

The background features a network of thin blue lines connecting several overlapping circles of varying shades of blue. The circles are arranged in a way that suggests a cellular or molecular structure. One large circle is at the top, another large one is at the bottom, and a smaller one is on the right side. The lines intersect to form a triangular shape in the center.

# Capítulo 4

**Mecanismos de aumento da  
população celular em lesões  
inflamatórias periapicais**

## **A importância da angiogênese na formação das lesões inflamatórias periapicais**

A formação vascular ocorre por diferenciação das células a partir de angioblastos no saco de yolk do embrião (fig. 32). Tal processo (angiogênese) pode ser dividido em cinco fases: 1) – **fragmentação da matriz extracelular e membrana basal dos vasos**; 2) – **migração e quimiotaxia das células endoteliais**; 3) – **proliferação e diferenciação das células endoteliais**,<sup>1</sup> 4) - **formação do lúmen**, maturação e inibição do crescimento; e, 5) - **aumento da permeabilidade** através da fenda vascular e endocitose.

Esse processo desempenha papel importante na formação do tecido granulomatoso periapical, pois fornece nutrientes necessários à sobrevivência da população celular do granuloma,<sup>1</sup>

### **Citoquinas e fatores de crescimento modulam a angiogênese**

A angiogênese é regulada por várias citocinas e fatores de crescimento, tais como: fator transformador do crescimento beta 1 (TGF- $\beta$ 1); interleucina 1 (IL-1 $\alpha$ ), fator transformador do crescimento alfa (TGF- $\alpha$ ); fator do crescimento semelhante à insulina (IGF-1); fator de crescimento endotelial vascular (VEGF); e, fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF). Tais fatores estimulam a migração, proliferação, diferenciação celular; a atividade proteolítica e o comportamento organizacional das células endoteliais.<sup>2</sup>

### **Mecanismo angiogênico induzido por citocinas e fatores de crescimento**

Esses mediadores podem estimular a migração e a mitose das células endoteliais, mediante ligação específica em receptores de membrana dessas células, cujo estímulo resulta em mitose e/ou quimiotaxia.<sup>3,24</sup> Ao se ligarem em receptores específicos (proteína G, tirosina quinase) induzem a fosforização desses receptores e de proteínas intracelulares,

capazes de funcionar como mensageiros secundários ativando fatores de transcrição; ou então, aumentando a transcrição gênica, desencadeando efeitos biológicos que podem ser tanto autócrinos (na mesma célula) como parácrinos (em células vizinhas), (fig. 1; fig. 17, capítulo 1) dentre os quais se destacam o controle da proliferação das células endoteliais.<sup>3</sup> Existem alguns fatores de crescimento que não apresentam estímulo angiogênico direto (fig. 2); contudo, produzem tal estímulo ativando os macrófagos, e as células musculares lisas da parede vascular.<sup>3,24</sup>

O efeito desses mediadores é bastante complexo e dependente da presença de outros peptídeos; um determinado fator de crescimento poderá induzir em uma determinada célula atividades tanto estimuladoras quanto inibidoras. In vitro, o fator beta transformador do crescimento (TGF- $\beta$ ) pode estimular a proliferação de fibroblastos, em presença do fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), ou na presença do fator de crescimento epidérmico (EGF), inibir a proliferação dessas células.

### **TGF- $\beta$ (Fator beta transformador do crescimento)**

A síntese e secreção do TGF- $\beta$  pelos monócitos são estimuladas por lipopolissacarídeos (LPS), presentes na parede celular de bactérias gram negativas, provenientes da microbiota intracanal, aumentando a concentração desse peptídeo, ao nível do tecido granulomatoso periapical. (fig. 3; fig. 30, capítulo 3)

Dentre as demais células do granuloma, as plaquetas, os linfócitos e os neutrófilos, sob influência de citoquinas liberadas no tecido granulomatoso, também, podem secretar o TGF- $\beta$ . Contudo, para que esse fator de crescimento apresente efeitos biológicos é necessária acidificação ou ativação proteolítica, a fim de separá-lo de uma proteína de ligação de 135 kDa, transformando-o na forma ativa.<sup>5</sup>

A forma ativa desse fator de crescimento é um dímero (formado por duas moléculas semelhantes sem ocorrer perda de átomos) de 25 kDa sintetizado e secretado no tecido granulomatoso por macrófagos, capaz de ligar-se em três tipos de **receptores específicos**: 1) –

**glicoproteínas de 53 kDa** (monócitos, linfócitos); 2) – **glicoproteínas de 85 - 110 kDa** (linfócitos); e, 3) – **um dímero composto de proteoglicanas de 250 a 350 kDa**, localizados na superfície das células hematopoiéticas.<sup>6</sup>

### **Efeitos do TGF- $\beta$**

Além dos efeitos já reportados, (fig. 17, capítulo 3) estimula no tecido granulomatoso periapical a proliferação de células mesenquimais e a produção de colágeno, glicoaminoglicanas e fibronectina. Simultaneamente, também, inibe as proteases impedindo a destruição do colágeno, estimulando a fibrogênese.<sup>7,8</sup> O TGF- $\beta$ 1, *in vitro*, inibe o crescimento da cultura de células endoteliais; não obstante, apresentar efeito angiogênico *in vitro*, pois induz a expressão dos genes c-jun, b-jun e c-fos, ativando os fatores de transcrição AP-1 nas células AKR-2B e A549, que são mediadores da indução do fator de permeabilidade vascular/fator endotelial vascular (VPF/EVGF) pelo fator beta transformador do crescimento (TGF- $\beta$ ).<sup>9</sup>

### **Mecanismo regulador da síntese do TGF- $\beta$ em macrófagos por anti-inflamatórios**

A propósito do mecanismo regulador da síntese e secreção do fator beta transformador do crescimento (TGF- $\beta$ ) pelos macrófagos, verificou-se que a dexametasona inibe completamente a secreção de interleucina IL-1, porém não apresenta qualquer efeito em relação à secreção do TGF- $\beta$ . Atualmente, empregam-se anticorpos ligadores do TGF- $\beta$  na tentativa de bloquear a angiogênese inibindo a inflamação crônica destrutiva por ele induzida.<sup>10</sup>

### **Outras citocinas efetoras do crescimento, estimuladoras da angiogênese**

Além do TGF- $\beta$ , o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), o fator de crescimento fibroblástico (FGF) e a hipóxia tecidual têm sido associados, em células musculares lisas da parede vascular, com o aumento da expressão gênica do EVGF (fator de crescimento endotelial vascular), cujo principal efeito biológico é a manutenção da integridade do endotélio luminal das veias e artérias expostas a estímulos nocivos, tais como: citocinas, proteases e radicais livres, capazes de danificar ou impedir o funcionamento normal das células endoteliais.

### **Fator de crescimento endotelial vascular/fator de permeabilidade vascular (EVGF/VPF)**

A exposição a estímulos nocivos causa o aumento da produção do fator de crescimento endotelial vascular (EVGF), objetivando a substituição das células endoteliais danificadas e/ou a proteção contra eventos trombóticos.

### **Expressão do EVGF/VPF**

Com o emprego de cortes seriados e utilizando técnicas imunohistoquímica, para identificar EVGF/VPF, em linfócitos não ativos (CD3), linfócitos ativos (CD45RG) e células musculares lisas (actina muscular lisa- $\alpha$ ), foi demonstrado que essas células eram o mais frequente tipo celular apresentando positividade para o EVGF/VPF; por sua vez, os linfócitos T ativos foram parcialmente responsáveis pela expressão do EVGF/VPF, em regiões contendo um acentuado número de macrófagos e linfócitos; enquanto que, os macrófagos presentes nessa região não apresentaram positividade para esse fator de crescimento (EVGF).<sup>11</sup>

### **Receptores para o EVGF/VPF**

O EVGF/VPF sintetizado por fibroblastos, pericitos e células musculares lisas da parede vascular, ao ativar os receptores nas células endoteliais,

causa a proliferação e migração dessas células; mas não a proliferação de fibroblastos e células musculares lisas, porquanto essas células não apresentam receptores para esse fator de crescimento. Nos tecidos com alterações patológicas, o EVGF/VPF foi identificado na matriz extracelular e componente celular.<sup>4</sup>

## **Efeitos do EVGF/VPF**

Tem sido atribuído ao EVGF efeito inibidor da apoptose, bem como estimulador da síntese de óxido nítrico e do aumento da expressão de receptores do tipo integrina ( $\alpha 5\beta 3$ ) na superfície das células endoteliais.<sup>11</sup> A propósito desse efeito, fatores de coagulação tal como a trombina cliva a osteopontina, que, conjuntamente, com a sua forma não clivada, são ligantes para as integrinas do tipo  $\alpha 5\beta 3$ , cuja expressão é estimulada pelo EVGF/VPF.

Também tem sido demonstrado, que além da integrina  $\alpha 5\beta 3$ , o EVGF/VPF por aumentar a permeabilidade vascular induz o extravasamento de três outras proteínas (fibrina, fibronectina e vitronectina) estimuladoras da aderência e migração das células endoteliais durante a angiogênese.

Tanto o fator de crescimento fibroblástico (FGF) quanto o fator de crescimento endotelial vascular (EVGF/VPF) estimulam a angiogênese. Contudo, somente o fator de crescimento endotelial vascular/fator de permeabilidade vascular (EVGF/VPF) aumenta a permeabilidade vascular para as proteínas plasmáticas, causando o extravasamento de proteínas, tais como o fibrinogênio, fatores de coagulação, fibronectina, vitronectina e plasminogênio.

Em consequência desses efeitos ocorre a ativação da via extrínseca da coagulação com a geração de trombina a partir da prótrombina; ativação da via fibrinolítica causada pela fibrina, resultando em proteólise pericelular com degradação (fragmentação) da matriz protéica; e, aumento das interações adesivas entre as integrinas da superfície celular e os componentes da matriz extracelular.<sup>12</sup> Como vimos no capítulo anterior, tais interações são reguladas pela concentração de seus componentes, porquanto ao contrário da fibrina

que, indiretamente, promove a ativação do plasminogênio pelo fator ativador do plasminogênio (tPA), a vitronectina antagoniza essa ativação, pois se liga ao fator inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1), estabilizando-o, inibindo tanto o fator ativador do plasminogênio do tipo tecidual (tPA) quanto o vascular (uPA).<sup>114</sup>

### **Substância P (SP) e IL-1**

Há um sinergismo entre a substância P (fig. 13, capítulo 3) secretada pelos nervos perivasculares e a interleucina 1 (IL-1) produzida pelas células inflamatórias.<sup>13</sup> Tanto a interleucina 1 (IL-1) quanto a substância P (SP) estimulam a síntese de fibras colágenas por fibroblastos promovendo a dissolução da membrana basal da parede vascular necessária à proliferação e migração das células endoteliais.<sup>14</sup> Além desse efeito, a substância P (SP) estimula as células endoteliais e neutrófilos à produção do fator ativador das plaquetas, estimulando a migração e a proliferação das células endoteliais e neutrófilos à produção do fator ativador das plaquetas (PAF), induzindo a migração e proliferação das células endoteliais.<sup>15</sup>

### **Mecanismo angiogênico da IL-1 e Substância P (SP) e seu controle farmacológico**

Na tentativa de verificar se o mecanismo angiogênico envolvia a participação das prostaglandinas, concomitantemente com a administração da Substância P (SP) foi administrada indometacina, constatando-se diferença não significativa em relação à formação de vasos.<sup>16</sup>

Também foi constatado que a ação angiogênica da substância P e IL-1 é resistente ao efeito da mepiramina e cimetidina, indicando que a histamina, as prostaglandinas e o fator ativador das plaquetas (PAF) não estão envolvidos no estímulo à neoformação vascular induzida por SP e IL-1.

Confirmando a não participação das prostaglandinas no estímulo angiogênico proporcionado pela SP e IL-1, foi demonstrado que inibidores da ciclooxigenase não alteram a hemodinâmica vascular, porquanto não alteram o diâmetro vascular, a velocidade do fluxo sanguíneo e a pavimentação (aderência) leucocitária.<sup>17</sup>

As prostaglandinas (PGs) também não influenciam a produção da citoquina angiogênica endotelina-3 (ET-3) pelas células endoteliais.<sup>18</sup> Contudo, estudos *in vivo* demonstraram que componentes da matriz extracelular, tal como os diferentes tipos de colágeno, glicoaminoglicanas, proteoglicanas e glicoproteínas, entre as quais, a fibronectina tomam parte no processo de ligação, migração e diferenciação das células endoteliais.<sup>19,20,21</sup> Portanto, é possível que os inibidores da ciclo-oxigenase, tal como a indometacina, que, em concentração elevada, bloqueiam a produção de fibronectina,<sup>22</sup> reduzam a angiogênese via inibição do EVGF.

