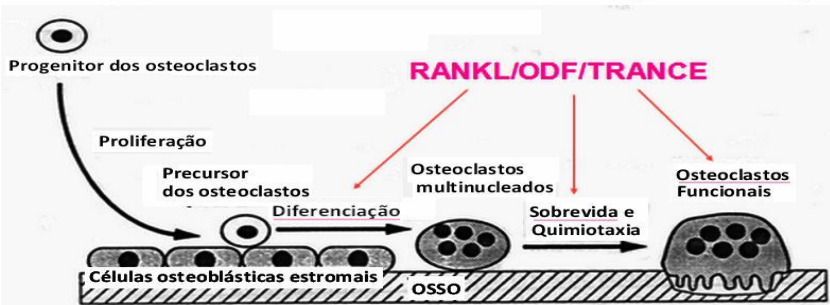
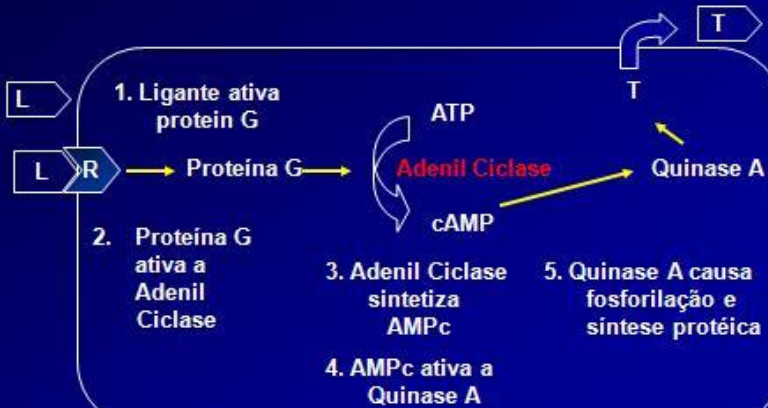


Fig. 45: Ativação do receptor do NF- κ B em células precursoras de osteoclastos.

AMPC – Rota de ativação



M.J. Fields

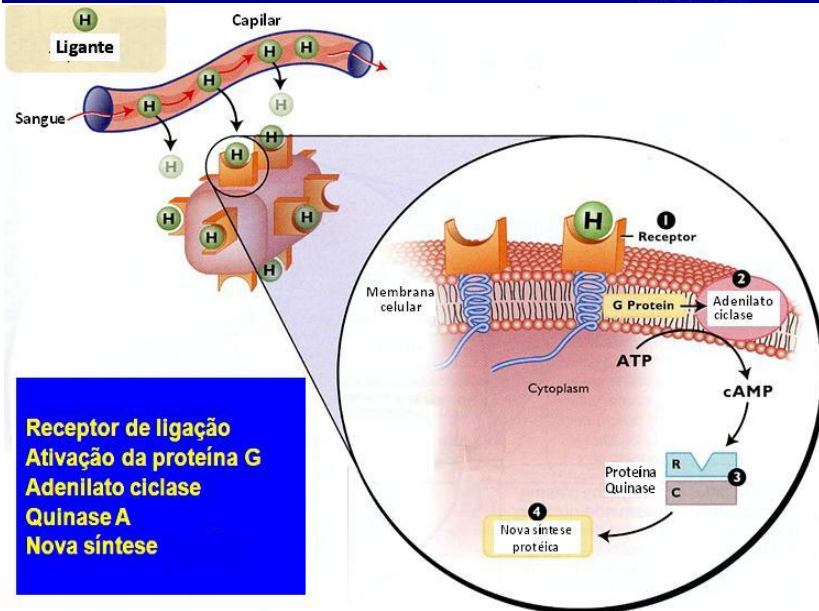


Fig. 46: Ativação da proteína quinase A pelo AMPc.