### **Fatores angiogênicos estimuladores da migração, proliferação, atividade proteolítica e estruturação das células endoteliais**

Vários outros fatores angiogênicos, dentre os quais o fator de endotelial vascular (EVGF), o fator transformador do crescimento (TGF $\alpha$ ), o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs) e o fator de crescimento fibroblástico (FGF) estimulam a migração, proliferação, atividade proteolítica e o comportamento organizacional das células endoteliais.<sup>2</sup>

### **Fator de crescimento semelhante à insulina (IGF)**

Embora o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) seja um fator angiogênico menos potente do que o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) e fator de crescimento endotelial vascular (EVGF), significativamente aumenta o número de microvasos recém-formados.

Tal peptídeo é secretado no tecido granulomatoso periapical principalmente por fibroblastos; sendo estruturalmente idêntico a somatomedina C.

Além de estimular o transporte da glicose e de aminoácidos para o meio intracelular, inibindo a degradação protéica no interior dos fibroblastos,<sup>1</sup> também, estimula o início da síntese do DNA, aumentando a proliferação e a diferenciação celular. Em cultura de células ósseas eleva a produção de proteínas colagênicas e não colagênicas.<sup>3,23</sup>

## **Óxido nítrico**

O óxido nítrico produzido pelas células endoteliais é um radical livre gasoso de vida curta, derivado do aminoácido L-arginina, que tem sido implicado em vários efeitos parácrinos dessas células, porquanto causa relaxação das células musculares lisas da parede vascular, inibição da agregação plaquetária e aderência dos leucócitos ao endotélio vascular. Mediante mecanismo autócrino também pode estimular a produção do fator ativador das plaquetas (PDGF) e de endotelinas (ET-1). (figs. 18 e 20, capítulo 2)

## **Mecanismo bioquímico indutor da angiogênese pelo óxido nítrico**

In vitro, o mecanismo pelo qual as células endoteliais adquirem o fenótipo próangiogênico induzido pela secreção do óxido nítrico e pelo aumento da concentração de GMPc não é conhecido;<sup>25</sup> possivelmente, ocorre via expressão de genes da família das proteínas quinases. Há evidência de que a ação angiogênica do TGF- $\beta$ 1 causada pelo fator de crescimento endotelial vascular (EVGF) e substância P (SP) ocorre via ativação da guanilato ciclase por ativação da enzima proteína quinase dependente do GMPc; considerando que foi demonstrado que inibidores da óxido-nítrico-sintase interferem na organização capilar induzida pelo fator transformador do crescimento  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1).

## A síntese das fibras colágenas nas lesões periapicais

A fibrinogênese presente nas lesões granulomatosas periapicais (fig. 4) aumenta no decorrer do tempo, em cinco estádios: **1)** - síntese das moléculas do prócolágeno; **2)** - hidroxilação e glicosilação dessas moléculas; **3)** – organização dos monômeros em trímeros; **4)** – conversão do pró-colágeno em tropocolágeno; **5)** – agregação das miofibrilas; **6)** – organização das miofibrilas em fibras colágenas.

Esse processo tem início no núcleo com a transcrição das moléculas de DNA em RNAm e, posterior, síntese das cadeias alfa nos ribossomas, ligados ao retículo endoplasmático; ocorrendo nesse local também outro importante processo: a hidroxilação da prolina pela enzima prócolágeno-prolina-hidroxilase, que para ter atividade enzimática requer oxigênio, ferro,  $\alpha$ -cetoglutarato e um agente redutor (ácido ascórbico). A lisina, igualmente, sofre modificação pós-tradução por ação da enzima lisil-hidroxilase; enzima que também necessita desses cofatores.

As hidroxilinas podem ser modificadas pela ação de galactose ou galactosil-glicose mediante a ligação o-glicídica – sitio de glicosilação -, que é típica do colágeno. Logo a seguir, no retículo endoplasmático rugoso são adicionados peptídeos e a cadeia C terminal. Posteriormente, no aparelho de Golgi, as peptidases prócolágeno quebram as cadeias peptídicas dessas moléculas; que, em vacúolos, são enviados para o meio extracelular, onde perdem os peptídeos formando o tropocolágeno, unindo-se em fibrilas, resultando na formação das fibras colágenas. (figs. 4 e 5)

Nessa última fase, assume fundamental importância na polimerização das moléculas de tropocolágeno, em colágeno, a oxidação do aminoácido lisina por uma enzima amino-oxidase (lisil oxidase cobre dependente), desaminando oxidativamente os grupos  $\omega$ -aminogrupos lisinas ou hidroxilinas não oxidados, gerando grupos aldeídos, que, ao se ligarem aos  $\alpha$ -aminogrupos das lisinas ou hidroxilinas não oxidados formam ligações covalentes estáveis na molécula de tropocolágeno, dando estabilidade estrutural à molécula.

A maturação dessas fibras ocorre pela formação de ligações químicas covalentes entre o grupo aldeído (-COH) e um grupo amino (-NH<sub>2</sub>);

dois grupos aldeídos; ligações tipo éster (-COOR); e, entre grupos carboxílicos (-COOH) do ácido aspártico e grupos hidroxílicos (-OH) da tirosina ou hexoses. Com o amadurecimento do colágeno se estabelecem ligações intra e intermoleculares causando aumento da força tênsil.

No controle de formação das fibras colágenas, ainda, destacam-se os glicoaminoglicanos e proteoglicanos, porquanto esses componentes da matriz extracelular bloqueiam o processo de agregação lateral das moléculas de tropocolágeno. (fig. 29)

### **Produtos de síntese e secreção dos macrófagos e a produção de fibras colágenas**

Nas lesões granulomatosas periapicais, a proliferação fibroblástica e a produção das fibras colágenas constituem aspectos característicos dessas lesões e correspondem a outra atividade dos macrófagos,<sup>1</sup> qual seja: a de controlar a proliferação e a atividade de outras células, tal como dos linfócitos, polimorfonucleares neutrófilos, plasmócitos e fibroblastos, que são os principais componentes celulares das lesões granulomatosas periapicais.<sup>26</sup>

### **Citoquinas e fatores de crescimento produzidos por macrófagos envolvidos na síntese do colágeno**

Os macrófagos sintetizam e secretam vários produtos biológicos capazes de estimular as células endoteliais, fibroblastos, e células musculares lisas da parede vascular à produção do colágeno.<sup>32</sup> Várias citoquinas e fatores de crescimento, tais como: IL-1, FGF, TGF- $\alpha$ , EGF, PDGF, IGF e TNF sintetizados e secretados por macrófagos estimulam a síntese do DNA e a proliferação dos fibroblastos. Dentre esses, por sua capacidade em estimular a proliferação das células endoteliais e a síntese de componentes da matriz extracelular, tal como a fibronectina e vários tipos de colágeno, ressalta-se a importância do fator de crescimento fibroblástico (FGF).<sup>111</sup>

## **Fator de crescimento dos fibroblastos (FGF)**

A importância do fator de crescimento fibroblástico (FGF) na síntese do colágeno e de componentes da matriz extracelular pode ser demonstrada pelo aumento da vascularização do tecido de granulação, formada dentro de uma esponja implantada no tecido subcutâneo de ratos, contendo fator de crescimento fibroblástico (FGF),<sup>27</sup> bem como pelo fato da indometacina, em alta concentração, também inibir a produção de fibronectina pelos macrófagos, retardando o processo de fibrosamento dessas lesões, pois essa glicoproteína, conjuntamente com a fibrina e o ácido hialurônico, formam a matriz sobre a qual ocorre a migração das células produtoras de colágeno (principalmente fibroblastos e células endoteliais),<sup>28</sup> indicando que inibidores da ciclooxigenase podem inibir a produção do fator de crescimento fibroblástico.

## **Relação macrófagos-fibroblastos**

No mecanismo de produção de fibras colágenas pelos fibroblastos, os macrófagos desempenham função importante, visto que tais células, quando ativadas por fatores de crescimento e citocinas presentes no tecido granulomatoso periapical, produzem mediadores quimiotáticos e mitogênicos para fibroblastos.<sup>29</sup>

## **Mecanismo da relação macrófago-fibroblastos e seu controle farmacológico**

Vários trabalhos têm sido realizados no sentido de esclarecer o mecanismo envolvido na relação entre macrófagos e fibroblastos. Como o fator de crescimento dos fibroblastos (FGF) pode ser identificado no soro de bezerros submetidos ao tratamento com indometacina, sugere que o mecanismo de formação de fibras colágenas - induzido por esse fator de crescimento-, não é mediado por prostaglandinas (PGs).<sup>112</sup> Mas, sim, devido a não interferência desse

fármaco com a produção de IL-1 e FGF; indicando que o acúmulo desses mediadores nas lesões inflamatórias periapicais interfere no processo de fibrosamento dessas lesões, pois estimula a produção de fibras colágenas.<sup>30,31</sup> Já, fármacos anti-inflamatórios esteróides tal como a dexametasona inibem a síntese e secreção de citocinas (IL-1 e TNF- $\alpha$ ), necessárias ao início da fibrogênese, pois impedem a transcrição e a tradução gênica responsável pela produção dessas citocinas, inibindo a síntese de fibras colágenas.<sup>32</sup> A inibição da produção do LTB<sub>4</sub> e LTD<sub>4</sub> é outro mecanismo envolvido no efeito anticolagênico desses medicamentos, visto que esses eicosanóides (leucotrienos) são estimuladores da produção de IL-1.<sup>33</sup>

### **Quimiocinas estimulam os fibroblastos à produção de fibras colágenas**

Os fibroblastos presentes no tecido granulomatoso periapical também são capazes de sintetizar e secretar substâncias biologicamente ativas tais como fatores estimuladores de colônias de células precursoras de macrófagos. Esse efeito pode ser comprovado, *in vitro*, adicionando, na cultura de macrófagos, produtos secretados pelos fibroblastos. Essas células, quando ativadas por substâncias secretadas durante a destruição tecidual (CD40L) por linfócitos T ativados, mastócitos, basófilos e eosinófilos, ou derivadas de microorganismos (lipopolissacarídeos) ou por outros fatores (substâncias químicas usadas no tratamento endodôntico) produzem quimiocinas (família de citocinas de peso molecular variando de 7 a 18 kDa), tais como a IL-8, oncogenes relacionados ao crescimento (GRO- $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ), fator 4 plaquetário (PF-4), proteína quimiotática para macrófagos (MCP-1) e IL-1, entre outras, que além de serem quimiotáticas, também ativam os fibroblastos à produção de fibras colágenas.<sup>34</sup> (figs. 6, 11 e 30)

### **Modulação da síntese do colágeno por anti-inflamatórios**

#### **Proliferação celular durante a angiogênese**

Os fatores de crescimento produzidos ao nível do tecido inflamatório periapical mediante estímulo flogogênico, por recolocarem as células que se encontram paralisadas na fase G<sub>0</sub> (repouso) do ciclo celular em G<sub>1</sub> (fase pósmitótica), ou por estimularem a síntese de DNA nas células competentes; bem como por induzirem a migração, proliferação e diferenciação dos fibroblastos e células endoteliais desempenham papel fundamental na síntese do colágeno, dos componentes da matriz extracelular e na angiogênese necessária à formação do tecido granulomatoso. Desses fatores destacamos a importância do fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento dos fibroblastos (FGF), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF).

### **Mecanismo de ação dos fatores de crescimento em relação à síntese do colágeno**

Alguns desses fatores, tal como o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), agem como fatores de competência para os fibroblastos, estimulando-os a entrar na fase G<sub>1</sub> do ciclo celular, enquanto outros agem semelhantemente à insulina (IGF) atuando como fatores de progressão para as células saírem da fase G<sub>1</sub> (pósmitótica) e entrar na fase S (de síntese) do ciclo celular. (fig. 7) A propósito desse efeito tem sido demonstrado que a produção do fator de crescimento fibroblástico (FGF) por macrófagos obtidos do foco inflamatório crônico modula a síntese do colágeno por células endoteliais.<sup>430</sup> Por outro lado, fatores de crescimento, tais como: a IL-1, TNF- $\alpha$  e PDGF são capazes de estimular a produção de colagenases, que ao fragmentarem a molécula do colágeno, possibilitam a sua digestão por proteases.

**O fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) modula a síntese do colágeno sendo a sua síntese e secreção é modulada por fármacos corticosteróides**

O fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) apresenta importante função no processo de inflamatório regulando a atividade fibrótica, porquanto é quimiotático para monócitos e fibroblastos. É também um potente mitógeno para as células de origem mesenquimal, pois estimula a produção da ciclina D.<sup>35</sup> Aumenta a síntese de glicoaminoglicanas, proteoglicanas, fibronectina e colágeno,<sup>36</sup> sendo a sua produção influenciada por fármacos corticosteróides, porquanto tais fármacos modulam em macrófagos e células endoteliais a ativação gênica desse fator, mediante aumento do RNAm necessário à produção do PDGF, cujo mecanismo está relacionado ao controle da fibrogênese pelo fármaco.<sup>37</sup>

### **Estímulo das células mesenquimais e produção de fibras colágenas pelo TGF- $\beta$**

O fator beta transformador do crescimento (TGF- $\beta$ ), secretado no tecido no tecido periapical pelos macrófagos estimula a proliferação das células mesenquimais e a produção do colágeno, glicoaminoglicanas e fibronectina.<sup>3</sup> Indiretamente, também, induz a produção de colágeno pelas células endoteliais mediante a expressão dos genes c-jun, b-jun e c-fos ativando os fatores de transcrição AP-1 nas células AKR-28 e A549, que são mediadores da indução do fator de crescimento endotelial vascular (EVGF) por esse fator de crescimento.<sup>38</sup> O TGF- $\beta$  também aumenta a resposta dos fibroblastos para o PDGF;<sup>110</sup> além de, in vivo, quando injetado localmente, induzir o aumento do colágeno e das populações celulares de macrófagos e fibroblastos. In vitro, o TGF- $\beta$  modula o efeito de outros peptídeos (FGF, PDGF, TGF- $\alpha$  e EGF).<sup>3</sup>

### **Produtos derivados do metabolismo do ácido araquidônico**

Os produtos derivados do metabolismo do ácido araquidônico (leucotrienos e prostaglandinas) estão diretamente envolvidos na síntese das fibras colágenas, visto que as prostaglandinas apresentam

efeito tanto estimulador quanto inibidor da síntese dessas fibras, dependente da concentração desses prostanóides (PGE, PGF1 $\alpha$ , PGF2 $\alpha$  e 6-ceto-PGF1 $\alpha$ ) estimulando a produção de fibras colágenas. Contudo, o aumento acentuado da concentração de prostaglandinas inibe a formação dessas fibras.

## Leucotrienos

A concentração dos leucotrienos LTB4 e LTD4, ao nível da região periapical, também, está relacionada à modulação da formação de fibras colágenas no tecido granulomatoso periapical, uma vez que tais eicosanóides aumentam a produção de IL-1 induzindo à síntese de PGE2; à secreção de prócolagenases; bem como ativa as metaloproteinases teciduais à fragmentação do colágeno.<sup>40</sup> (fig. 8; fig. 2, capítulo 1)

## Prostaglandinas

A baixa concentração de prostaglandinas causa o decréscimo da síntese de colágeno estimulando a sua reabsorção.<sup>94</sup> Considerando, que, *in vitro*, a concentração de PGs necessária para inibir a síntese de colágeno é maior do que a requerida para estimular a reabsorção dessas fibras, foi sugerido que tais efeitos eram obtidos mediante ativação de diferentes mecanismos.<sup>41</sup>

Um dos mecanismos mínimos propostos é a redução por PGE2 do nível do RNAm do c-myc em fibroblastos e macrófagos. A propósito desse mecanismo, foi demonstrado que, *in vitro*, as três formas do fator transformador beta do crescimento (TGF- $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 3) estimulam os fibroblastos à síntese de PGE2, de maneira dependente da dose; bem como o retorno da resposta proliferativa observada com uma baixa concentração das três formas do TGF- $\beta$ , mediante a inibição da síntese prostaglandinas por indometacina, sugerindo que a síntese de PGE2 induzida por TGF- $\beta$  pode ser a responsável pelo efeito antiproliferativo do TGF- $\beta$ .<sup>42</sup>

## **Anti-inflamatórios não esteróides e a síntese do colágeno**

A importância dos mediadores derivados do metabolismo do ácido araquidônico na síntese de fibras colágenas pode ser demonstrada com a administração de fármacos anti-inflamatórios não esteróides inibidores seletivos das ciclo-oxigenases, que, por não reduzirem a síntese de LTB<sub>4</sub> e IL-1, ativam os macrófagos à produção dos fatores de crescimento fibroblástico (FGF) e derivado das plaquetas (PDGF). Tais fatores induzem o aumento da síntese de fibras colágenas no tecido granulomatoso periapical, pois são estimuladores da proliferação dos fibroblastos, células endoteliais e musculares lisas da parede vascular.<sup>43</sup> Já, os anti-inflamatórios não esteróides, tal como o diclofenaco sódico, que reduzem a formação do ácido araquidônico disponível, ou o tenidap ou tenoxicam, que diminuem a concentração do oxigênio livre no local da inflamação, reduzem a metabolização desse ácido graxo, inibindo a produção de fibras colágenas, pois também inibem a produção de IL-1.<sup>44</sup>

## **Mecanismo imune de modulação das fibras colágenas**

Considerando-se que os linfócitos se apresentam em número considerável, nas lesões granulomatosas periapicais, admite-se que também têm participação na modulação da atividade dos fibroblastos e na síntese do colágeno, conjuntamente com os macrófagos, reportados como as células predominantes em tais lesões.<sup>45</sup>

As endotoxinas e os lipopolissacarídeos da microbiota intracanal ativam as células T, sintetizam e secretam citocinas (IL-1, TNF- $\alpha$ ) e fatores de crescimento (TGF- $\alpha$ ) induzindo a proliferação dos fibroblastos.

Tais mediadores também induzem o aumento da síntese e secreção de citocinas quimiotáticas para macrófagos, células endoteliais e fibroblastos, aumentando o número dessas células no tecido granulomatoso; resultando em aumento da produção de fibras colágenas. Por outro lado, os linfócitos T ativados também produzem

IFN- $\gamma$  (interferom gama), diminuindo a proliferação dos fibroblastos e a produção de fibras colágenas. (fig. 9)

### **Fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs)**

Os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF-I, II) são estruturalmente semelhantes à somatomedina-C e exercem localmente os seus efeitos, regulando o crescimento celular e o crescimento tecidual, sendo sintetizados por vários tipos de células presentes nas lesões inflamatórias periapicais. Muito poucos desses fatores (IGFs) podem ser detectados livres no soro. A maioria das moléculas de IGF-1 e IGF-2 ligam-se respectivamente nas proteínas 3 e 2 de ligação (IGFBP-3 e IGFBP-2).

### **Hormônios esteróides**

Dentre as citocinas e fatores de crescimento presentes no tecido inflamatório periapical induzidos por bactérias da microbiota intracanal capazes de estimular a síntese de hormônios esteróides, tal como 5-dihidroxitestosterona (DHT) pelos fibroblastos, destacam-se, entre outros, a interleucina 1 (IL-1) e o fator de crescimento epidérmico (EGF).

### **Interleucina 1 (IL-1) e o fator de crescimento epidérmico (EGF) ativam receptores dos hormônios androgênicos**

Tais mediadores, aumentam a produção de glicaminoglicanos, fibronectina, prolina, hidroxiprolina pelos fibroblastos; bem como a proliferação dessas células, cujo mecanismo está relacionado com o aumento da afinidade por seus receptores localizados nos fibroblastos. Esses polipeptídios são quimiotáticos para fibroblastos ligando-se em receptores de membrana capazes de estimular o receptor da enzima tirosina quinase, gerando um sinal que resulta na proliferação celular e

aumento da síntese de proteínas não colagênicas. Podem também estimular a expressão dos receptores para os hormônios androgênicos, localizados nos fibroblastos, células endoteliais e nos pericitos presentes no tecido granulomatoso induzindo essas células à síntese do DTH (dihidrotestosterona), estimulando a formação de colágeno.<sup>99</sup> (fig. 10)

### **Hormônios corticosteróides inibem a cicatrização**

Hormônios, tal como os corticosteróides, inibem a cicatrização, pois reduzem a quimiotaxia dos macrófagos, a proliferação dos fibroblastos e a síntese do colágeno e proteoglicanos;<sup>47</sup> contudo, doses prolongadas desses fármacos podem induzir resistência dos fibroblastos<sup>29</sup> causando fibrose.

## **Os processos de proliferação celular e da morte celular programada estão envolvidos no controle da população celular das lesões inflamatórias periapicais**

A proliferação celular desempenha importante papel no mecanismo de formação das lesões periapicais, sendo um dos mecanismos responsáveis pelo aumento do componente celular das lesões granulomatosas periapicais. Nesse processo, a hipóxia prolongada constatada particularmente na fase inicial de formação dessas lesões, em decorrência da acentuada necrose isquêmica verificada ao nível do ápice dentário, induz as células musculares lisas da parede vascular à produção de citocinas mitogênicas para as células endoteliais, tal como o fator de crescimento fibroblástico (FGF), que ao se ligar aos receptores associados à proteína G (trímero constituído por três unidades  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ), promove a separação da unidade  $\alpha$  com substituição da guanosina difosfato por guanosina trifosfato, ativando a adenilciclase à produção de AMPc.<sup>48</sup>

## **AMPC e GMPc interferem no controle da população celular do granuloma**

O AMPc, conjuntamente com GMPc, apresentam acentuada importância no controle da população celular do granuloma. Têm a sua síntese controlada pelas enzimas adenilato ciclase, fosfodiesterase e guanilatociclase, cujas atividades são moduladas pelos produtos derivados do metabolismo do ácido araquidônico (leucotrienos e prostaglandinas). Em alguns tipos de células o aumento intracelular de AMPc inibe a proliferação celular proporcionando a manutenção do estado de diferenciação celular,<sup>46</sup> em outros, estimula a proliferação celular.

## **Prostaglandinas apresentam efeitos proliferativos e antiproliferativos**

Há uma relação direta entre a elevação do nível intracelular do AMPc e a concentração de prostaglandinas, mediante ação dependente da estrutura molecular, da dose, e do modelo experimental empregado, uma vez que esses prostanóides são capazes de controlar a atividade da enzima adenilciclase. A propósito desse mecanismo, foi demonstrado que a concentração elevada de PGE2 inativa macrófagos, bem como induz a proliferação das células T auxiliares e ativação dos linfócitos T supressores;<sup>49</sup> aumenta a angiogênese; reduzindo a apoptose, pois aumenta a expressão do Bcl-2; e, induz a proliferação celular, sendo esse efeito particularmente identificado no estágio tardio de formação das lesões granulomatosas periapicais. (fig. 31) Efeito esse, que, associado à supressão da diferenciação dos linfócitos B, reduz a citotoxicidade dependente de anticorpos e das células NK.<sup>95</sup> Entretanto, o mecanismo pelo qual produzem efeito antiproliferativo permanece controverso. Um dos mecanismos propostos é que as prostaglandinas ativariam a enzima adenilciclase, elevando o nível intracelular do AMPc, tendo como consequência a inibição da proliferação celular.<sup>50,51</sup>

Também foi demonstrado que as prostaglandinas inibem a fase de síntese (S) do ciclo celular, mediante mecanismo dependente da

concentração e totalmente independente do AMPc. Esse mecanismo envolveria a participação do anel ciclopentano (fig. 13) das prostaglandinas, capaz de inibir a síntese de proteínas reguladoras do ciclo celular tal como as ciclinas, que são ativadas no núcleo das células em atividade proliferativa, mediante estímulo à produção da proteína p 27 (KIP1) inibidora das ciclinas A, B1, D1 e D2, bloqueando o ciclo celular nas fases G1, S, G2 e M.<sup>53</sup>

### **Leucotrienos também aumentam a população celular do granuloma**

Outros produtos derivados do metabolismo do ácido araquidônico tal como os leucotrienos secretados no tecido granulomatoso periapical, igualmente, contribuem para o aumento da população celular do granuloma periapical, pois aumentam a concentração local da interleucina 2 (IL-2), estimulando a proliferação dos linfócitos T auxiliares. Além do que, esses produtos derivados do metabolismo do ácido araquidônico interferem na resposta imune.<sup>54,55</sup>

### **Mecanismo ativador da proliferação celular pela Interleucina 6 (IL-6)**

A IL-6 produzida localmente no tecido granulomatoso por fibroblastos, osteoblastos e linfócitos liga-se em receptores de membrana das células alvos (neutrófilos, linfócitos B e células mielóides progenitoras dos osteoclastos), reduzindo a fase G<sub>0</sub> do ciclo celular, aumentando a concentração do AMPc, ativando a proteína quinase; (fig. 46, capítulo 2) resultando no estímulo da proliferação celular, pois essa citocina dota as células mielóides progenitoras dos osteoclastos da capacidade de responder ao efeito proliferativo proporcionado pelos fatores estimuladores do crescimento. Outras citocinas presentes no tecido granulomatoso periapical, tal como a interleucina 1 (IL-1), PTHrP e TNFs também estimulam a produção das IL-6. (fig. 30, capítulo 2).

## **Mecanismo de estímulo da atividade proliferativa pelos fatores de crescimento**

Alguns fatores de crescimento de natureza polipeptídica produzidos pelas células inflamatórias, ao nível das lesões granulomatosas periapicais, induzem atividade proliferativa, pois podem agir como fatores de competência e progressão, retirando as células da fase Go, recolocando-as na fase G1; assim como estimulando a síntese do DNA nas células competentes. Tais fatores ao se ligarem em receptores (proteína G e tirosina quinase específicos) de membrana das células alvos, emitem um sinal de transdução transmembrana capaz de estimular a atividade proliferativa, (fig. 24, capítulo 1) mediante efeitos autócrinos (ativando receptores na mesma célula), parácrinos (nas células vizinhas) e hormonais (via sistêmica). (fig. 17, capítulo 1)

## **Mecanismo molecular dos fatores de crescimento na atividade proliferativa**

O mecanismo molecular envolvido no controle da atividade proliferativa é o estímulo de proto-oncogenes, ou seja, de genes que nas células normais agem controlando o crescimento, a proliferação e a diferenciação celular (fos, jun, myc); bem como aumentando a expressão de receptores para os fatores de crescimento (erb B), relacionados com o sinal de transdução no interior das células (erb B) e reguladores da produção do RNAm dos genes de transcrição (myc, myb e fos). Sabe-se que os fatores de crescimento PDGF, EGF, IL-3, FGF e CSF-1 ativam uma quinase (p33cdk4/p38cdk6) dependente da ciclina D, estimulando a passagem das células das fase G1 para S do ciclo celular.<sup>56</sup>

## **Fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs) ativam a proliferação celular**

A ativações dos receptores celulares dos IGFs estão sob controle de um gene localizado no cromossoma 19, que ao serem ativados, entre outros efeitos, causam proliferação celular, uma vez que ativam a proteína G produzindo diacilglicerol, ativando a proteína quinase C aumentando a fosforilação de proteínas envolvidas na proliferação celular. O estímulo à produção desses peptídeos parece estar relacionados com a ativação gênica ao nível do cromossoma 11 determinado pelo aumento da concentração intracelular de AMPc.<sup>1</sup>

### **Fator beta transformador do crescimento (TGF- $\beta$ ) produzido por eosinófilos estimula a proliferação de fibroangioblástica e de monócitos/macrófagos**

Além dos macrófagos, fibroblastos, linfócitos e células endoteliais, os eosinófilos também presentes nas lesões granulomatosas periapicais, entre outros produtos de síntese e secreção celular, liberam no foco inflamatório fatores de crescimento tal como o fator beta transformador do crescimento (TGF- $\beta$ ). Esse fator, ao ocupar o receptor para o fator de crescimento epidérmico (EGFr), estimula a migração e a proliferação dos fibroblastos e células endoteliais, particularmente, importantes na fase inicial de formação do tecido granulomatoso, quando ocorre a ativação da proliferação fibroangioblástica. Também é um potente indutor da produção do fator estimulador de colônia macrófágico-granulocítico (GM-CSF).

### **Ativação da proliferação celular via mecanismo imune**

As reações imunes que ocorrem no tecido granulomatoso contribuem para o aumento da população celular do granuloma, pois linfocinas tais como a interleucina 1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), além de estimularem diretamente a proliferação dos fibroblastos, também, estimulam as demais células presentes no tecido inflamatório periapical à produção de interleucina 8 (IL-8) e do fator de crescimento

derivado das plaquetas (PDGF), que, respectivamente, aumentam a quimiotaxia e a proliferação dos fibroblastos.

### **Sinergismo entre a Substância P (SP) e a interleucina 1 (IL-1) estimula a proliferação de células endoteliais**

Cabe, ainda, lembrar o sinergismo existente entre a substância P secretada pelos nervos periféricos e a interleucina 1 (IL-1), em relação à migração e proliferação das células endoteliais, porquanto foi demonstrado que vários outros produtos de síntese e secreção celular, liberados na região periapical, tal como o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) participam ativamente do processo de neoformação vascular, visto que induzem a migração e a proliferação das células endoteliais.<sup>2</sup>

### **Importância dos fatores de diferenciação celular no aumento da população do granuloma**

No estímulo da população celular do granuloma, ainda, participa o fator de diferenciação (DIA/LIF),<sup>122</sup> conhecido, como atividade inibidora da diferenciação ou fator inibidor da leucemia, como vimos, sendo expresso em duas formas funcionais distintas; uma das quais é livremente difusível, capaz de produzir efeitos nas células distantes da célula em que foi produzida, enquanto a outra é depositada na matriz extracelular produz efeitos somente nas células em contato com a matriz. (fig. 19, capítulo 3).

### **Expressão dos fatores de diferenciação (DIA/LIF)**

A expressão desse fator tem o desenvolvimento programado, sendo controlado por outros fatores de crescimento, dos quais os mais importantes são os membros da família dos FGFs (fatores de

crescimento dos fibroblastos) produzidos pelas próprias células mielóides progenitoras.

### **Efeitos biológicos do DIA/LIF na proliferação e diferenciação celular**

Dentre os seus efeitos biológicos mais importantes se destacam: a inibição da diferenciação das células tronco embrionárias (ES); o estímulo da diferenciação dos neutrófilos e das células B; bem como o estímulo dos fatores estimuladores de colônia (IL-3, GM-CSF, M-CSF, G-CSF), capazes de estimular a proliferação dos linfócitos, neutrófilos e macrófagos. Em cultura de tecido ósseo, estimulam a reabsorção óssea e síntese de DNA.<sup>57</sup>

### **Efeito das poliaminas na proliferação celular**

Ao nível das lesões granulomatosas periapicais, o aumento da população celular do granuloma tem sido correlacionado com o aumento da concentração intracelular das poliaminas espermina e espermidina, assim como das enzimas S-adenosilmetionina descarboxilase e ornitina descarboxilase (enzimas responsáveis pela produção dessas poliaminas a partir da descarboxilação de aminoácidos). A relação da enzima ornitina descarboxilase com o ciclo celular tem como base o fato de que a ativação gênica da ornitina descarboxilase é, em muitos casos, a resposta inicial causada pela estimulação mitogênica. Portanto, esse mecanismo relembra a expressão de certas famílias de proto-oncogenes durante a transcrição da fase Go para G1.<sup>106</sup> (fig. 7; fig. 10, introdução) Também, admite-se que a sequência do DNA, localizado nas proximidades do promotor gênico da ornitina descarboxilase, regule a resposta para vários fatores de crescimento.<sup>106,107</sup>

As poliaminas são necessárias ao crescimento normal dos tecidos. A diminuição de sua produção causa redução do alojamento de proteínas e ácidos nucléicos; interfere na fidelidade da transcrição (interpretação da informação genética); e, causa a desintegração dos

cromossomas nos estádios tardios de inanição. Também exercem diversos efeitos na síntese de proteínas, além de atuarem como inibidores de enzimas, tal como das proteínas quinases. O catabolismo das poliaminas gera gás carbônico (CO<sub>2</sub>) e amônia (NH<sub>4</sub>), cujo cátion (NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), por apresentar carga positiva, pode se ligar às regiões negativas do DNA e do RNA, e em fosfolipídeos da membrana celular, causando alterações nessas moléculas.<sup>59,60</sup>

### **Radicais livres modulam a proliferação celular**

Foi demonstrado que o aumento pouco acentuado da produção de radicais livres derivados do oxigênio (fig. 16, capítulo 2) estimula a proliferação dos fibroblastos; sendo de fundamental importância na fase inicial de formação das lesões granulomatosas periapicais (proliferação fibroangioblástica) necessária à formação inicial do tecido granulomatoso, enquanto que o acentuado aumento da produção dos radicais livres, constatado nas fases seguintes, inibe a proliferação dessas células, ativando a apoptose.

Os macrófagos são mais resistentes ao “stress” oxidativo e por responderem mais tardiamente aos fatores quimiotáticos aumentam em número, ativando as células sobreviventes, presentes na região periapical à proliferação, em substituição às células destruídas; resultando no aumento da vascularização e da formação de fibras colágenas.

### **Adesão celular e o controle do ciclo celular**

A adesão celular apresenta-se como elemento regulatório do ciclo celular, pois modula a transferência da informação no ciclo celular. Desordens na adesão celular resultam em descontrole do ciclo celular. Em células normais a expressão da ciclina A começa após a expressão das ciclinas D, E e CDK RNAm, começando a ser produzida no final da fase G1. A adesão celular também induz a expressão do RNAm da

ciclina D1 e a ativação da ciclina E-CDK2, regulando a expressão do RNAm das demais ciclinas. (fig. 7)

### **Mecanismo da adesão celular como modulador da transferência da informação no ciclo celular**

Quando a célula liga-se à matriz extracelular, agregados de integrina unem os componentes da EMC às proteínas do citoesqueleto e FAK fosforilado, produzindo uma série de proteínas regulatórias sobre a região SH2; p. e. “Paxilin”, Crk, Grb-2 etc. Grb-2 e Crk podem ativar a rota mitógena de ativação da proteína quinase, resultando na transcrição e translação do RNAm da ciclina D1.

### **Fatores controladores negativos da proliferação celular**

#### **TGF- $\beta$ inibe a proliferação celular**

No foco inflamatório periapical também são sintetizados e secretados fatores controladores negativos da proliferação, tal como TGF- $\beta$ , sintetizado por macrófagos, linfócitos, fibroblastos e eosinófilos, estimulados por lipopolissacarídeos provenientes da parede celular de microorganismos da microbiota intracanal, que têm sido associados à inibição da proliferação celular; com o controle da inflamação; com a produção da matriz extracelular; e, com o remodelamento tecidual.<sup>61</sup> Entretanto, para que esse fator de crescimento possa ocupar os receptores específicos de estrutura glicoprotéica ligados a um dímero de subunidade de proteoglicanas, localizados nas células alvo, é necessária ativação proteolítica, a fim de separá-lo de uma proteína de ligação de 135 kDa.<sup>62</sup>

#### **Mecanismos de inibição e da proliferação celular induzida por TGF- $\beta$**

O mecanismo envolvido na inibição da proliferação celular induzida pelo fator beta transformador do crescimento (TGF- $\beta$ ) é o bloqueio da entrada na fase de síntese (S) do ciclo celular, impedindo a transcrição do RNAm da ciclina A e E; não obstante, em relação aos fibroblastos, esse fator de crescimento (TGF- $\beta$ ) ser mitogênico, pois decresce a expressão do inibidor p27, ativando a ciclina E-cdk2 quinase, resultando no aumento da produção do colágeno, glicoesaminoglicanas e de fibronectina.<sup>3</sup>

### **Inibição da proliferação celular induzida pelo IFN- $\gamma$**

O gama interferom (IFN- $\gamma$ ) produzido pelas células que participam da resposta imune (macrófagos, linfócitos T ativados e células NK), (fig. 30; fig. 15, capítulo 1) ao nível das lesões granulomatosas periapicais, em resposta ao aumento da concentração de fatores de crescimento, na região periapical, tais como o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento fibroblástico (FGF) e interleucina 2 (IL-2), inibe a proliferação das células progenitoras mielóides, células endoteliais e fibroblastos.

### **Inibição da apoptose contribui para o aumento da população celular do granuloma**

Também, sabe-se que a sobrevivência, diferenciação, proliferação e desenvolvimento das células hematopoiéticas progenitoras da população celular presente no granuloma estão relacionados com os fatores estimuladores de colônia (CSF-e), dentre os quais, ressalta-se o fator de crescimento macrófágico-granulocítico (GM-CSF), promovendo a sobrevivência e a atividade funcional das células sanguíneas maduras, mediante mecanismo que envolve a inibição do processo de apoptose. (fig. 14)

## **Ativação da apoptose**

A propósito da ativação da apoptose na população celular do granuloma periapical, (figs. 15 e 16) por produtos de síntese e secreção da microbiota intracanal (lipopolissacarídeos e leucotoxinas), agentes químicos, complexos autoimunes, bem como os produtos biológicos de síntese e secreção de monócitos/macrófagos, linfócitos e neutrófilos, que se acumulam no tecido granulomatoso periapical, sabe-se que podem estimular a fagocitose das células inflamatórias, sem induzir inflamação ou causar efeito citotóxico; devendo, portanto, ser considerado um mecanismo biodefensivo.

O conjunto de neutrófilos apoptóticos tanto ao nível do tecido granulomatoso periapical quanto no interior da região central de necrose supurativa, particularmente, na fase inicial de formação das lesões granulomatosas periapicais, pode indicar um mecanismo deficiente de remoção dessas células; a acentuada apresentação de antígenos; bem como a participação da resposta autoimune na formação do granuloma periapical.<sup>63</sup>

## **Controle da atividade proliferativa**

A população celular do granuloma pode aumentar tanto por indução da proliferação celular quanto por inativação da morte celular programada (apoptose). No controle desses processos além da participação dos nucleotídeos cíclicos, fatores de crescimento, hormônios, poliaminas e produtos tóxicos derivados do metabolismo do ácido araquidônico, os proto-oncogenes desenvolvem papel fundamental.

## **Controle da atividade proliferativa por proto-oncogenes**

Atualmente, atribui-se acentuada importância ao controle da atividade de genes que podem ser divididos em três categorias: genes que

controlam o crescimento e a proliferação celular; genes supressores tumorais; e, genes ativadores da morte celular programada.

### **p53 e genes inibidores da apoptose (BCL-2 e IAP)**

Dentre os genes moduladores da apoptose, o p53 e Bcl-2 estão diretamente implicados no controle do ciclo celular; na síntese e diferenciação celular; na plasticidade genômica; e, no reparo do DNA.

#### **P53**

O p53 regula mais de 160 genes, atuando como um supressor tumoral, desempenhando papel fundamental no controle do reparo do DNA e no monitoramento do processo molecular que modifica o genoma das células normais, pois bloqueia a replicação das células danificadas, ou do DNA alterado, causando a parada na fase G1 (pósmitótica) do ciclo celular, possibilitando o reparo do DNA; ou se o dano é acentuado ativando a apoptose. A apoptose dependente do p53 ainda não é bem compreendida, ocorrendo por ativação de genes, tal como o BAX. A ativação desse gene pode, também, produzir morte celular mediante mecanismos independentes da apoptose; ou seja, mesmo na ausência de síntese protéica e transcrição. (fig. 17)

#### **Bcl-2**

Os membros da família do Bcl-2 diretamente regulam a produção do citocromo C. Esta família contém proteínas **pró (família Bax** (Bax; Bak; Bok) e **família BH3** (Bid; Bim, Bik, Bad, Bmf, Hrk, Noxa; Puma) e **anti** (Bcl-2; Bcl-X<sub>L</sub>; Bcl-W; A1; Mcl-1) **apoptóticas**. A atividade das proteínas **pró** e **antiapoptóticas** é determinada pelo deslocamento do citocromo C da mitocôndria. Ao Bcl-2 é creditado aumentar a expressão do c-myc em relação à inibição da apoptose; sendo a sua expressão, particularmente, importante em relação ao ciclo celular dos linfócitos.

Portanto, para que ocorra apoptose é necessária a inativação do gene Bcl-2, localizado na membrana mitocondrial interna, envelope nuclear e retículo endoplasmático, cujo produto protéico inibe um ponto central da rota metabólica de ativação da morte apoptótica (estresse oxidativo), evitando o dano ao DNA nuclear, que é o “gatilho” de ativação da morte celular programada.<sup>69</sup> (fig. 17)

## **IAP**

O gene IAP foi primeiramente indentificado no genoma do Baculovirus como um inibidor da apoptose. Todos os membros da família contêm pelo menos um domínio BIR (Baculovirus IAP repetido). Alguns membros da família IAP (XIAP, cIAPs, Survivin, DIAP1) são potentes inibidores da apoptose, porquanto inibem a ativação da atividade de algumas caspases (caspase-3, caspase-7 and caspase-9). A inibição da atividade das caspases ocorre mediante a ativação de duas rotas: **1)** - direta atividade ligante inibidora da atividade proteolítica das caspases e **2)** – degradação enzimática. (fig. 18) Alguns membros regulam a segregação cromossômica e a citocinese. O “**survivin**” tem a sua expressão aumentada em muitas células cancerosas, mas não em células diferenciadas normais, tornando-o um marcador tumoral. (fig. 17)

## **Citoquinas e fatores de crescimento moduladores da apoptose**

Várias citoquinas sintetizadas e secretadas diretamente no tecido granulomatoso periapical podem agir tanto estimulando quanto inibindo a apoptose.

### **IL-4 inibe a apoptose**

A IL-4 produzida pelas células T, por impedir a perda da proteína Bcl-2, pode contribuir para a sobrevida celular, e assim impedir a morte

celular programada (apoptose). Além do que, essa citocina inibe a produção de outras citocinas ativadoras da apoptose, tais como: TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6.

### **Fatores de diferenciação e estimuladores de colônia estimulam a proliferação celular inibindo a apoptose**

No tecido granulomatoso, também, são produzidos, em grande quantidade, fatores estimuladores de colônia (CSFs) e fatores de diferenciação (DIA/LIF).<sup>122</sup> Esses fatores são essenciais para a formação das colônias celulares e indispensáveis à proliferação celular, assim como, à diferenciação das células progenitoras da população celular das lesões inflamatórias periapicais.

Tais fatores, entre outros efeitos, inibem a diferenciação das células tronco embrionárias (DIA/LIF),<sup>122</sup> estimulando a proliferação das células mielóides progenitoras da população celular do granuloma; além do que, alguns tal como o fator estimulador de colônia macrófago-granulocítico (GM-CSF), interleucina 3 (IL-3) e o fator estimulador de colônia granulocítico (G-CSF) previnem a apoptose dos neutrófilos, aumentando a concentração dessas células na região central do granuloma.

### **Fator estimulador de colônias macrófago-granulocítico (GM-CSF)**

O fator estimulador de colônias granulocítico-macrófago, produzido pelos linfócitos T e monócitos/macrófagos, mediante efeito parácrino, mantém a sobrevivência de monócitos/macrófagos e neutrófilos, pois impede a morte celular programada dessas células. O mecanismo envolvido nessa inibição pode ser o estímulo à síntese de proteínas do tipo histona (proteínas que, com o DNA, formam o nucleossoma) capazes de bloquear a atividade da endonuclease (enzima que fragmenta o DNA,<sup>108</sup> prevenindo a morte celular programada). Em consonância com esse mecanismo foi demonstrado que fármacos

inibidores da síntese protéica, tal como a actinomicina D, induzem apoptose.

### **Mecanismos de aumento da população celular do granuloma**

O aumento da população celular do granuloma, além da elevação da atividade proliferativa celular, igualmente, deve-se ao aumento do prolongamento do ciclo celular das células presentes no granuloma, decorrente da inibição da apoptose por fatores estimuladores de colônia (CSF-e) gerados no tecido granulomatoso.

A propósito desse mecanismo foi demonstrado que o EVGF/VPF (fator de crescimento endotelial vascular/fator de permeabilidade vascular) inibe a apoptose das células endoteliais elevando a síntese de óxido nítrico, assim como modula a expressão dos receptores de superfície do tipo integrina.<sup>11</sup>

Tal mecanismo é particularmente importante na fase inicial de formação do tecido granulomatoso periapical, quando se salienta a participação dos mecanismos de proliferação fibroangioblástica.

### **O processo de reabsorção óssea induzido pelas lesões granulomatosas periapicais**

As principais células promotoras do processo de reabsorção óssea, os osteoclastos, caracterizam-se por acentuada atividade enzimática (catepsina B e G, fosfatase ácida e ATPase H<sup>+</sup> tipo vacuolar), verificada principalmente nos numerosos lisossomas e vacúolos redondos, localizados no citoplasma próximo a borda franzida, no sistema de Golgi com as suas cisternas e vesículas situadas no citoplasma perinuclear; nas numerosas mitocôndrias e cisternas do sistema reticular endoplasmático (RER); e, nos canais da borda franzida.<sup>71</sup> O processo bioquímico pelo qual essas células produzem dissolução da matriz mineralizada é decorrente do acúmulo extracelular de ácidos orgânicos na borda franzida.

#### **Origem dos osteoclastos**

A origem dos osteoclastos ainda permanece controversa. Estudos baseados na propriedade dessas células degradar (fragmentar) o tecido conjuntivo liberando mineral das partículas ósseas desvitalizadas, assim como pela capacidade dos macrófagos fusionarem-se formando células multinucleadas que apresentam características estruturais semelhantes aos osteoclastos, sugeriram ser o macrófago as células de origem dos osteoclastos. Todavia, estudos em cultura demonstram, mediante a adição de fatores de crescimento IL-3 ou GM-CSF, a impossibilidade da diferenciação dos macrófagos em osteoclastos.<sup>57,72</sup> Além do que, os seus antígenos de superfície diferem dos antígenos dos osteoclastos, não reativos com anticorpos monoclonais (Mabs) capazes de identificar monócitos e osteoclastos monoclonais.<sup>115</sup> Com a origem macrófágica tendo sido descartada, aventou-se a possibilidade das células hematopoiéticas totipotentes serem as células precursoras dos osteoclastos,<sup>73,74</sup> pois as células blásticas mielóides apresentam algumas das características dos osteoclastos, tal como a positividade para marcadores dessas células (TRAP), que aumenta na presença de vitamina D e diminui na de calcitonina.<sup>72</sup> Também foi demonstrado que os macrófagos sob certas condições patológicas se coram positivamente com TRAP, podendo, semelhantemente, aos osteoclastos apresentar atividade reabsortiva óssea.<sup>75</sup>

### **Participação dos produtos de síntese e secreção celular na reabsorção óssea**

No controle do processo de reabsorção óssea induzido pelas lesões granulomatosas periapicais, destaca-se a participação dos produtos de síntese e secreção celular, principalmente, dos macrófagos, pois a proximidade dessas células com os osteoblastos, em áreas de reabsorção óssea ativa, sugere que os seus produtos biológicos de síntese e secreção, conjuntamente com os produzidos pelos microorganismos da microbiota intracanal, e pelas demais células presentes na região periapical, tais como: IL-1, TNF- $\alpha$ , PGs, fatores de crescimento e a proteína relacionada ao hormônio paratireoidiano

(PTHrP) participam ativamente do processo de ativação dos osteoclastos, pois ativam os osteoblastos à produção do fator solúvel ativador dos osteoclastos.<sup>76,115</sup>

### **Macrófagos também podem reabsorver o tecido ósseo**

Também tem sido relatado o efeito reabsortivo ósseo direto dos macrófagos, uma vez que tais células, em condições patológicas, tornam-se positivas para o TRAP, participando, ativamente da fase inicial de reabsorção radicular de dentes expostos às forças ortodônticas anormais,<sup>77</sup> sugerindo que tais células apresentam atividade semelhante no processo reabsortivo ósseo induzido pelas lesões granulomatosas periapicais. Portanto, tanto os osteoclastos quanto os macrófagos podem reabsorver o tecido ósseo; entretanto, as células precursoras dos osteoclastos não são os macrófagos maduros, mas, sim, as células blásticas mielóides.

### **Mecanismo inicial reabsortivo ósseo**

Outro aspecto obscuro no processo reabsortivo e que permanece também especulativo é o mecanismo inicial de ativação dos osteoclastos à reabsorção óssea. É possível que a morte dos osteócitos reduza a concentração de cálcio circulante, pois essas células são capazes de retirar íons cálcio do líquido ósseo (líquido presente nos canalículos ósseos), redistribuindo-os, de maneira que entrem no compartimento do líquido tecidual fora do tecido ósseo e daí ao plasma sanguíneo.<sup>78</sup>

Em consequência da diminuição da concentração plasmática de cálcio há o estímulo das paratireóides à produção do PTH (hormônio paratireoideiano). Concomitantemente, inicia-se o fluxo de células originárias da circulação sanguínea (células progenitoras dos monócitos, ou os próprios monócitos), bem como a multiplicação das células mesenquimais indiferenciadas perivasculares, que migraram para o local de reabsorção, atraídas quimiotaticamente.

Em relação ao mecanismo pelo qual essas células (rede de células da linhagem osteoblástica), também, denominadas de células de revestimento ósseo, estimulam os osteoclastos à reabsorção óssea periapical, supõe-se ocorrer uma resposta a um estímulo físico (pressão), parácrino (estímulo local, por mediadores produzidos pelas demais células presentes no tecido granulomatoso), ou hormonal (estímulo à circulação sanguínea) capaz de direcionar os osteoclastos para a superfície óssea a ser reabsorvida. (fig. 21)

Entretanto, a natureza do fator responsável pela ativação dos osteoclastos permanece pouco esclarecida. Na tentativa de elucidá-la foi sugerido que, em nível molecular, a estimulação inicial do processo reabsortivo ósseo, possivelmente, envolve a transdução do estímulo hormonal em atividade bioquímica, mediante a ligação do agente estimulador (PTH, PGs, LTs, trombina, bradicinina, IL-1 e TNF) aos receptores de membrana (proteína G via fosfolipase C ou adenilciclase) dos osteoblastos, com a posterior indução dos sistemas enzimáticos capazes de gerar mediadores secundários (monofosfato de adenosina cíclica AMPc), inositol 1, 4, 5 trifosfato (IP3) e diacilglicerol (DG), ativadores dessas células à produção do fator (es) solúvel (eis) de natureza lipídica, de baixo peso molecular capaz de estimular a atividade osteoclástica.<sup>79</sup> Tal fator, como visto, em 1991, foi denominado de fator ativador da atividade dos osteoclastos (ORSA), pois a afinidade apresentada por esse fator aos glicoaminoglicanos da matriz não colagênica facilitaria a localização do campo de ação dos osteoclastos.<sup>81</sup>

Em decorrência da fragmentação da matriz orgânica osteóide por citocinas (IL-1, TNF), fatores de crescimento (EGF, TGF) e fatores estimuladores de colônia (GM-CSF, M-CSF) produzidos localmente pelas células inflamatórias presentes no tecido granulomatoso periapical, que, conjuntamente, com a collagenase liberada pelos osteoblastos destruiriam o material orgânico não reabsorvível, foi sugerida a possibilidade de ocorrer, em nível local, o estímulo das células presentes no infiltrado inflamatório e dos osteoblastos periféricos à região de fragmentação da matriz orgânica, que por indução molecular se afastaram do tecido ósseo dando lugar aos osteoclastos, à produção de uma substância de natureza hormonal,

provavelmente o PTHrP, que agindo tanto autócrina como paracrinamente, conjuntamente com as citocinas liberadas por aquelas células e com o PTH, secretado pelas paratireóides estimuladas por esses peptídeos, induziriam via osteoblastos a reabsorção osteoclástica.<sup>80</sup>

### **O mecanismo de ativação dos osteoclastos via osteoblastos**

Outro aspecto do mecanismo funcional dos osteoclastos que permanece controvertido, devendo ser revisto e esclarecido é o mecanismo pelo qual os eicosanóides, particularmente, as prostaglandinas (PGs) e leucotrienos (LTs) desempenhariam no mecanismo de ativação dos osteoclastos pelos osteoblastos. Possivelmente, o aumento da concentração de PGE<sub>2</sub> induzida por IL-1, mediante aumento da concentração intracelular de cálcio, do metabolismo do inositol trifosfato e do AMPc, ativariam os osteoblastos, induzindo-os à liberação de um fator solúvel, estruturalmente semelhante a IL-1, capaz de iniciar o processo de reabsorção óssea pelos osteoclastos.<sup>77</sup> Contudo, a IL-1, mediante efeito primário sobre os osteoblastos pode induzir à transmissão de um sinal de curto alcance estimulador da reabsorção óssea osteoclástica, independente da produção de prostaglandinas (PGs) ou de um fator solúvel difusível.<sup>82</sup> Também foi demonstrado que os leucotrienos (LTs) por meio de um mecanismo, que, modulado pela síntese endógena de PGs, estimulavam a reabsorção óssea. O mecanismo envolvido resultaria na ativação da proteína G via fosfolipase C causando aumento do inositol trifosfato (IP3) e de cálcio citosólico.<sup>79</sup>

A atividade reabsortiva dos osteoclastos é regulada pelo equilíbrio entre osteoprogenina (OPG) e o ligante RANK (RANKL). Sempre que o equilíbrio desloca-se no sentido do aumento da concentração do ligante RANK (RANKL) ocorre reabsorção óssea. Durante esse processo, a interleucina 1 (IL-1) e o fator necrótico tumoral (TNF) agem, respectivamente, sobre as células progenitoras e precursoras dos osteoclastos induzindo à expressão de receptores c-FMS (progenitoras) e RANK (precursoras). Tais receptores, ao serem ativados,

respectivamente, pelo fator estimulador de colônia macrofágico (M-CSF) e pelo ligante RANK (RANKL) produzidos por fibroblastos<sup>121</sup> e osteoblastos, estimulados por PTH, PTHrP, IL1, IL6, LIF, dihidroxivitamin D3, oncostatin M, prostaglandina-E2 induzem a diferenciação dessas células em préosteoclastos, enquanto que os linfócitos produzem TNF estimulando a expressão do receptor (RANK) para o ligante RANK (RANKL) e a diferenciação dos préosteoclastos em osteoclastos.<sup>120</sup>

### **Vitamina D3**

A vitamina D3 é outro fator que participa ativamente do processo de reabsorção óssea. Essa vitamina pode ter origem exógena proveniente da dieta ou endógena por irradiação desidrocolesterol da pele. Entretanto, como além desse tecido, os rins, ossos, glândulas mamárias, cérebro, músculo e órgãos linfóides apresentam receptores de membrana para a proteína relacionada ao paratormônio (PTHrP), estruturalmente semelhante aos receptores para o PTH - em condições patológicas -, tanto o PTH como o PTHrP, além do estímulo renal à síntese da 25-dihidroxiciferol-hidroxilase, estimulam à produção do dihidroxiderivado ativo por ativação da 1 alfa-hidroxilase, em células de outros tecidos, induzindo a metabolização da 25 hidroxivitamin D1 em 1 alfa 25 hidroxivitamin D3.<sup>82</sup> A propósito desse mecanismo, foi demonstrado que os macrófagos presentes no tecido inflamatório apresentam atividade da 1 alfa-hidroxilase.<sup>83</sup>

### **Estímulo à síntese de vitamina D3 e principais efeitos**

Além do PTH e do PTHrP, IL-1, TNF- $\alpha$  e o IFN- $\gamma$  podem estimular as células daqueles tecidos (pele, rins, ossos, glândulas mamárias, cérebro, músculo e órgãos linfóides) à produção de vitamina D3. A produção extrarenal de vitamina D3 ou de moléculas semelhantes, também, pode ser constatada em neoplasias tais como no linfoma de Hodgkin, linfoma não Hodgkin e carcinosarcoma.<sup>84</sup> Isso indica, que,

teoricamente, sob determinadas condições patológicas qualquer célula pode produzir vitamina D3, assumindo, portanto, importante função no processo reabsortivo ósseo, induzido pelas lesões granulomatosas periapicais, pois induz tanto a diferenciação das células progenitoras mielóides dos osteoclastos quanto à síntese e secreção PGE2 e LTs pelos monócitos, macrófagos, linfócitos, plasmócitos e osteoblastos, eleva a concentração local desses eicosanóides.<sup>85</sup> (fig. 21)

### **Participação da vitamina D3 no processo de proliferação e diferenciação dos prómonócitos em osteoclastos**

A importância da vitamina D3 no processo de proliferação e diferenciação dos prómonócitos em monócitos, e esses em osteoclastos,<sup>76</sup> pode ser comprovada em estudos **in vitro**, nos quais, a adição de 1-25 (OH) vitamina D3 (1, 25 dihidroxivitamina D3) determinou o aumento do número de células gigantes multinucleadas e de núcleos positivamente corados com anticorpos monoclonais para osteoclastos. (fig. 21) O mecanismo envolvido parece ser a ligação da vitamina D3 em receptores semelhantes aos esteróides (dedo de zinco). O sítio de ligação desse receptor ao calcitriol (vitamina D3) apresenta alta afinidade e baixa capacidade de ligação a esse hormônio, apresentando 45% de sua estrutura semelhante à dos glicocorticóides.<sup>86</sup>

### **Fatores estimuladores de colônia e de diferenciação no processo de reabsorção óssea**

A participação dos fatores estimuladores das colônias celulares (CEFs) e dos fatores indutores de diferenciação (DIA/DIFs), a exemplo do que ocorre em relação ao aumento da população celular do granuloma periapical, como vimos, assume, igualmente, fundamental importância no processo de reabsorção óssea, inibindo a diferenciação das células totipotentes embrionárias (DIA), bem como induzindo as células progenitoras mielóides, a proliferação e a diferenciação (DIFs).

Os DIA/LIF<sup>125</sup> são moléculas de aproximadamente 43 x 103 Mr obtida por glicosilação de um núcleo de 19 x 103 Mr a partir de uma cadeia polipeptídica. São produzidos entre outras células por células inflamatórias, células do sistema imune (linfócitos), fibroblastos e osteoblastos.<sup>77</sup> Sua atividade biológica depende basicamente das circunstâncias em que esse sinal é emitido para a célula alvo e o contexto celular no qual o sinal foi interpretado. O exame do gene de transcrição do DIA/LIF, em cultura de células, tem mostrado a existência de duas classes de RNAm para DIA/LIF, que divergem na seqüência 5 terminal.

A significância funcional dessa organização é que o polipeptídeo DIA/LIF, contendo MKVLA na seqüência aminoterminal é livremente difusível, podendo afetar o comportamento das células localizadas distantemente das células que o produziram, enquanto a forma alternativa, contendo a seqüência aminoterminal MRCR é depositada na matriz celular das células que o produziram. Somente as células em contato com essas células é que poderão ser estimuladas por esse fator.<sup>87</sup>

Na cultura do tecido ósseo da calota craniana dos camundongos, tais fatores demonstraram serem potentes estimuladores do processo de reabsorção óssea e da síntese do DNA. Contudo, na cultura de células de ossos longos de ratos, foi constatada a inibição do processo reabsortivo ósseo por fatores de diferenciação. Eles decrescem a atividade da fosfatase alcalina, aumentando o nível de RNAm para a osteopontina, em células semelhantes a osteoblastos.

Ao contrário do efeito do PTH, da 1, 25 (OH) vitamina D3, IL-1 e do TNF- $\alpha$ , que estimulam os osteoclastos à produção de um fator solúvel produzido pelos osteoblastos, há evidência de que os fatores de diferenciação estimulam diretamente a atividade reabsortiva dos osteoclastos,<sup>76</sup> pois inibem a diferenciação das células tronco embrionárias possibilitando a proliferação das células mielóides progenitoras dos monócitos. Contudo, não participam diretamente de sua formação. Um dos mecanismos geradores dos fatores de diferenciação é os osteoblastos estimulados pelo PTH e/ou citocinas reabsortivas ósseas.<sup>88</sup> O efeito sinérgico da vitamina D3 com os fatores estimuladores de colônia celulares (IL-3 ou GM-CSF) estimula a

formação de osteoclastos; não obstante, o efeito da 1, 25 (OH)<sub>2</sub> vitamina D<sub>3</sub> induzir a formação dessas células, mesmo na ausência dos fatores estimuladores de colônia, sugere que diferentes mecanismos estão envolvidos na formação dos osteoclastos.

Dentre esses foi sugerido que a IL-3 ou o GM-CSF causam a proliferação das células blásticas mielóides progenitoras dos monócitos, enquanto que a vitamina D<sub>3</sub> estimularia a diferenciação dos monócitos em osteoclastos.<sup>72</sup>

### **Reabsorção óssea**

O processo da reabsorção óssea pode ser dividida em três fases: **1)** - desmineralização; **2)** – fragmentação da matriz orgânica; **3)** – transporte dos produtos solúveis para a circulação sanguínea.

Durante a desmineralização do tecido ósseo, a solubilização componentes orgânicos desse tecido ocorre em um microambiente ácido (pH entre 4.5 e 5) induzido por um mecanismo bombeador de prótons (H<sup>+</sup> ATPase) presente na borda franzida dos osteoclastos, que estabelece um gradiente de pH. A regulação do pH intracelular é promovida pela enzima anidrase carbônica, localizada no citoplasma, que secreta bicarbonato, via troca de HCO<sub>3</sub>/Cl. Imediatamente após a solubilização do mineral ósseo, as enzimas hidrolíticas ácidas e catepsina secretadas pelos osteoclastos passam a degradar (fragmentar) as proteínas colagênicas e não colagênicas da matriz óssea, resultando na liberação de vários produtos biologicamente ativos presentes nessa matriz,<sup>71</sup> tais como: colágeno, osteonectina, fosfoproteínas, sialoproteínas ósseas, osteopontina, proteoglicanas, proteínas gla da matriz, α-pró-peptídeo e fatores de crescimento (PDGF, EGF, FGF, IGF, BGF, EGF, BMPs etc...).

### **Fatores locais e sistêmicos envolvidos no controle do processo de reabsorção ósseo**

Vários fatores locais e sistêmicos participam do controle do processo de reabsorção óssea. De particular importância são os produtos de síntese e secreção dos angioblastos, fibroblastos, macrófagos, linfócitos, plasmócitos e neutrófilos, que constituem a população celular predominante das lesões inflamatórias periapicais. (fig. 23)

### **Fatores sistêmicos**

Dentre os fatores sistêmicos,<sup>23</sup> destacam-se: o hormônio do crescimento, hormônio tireoidiano, glicocorticóides, paratormônio, a calcitonina e a vitamina D3.

### **Fatores locais**

Entre os locais, têm sido reportados vários produtos resultantes da ativação das células presentes no tecido ósseo em reabsorção, tais como: PGE2, IL-1, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , FGF, IGF, EGF, PDGF, RANKL, o fator estimulador de colônia (IL-3) e os fatores de indução da diferenciação (DIFs).

### **Reabsorção óssea na fase inicial de formação das lesões granulomatosas periapicais**

Na fase inicial de formação dessas lesões, os linfócitos T auxiliares (Th) apresentam a proporção de 1,7 para 1 (1,7:1) em relação às células T supressoras (Ts), que com a evolução das lesões decresce. Tal achado indica que a resposta imune do tipo retardado e a secreção de citocinas reabsorptivas ósseas, decorrente dessas reações, assumem fundamental importância, particularmente, na fase inicial de formação do granuloma periapical.<sup>89</sup> (fig. 16)

### **Fase de reabsorção óssea ativa**

A preponderância das células Th, na fase de reabsorção ativa das lesões granulomatosas periapicais pode simplesmente representar a resposta das células T aos antígenos bacterianos locais. Por outro lado, o fato da atividade reabsortiva óssea ter sido inibida pelo tratamento com proteinase K, mas não por polimixina B (inibidor dos lipopolissacarídeos), sugere que o mecanismo responsável pela atividade reabsortiva óssea é predominantemente causada por mediadores químicos produzidos pelo organismo e não por lipossacarídeos de origem bacteriana.<sup>90</sup>

### **Reabsorção óssea induzida por prostaglandinas**

Admite-se que as prostaglandinas sejam responsáveis por 10 a 15% da atividade reabsortiva óssea identificada em lesões granulomatosas periapicais. (fig. 24) Tais mediadores, mais especificamente a PGE<sub>2</sub>, tem sido constatada em cultura de células removidas de lesões periapicais em reabsorção óssea ativa.<sup>24</sup> Há uma relação direta entre a produção de IgG e a dose de PGE<sub>2</sub>. Altas doses de PGE<sub>2</sub> causam discreto aumento da produção de IgG, enquanto que baixas doses produzem significativo aumento de IgG. Possivelmente, a explicação para esse efeito decorre do fato de que os linfócitos B presentes no tecido granulomatoso periapical inflamado apresentam receptores com maior ou menor afinidade pela PGE<sub>2</sub>.

### **Possíveis mecanismos indutores da reabsorção óssea pelas prostaglandinas**

Parece existir um efeito sinérgico entre a IL-4 e baixas doses de PGE<sub>2</sub>, resultando em aumento da produção de IgG.<sup>91</sup> A participação das PGs no processo de reabsorção óssea foi comprovado em estudo com cachorros da raça "beagle", em que inibidores da ciclooxigenase reduziram a perda óssea.<sup>92</sup> A possível explicação para esse efeito pode

ser a redução de PGE2 produzida pelo fármaco em nível local tendo como consequência a inibição da produção do fator solúvel de natureza lipídica produzido pelos osteoblastos capaz de estimular a reabsorção óssea pelos osteoclastos. No local da reabsorção óssea, a PGE, conjuntamente com a histamina e bradicinina causam vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, e inibição da liberação de linfocinas pelos linfócitos T.

As prostaglandinas agem de maneira autócrina regulando a proliferação fibroblástica e a produção do fator beta transformador do crescimento (TGF- $\beta$ ), que, mediante mecanismo indireto estimulador do aumento local de PGE2, induz a reabsorção óssea.<sup>93</sup>

As prostaglandinas também são importantes na indução do estado de ativação dos macrófagos. A propósito desse efeito, a síntese de colagenase por macrófagos estimulados por endotoxina ou macrófagos tratados com linfocinas é dependente da concentração de PGE2 endógena.<sup>39,94</sup> Também foi demonstrada que as prostaglandinas (PGE2 e PGI2) sintetizadas e secretadas por macrófagos e demais células presentes no local da inflamação ativam a adenilciclase aumentando o nível intracelular de AMPc e de cálcio, provavelmente secundário à estimulação da fosfolipase C.

Tais produtos participam do mecanismo de reabsorção óssea como segundo mensageiros, pois o aumento da concentração intracelular do AMPc induzida pela PGE2 também é necessária para a atividade dos genes responsáveis pela produção das citocinas reabsortivas IL-1 $\alpha$ , IL-6 e TNF- $\alpha$ .

### **Reabsorção óssea induzida por leucotrienos**

Os produtos da 5-lipooxigenase, tais como: LTB4, LTD4 e HETE, presentes no local da inflamação crônica, igualmente, participam ativamente do processo reabsortivo ósseo das lesões periapicais, pois além de estimularem a produção do fator ativador dos osteoclastos (IL-1) pelos macrófagos e demais células presentes na área de inflamação, também, são quimiotáticas para neutrófilos e linfócitos, exacerbando a reabsorção óssea.<sup>95</sup> (fig. 23; fig. 2, capítulo 1)

É possível que um dos metabólitos do ácido araquidônico, resultante da ativação da enzima lipooxigenase, seja o fator solúvel difusível pelos osteoblastos capaz de estimular a reabsorção osteoclástica, uma vez que inibidores da 5-lipooxigenase bloqueiam a produção desse fator.<sup>84</sup> Os leucotrienos, também, assumem fundamental importância no estímulo dos macrófagos à produção de enzimas lisossomais.<sup>96</sup>

A produção de leucotrienos, além de estimular a quimiotaxia celular para a região de reabsorção óssea e de aumentar a secreção de enzimas lisossomais ao nível ósseo, eleva a concentração de interleucina 1 (IL-1), estimulando os osteoblastos à produção do fator ativador do plasminogênio, de colagenases e de osteopontina, bem como reduz a produção de osteocalcina por essas células.

### **A IL-1 participa ativamente do metabolismo ósseo**

A IL-1 interage com o paratormônio (PTH) aumentando a reabsorção óssea; com a IL-3 elevando a proliferação, a migração e a diferenciação das células osteoprogenitoras; e com os TNFs elevando a reabsorção óssea, a síntese de prostaglandinas e a produção de IL-6. A IL-1 também ativa os macrófagos induzindo à síntese e secreção de enzimas e à produção de PGE2. Ativa também os fibroblastos à produção de metaloproteinases, além de reduzir o inibidor do plasminogênio e aumentar a produção de PGE2.<sup>97</sup>

### **Mecanismo ativador dos osteoclastos induzido pela IL-1**

No tecido ósseo, *in vivo*, a IL-1 não age diretamente nos osteoclastos, porquanto essas células não apresentam receptores para a citocina, mas, sim, estimula atividade da ciclo-oxigenase e a produção de PGE2, principalmente, pelos osteoblastos, macrófagos, linfócitos e plasmócitos presentes na área de inflamação, considerando que tais células apresentam aproximadamente de 3.000 a 15.000 receptores para a IL-1 com peso molecular de 70 a 80 kD.<sup>97</sup> Em nível ósseo local, como vimos, a concentração elevada desse prostanóide estimula os

osteoblastos à produção de um fator solúvel capaz de induzir os osteoclastos à reabsorção óssea. Em consonância com esse mecanismo, foi demonstrado que a PGE<sub>2</sub>, é o mediador endógeno da produção de IL-1, sugerindo que a produção dessas citocina: interleucina 1 (IL-1) e do fator de crescimento fibroblástico (FGF), sejam autoreguladas por esse prostanóide, ou seja, a IL-1 diretamente produziria o seu próprio inibidor (PGE<sub>2</sub>).<sup>77</sup>

### **O mecanismo da síntese e secreção de IL-1 e PGs envolve o aumento da produção de AMPc, que pode ser modulada pela inibição seletiva da ciclooxigenase pelos NSAIDs**

Possivelmente, a ligação entre o mecanismo da produção de PGs e de IL-1 seja o aumento da produção de AMPc necessário à produção de IL-1 pelos fibroblastos, visto que **alguns dos inibidores** da ciclo-oxigenase bloqueiam a síntese de PGs sem interferir, ou até mesmo, aumentar a produção de IL-1, porquanto não influenciam a atividade da lipooxigenase,<sup>98</sup> a produção do AMPc necessário à produção de IL-1 pelos fibroblastos. Vários trabalhos foram publicados afirmando que tais fármacos não reduziram os processos de reabsorção óssea. Em células ósseas, o processo de reabsorção não era dependente da síntese de PGs, visto que a adição de 0.5 a 5.0 µg/mL de indometacina não reduziu o referido processo. Contudo, outros anti-inflamatórios, tais como o tenidap e o naproxeno, que inibem a síntese de IL-1, também inibem a reabsorção óssea.<sup>44,100</sup>

O mecanismo envolvido no estímulo da síntese da IL-1 pode ser dividido em três fases: inicialmente ocorre a interação dos produtos da lipooxigenases (LTB<sub>4</sub>), produzido por neutrófilos e monócitos/macrófagos e osteoblastos, causando à repressão gênica da IL-1. Imediatamente após ocorre a sua tradução e a posterior transcrição em RNAm.<sup>33</sup> Portanto, fármacos corticosteróides como a dexametasona que inibem tanto a ciclooxigenase quanto a lipooxigenase bloqueiam a produção de IL-1 diminuindo a reabsorção óssea.<sup>13</sup> Esses fármacos inibem tanto a tradução quanto a transcrição gênica necessária a síntese da interleucina 1 (IL-1).

## **Fator ativador de plaquetas (PAF)**

O fator ativador de plaquetas produzido ao nível do tecido granulomatoso periapical por essas células, neutrófilos, células endoteliais, monócitos e linfócitos exacerba a reabsorção óssea local, uma vez que estimula a produção local de interleucina 1 (IL-1) pelos monócitos e osteoblastos. O PAF também induz a produção de vários outros mediadores próinflamatórios, podendo, inclusive, agir sinergicamente com outras citocinas produzidas pelas demais células presentes no local da inflamação, induzindo à ativação dos polimorfonucleares neutrófilos; o aumento da permeabilidade vascular; a agregação e a fagocitose dos monócitos/macrófagos; a ativação dos eosinófilos; o aumento da permeabilidade vascular; a vaso constrição; e a contração da musculatura lisa. Age nos linfócitos T inibindo a produção da IL-2, bem como regulando a atividade dos linfócitos B nas reações de natureza imune. Portanto, tais efeitos sugerem que o PAF participa das reações inflamatórias de natureza imune ou não relacionada com a destruição periapical.<sup>1,101</sup>

## **Ativação das metaloproteinases na reabsorção óssea**

As citocinas IL-1 e TNF- $\alpha$  produzidas pelos macrófagos presentes no tecido periapical inflamado, estimulados por lipopolissacarídeos bacterianos, linfocinas e complexos imunes induzem a produção tanto autócrina quanto parácrina de metaloproteinases, ativando-as no tecido conjuntivo inflamado. A propósito desse efeito o IFN- $\gamma$  aumenta a produção da população celular do granuloma estimulada por lipopolissacarídeos potencializando o efeito do TNF- $\alpha$  na ativação dos macrófagos, induzindo essas últimas células à produção de elastase, proteases e das enzimas metaloproteinases, que se encontram latentes no tecido conjuntivo periodontal e periapical. Tais enzimas, após serem ativadas aumentam a degradação (fragmentação) da matriz extracelular.

Em contraposição, foi demonstrado que o interferon gama (IFN- $\gamma$ ) e interleucina 4 (IL-4) secretada pelos linfócitos T ativados inibem a

síntese dos eicosanóides bloqueando a produção de metaloproteínas pelos macrófagos, pois essas citocinas, respectivamente, impediriam a ativação das fosfolipases e da prostaglandina sintetase inibindo a produção do AMPc necessária à ativação da enzima ornitina-descarboxilase. Conseqüentemente, não há produção da putrescina e ativação das metaloproteínas por essas poliaminas. Outro aspecto da atividade enzimática das metaloproteínas que permanece obscuro é o mecanismo pelo qual a PGE2 interfere no funcionamento dessas enzimas, pois sua atividade é reduzida mediante a inibição da síntese de PGE2 por indometacina. Esse efeito pode ser decorrente da supressão da produção de IL-1 e do TNF- $\alpha$ , ou o aumento intracelular de monofostato de adenosina cíclico (AMPc) induzido pela concentração elevada de PGE2, necessário à ativação daquelas enzimas (metaloproteínas).<sup>102</sup>

### **Proteína Relacionada ao Hormônio Paratireoideiano (PTHrP)**

Atualmente, no processo de reabsorção óssea, tem sido atribuída acentuada importância à proteína relacionada ao hormônio paratireoideiano (PTHrP), pois, devido à semelhança estrutural do PTHrP (peptídeo) com o PTH (hormônio), esse peptídeo poderia ocupar os receptores para o hormônio, resultando na estimulação da adenilciclase e da fosfolipase C, nas células alvo presentes em vários tecidos, tais como: ossos, rins, pele, fígado, glândulas paratireóides, tecido conjuntivo e tecido linfóide, aumentando a concentração intracelular de AMPc, inositol trifosfato (IP3) e diacilglicerol (DAG); portanto, participando ativamente do controle dos processos de proliferação e diferenciação celular. Por ativar os receptores do PTH, apresenta efeitos semelhantes a esse hormônio, ou seja, o PTHrP, também estimula a produção do PGE2 pelas células osteoblásticas, sugerindo que esse prostanóide pode comunicar localmente sinais reabsortivos ósseos.<sup>117</sup> A produção desse peptídeo (PTHrP) é aumentada pelo fator de crescimento epidérmico (EGF), fator beta transformador do crescimento (TGF), e por fármacos bloqueadores da síntese protéica, tal como a cicloeximida; sugere que o controle da

transcrição gênica do PTHrP envolve a participação de um repressor protéico que controla o gene operador do PTHrP.<sup>103</sup> (fig. 26 )

### **Participação do sistema imune na reabsorção óssea**

Atualmente atribui-se acentuada importância à participação do sistema imune no mecanismo de reabsorção óssea. A propósito dessa participação, a interleucina 3 (IL-3) produzida principalmente pelos linfócitos Th1, ao se ligar aos receptores de superfície das células progenitoras mielóides, estimula a proliferação dessas células, sua migração e, posterior, diferenciação em osteoclastos,<sup>26</sup> bem como induz as células B à produção de imunoglobulinas (IgG).<sup>91</sup>

Outras células do sistema imune (linfócitos Th2), quando estimulados pelos componentes da parede celular bacteriana tal, como o ácido teóico e lipossacarídeos provenientes da microbiota intracanal, produzem IL-4. Essa citocina se liga a receptores localizados nas células alvo (linfócitos B, células hematopoiéticas e não-hematogênicas), produzindo efeitos biológicos capazes de estimular a produção dos fatores estimuladores de colônia (CSFs), causando o aumento da formação de células gigantes multinucleadas com características de macrófagos, a diminuição de citocinas reabsortivas ósseas (PGE2, IL-1, PTH, PTHrP) e a diminuição das células mielóides progenitoras dos osteoclastos. (figs. 20, 27 e 28)

### **Interleucina 6 (IL-6)**

A IL-6 é uma citocina produzida durante a resposta imune, ao nível do tecido granulomatoso periapical, que, por estimular a síntese e secreção de IL-1, PTHrP e TNF- $\alpha$  aumenta a migração, proliferação e diferenciação das células mielóides progenitoras em osteoclastos, exacerbando a reabsorção óssea, bem como inibindo a formação óssea, pois reduz a síntese do colágeno. Admite-se que as células mielóides progenitoras dos osteoclastos possam ser estimulados por

fatores de crescimento IL-3, GM-CSF, M-CSF ou G-CSF à produção de IL-8.<sup>101</sup> Essa citocina se liga a um receptor (IL-6R) de estrutura glicoprotéica composta por 449 aminoácidos com peso molecular de 80 kD. Tais receptores estão localizados na superfície celular das células multipotentes (totipotentes) da medula óssea, neutrófilos e linfócitos B.<sup>104</sup>

Em concentração fisiológica a IL-6 não estimula diretamente os osteoclastos maduros. Contudo, em alta concentração, tal como ocorre ao nível do tecido granulomatoso periapical, essa citocina pode indiretamente incitar, por meio da população endógena de IL-1, o processo de reabsorção óssea pelos osteoclastos. O mecanismo envolvido causa redução do período Go do ciclo celular, dotando as células progenitoras mielóides dos osteoclastos da capacidade de responder ao estímulo proliferativo proporcionado pelos referidos fatores de crescimento (IL-3, GM-CSF, M-CSF, G-CSF).

Mediante efeito autócrino a IL-6 também pode induzir a diferenciação dessas células em osteoclastos aumentando consequentemente a reabsorção óssea. Também interfere na formação óssea, pois inibe a síntese do colágeno e de proteínas não colagênicas.<sup>116</sup> Atualmente, sabe-se que a expressão de genes para a IL-6 e outras citocinas relacionadas às respostas inflamatórias não imune e imune estejam relacionada à participação dos fatores de transcrição. Nesse particular, destaca-se a participação dos fatores NF-IL-6 e do fator NF-kappa B (subunidade p 65), que ligados determinam a produção da IL-6.

### **Inativação gênica da IL-6 por dexametasona**

O mecanismo anti-inflamatório da dexametasona se deve, em parte, a sua ligação aos receptores que estão unidos aos receptores NF-IL6 causando inativação gênica da IL-6.<sup>107</sup> Considerando que as endotelinas produzidas pelas células endoteliais e células musculares lisas da parede vascular apresentam efeito mediado pelas prostaglandinas (PGs), podendo estimular tanto a reabsorção quanto o anabolismo ósseo, tais peptídeos apresentam função importante no acoplamento

do processo de remodelamento ósseo, pois estimulam o processo de reabsorção óssea, no modelo da calota craniana: a síntese das proteínas colagênicas e não-colagênicas, em presença de indometacina; bem como aumentam o “turnover” na cultura de células ósseas.<sup>102</sup>

## **Evolução granuloma-cisto**

Uma das teorias propostas para explicar a formação do cisto radicular ou periapical é a partir da proliferação epitelial com degeneração e “morte” (destruição) das células centrais existentes no interior de um “ninho” epitelial presente em um granuloma epiteliado.<sup>70</sup> Entretanto, o mecanismo responsável por essa proliferação permanece ainda especulativo.

O fato das células do epitélio proliferante apresentar edema intracelular, coalescendo, formando microcistos, bem como por apresentarem elevada atividade da enzima fosfatase ácida, principalmente, nas células centrais e baixa atividade proteolítica, sugere que essas células estão em um processo de autólise (dissolução gradual da estrutura celular por enzimas hidrolíticas da própria célula).<sup>58</sup>

### **Mecanismos estimulador da proliferação e inibidor da apoptose dos restos epiteliais de Malassez**

Um aspecto ainda obscuro em relação à formação das lesões císticas radiculares, a partir da evolução do granuloma periapical, é o mecanismo inicial estimulador da proliferação dos restos epiteliais de Malassez. Esses restos epiteliais não são normalmente proliferativos, mas sob certas condições patológicas, tal como no ambiente inflamatório, em que é ativada a resposta imune, tais células adquirem atividade proliferativa.

### **Ativação dos restos epiteliais de Malassez**

O aumento da atividade proliferativa dessas células é causado por algumas citocinas produzidas no tecido granulomatoso inflamado, tais como: fator de crescimento epidérmico (EGF), fator alfa transformador do crescimento (TGF- $\alpha$ ) e interleucina 6 (IL-6). Em tais células têm sido identificados receptores para o fator de crescimento epidérmico (EGF) e fator alfa transformador do crescimento (TGF- $\alpha$ ). É possível que outras citocinas (interleucinas e interferons), estejam também envolvidas no aumento da atividade proliferativa dessas células.<sup>59</sup>

### **Ativação de proto-oncogenes**

De particular interesse, em relação à atividade proliferativa celular do granuloma periapical, é a ativação de proto-oncogenes c-fos e c-jun por uma baixa concentração de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Alterações locais no pH tecidual, ou na tensão do dióxido de carbono, também, têm sido sugeridas. Atualmente, tem sido atribuída acentuada importância para os mediadores químicos sintetizados e secretados no local da inflamação e por reações de natureza imune ativadas, durante o processo inflamatório periapical.

### **Ativação de proto-oncogenes por citocinas e fatores de crescimento**

Fatores de crescimento, tais como o fator de crescimento epidérmico (EGF), fator alfa transformador do crescimento (TGF- $\alpha$ ), fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e interleucina 6 (IL-6) apresentam efeito proliferativo epitelial *in vitro*. Tem sido proposto que as citocinas inflamatórias interleucina 1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) ou interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), TNF- $\alpha$  e PDGF produzidas pelas células inflamatórias e por células epiteliais ativam os fibroblastos à produção do fator de crescimento dos queratinócitos (KGF) estimulando a proliferação e diferenciação das células epiteliais.<sup>59</sup> Em contraposição, estudo *in vitro*,<sup>58</sup> demonstrou a relação inversa entre a proliferação epitelial e a inflamação induzida

por citocinas e fatores de crescimento existentes no tecido inflamatório, considerando que houve estímulo da apoptose das células epiteliais; não obstante, ter sido, também, demonstrado que o processo inflamatório induz proliferação epitelial.

### **Mecanismos inflamatórios e imunes indutores da proliferação celular na evolução da lesão granuloma-cisto**

A maioria dos cistos periapicais é infiltrada por células inflamatórias crônicas mononucleares com localização subepitelial; enquanto que os polimorfonucleares migram da cápsula para o epitélio, acumulando-se no lúmen, produzindo, durante a migração, áreas de descontinuidade epitelial.<sup>118</sup> O mecanismo imune, relacionado com a infiltração do tecido epitelial por linfócitos poderia ter participação na proliferação epitelial, porquanto a síntese e secreção de linfocinas podem ativar os fibroblastos da parede cística à produção de um fator de crescimento de natureza peptídica capaz de estimular o crescimento e a proliferação das células epiteliais, denominado de fator de crescimento dos queratinócitos (KGF).<sup>109</sup>

Outras citocinas produzidas no tecido granulomatoso periapical, via mecanismo imune, tais como, interleucina 1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), fator necrótico tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) podem aumentar a expressão gênica do fator de crescimento neural (NGF) nos fibroblastos,<sup>59</sup> induzindo-os também à síntese e secreção do KGF (fator estimulador dos queratinócitos), que é um indutor da proliferação epitelial. A presença de células B nas proximidades do tecido epitelial, em granulomas, bem como no epitélio proliferante, e em localização subepitelial de cistos radiculares,<sup>118,119</sup> na proximidade das células epiteliais proliferantes sugere que durante a proliferação das células epiteliais ocorre a inibição da apoptose tanto de células epiteliais quanto de células imunes (linfócitos), geradoras de linfocinas indutoras da proliferação epitelial.

## Referências Bibliográficas

1. Kumar V, Abbas A, Fausto N, Mitchell R Robbins: patologia básica. Rio de Janeiro, 8ª ed., Elsevier Saunders, 2008.
2. Nicosia RF, Nicosia SV, Smith M. Vascular endothelial growth factor, platelet-derived growth factor, and insulin-like growth factor-1 promote rat aortic angiogenesis in vitro. *Am J Pathol*, 1994; 145: 1023-9.
3. Rothe MJ, Falanga V. Growth factors and wound healing. *Clin Dermatol*, 1991; 9: 553-9.
4. Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science*, 198; 235: 442-7.
5. Wahl SM. Transforming growth factor beta (TGF-beta) in inflammation: a cause and a cure. *J Clin Immunol*, 1992; 12: 61-74.
6. Wahl LM, Corcoran ML Regulation of monocyte/macrophage metalloproteinase production by cytokines. *J Periodontol*, 1993; 64: 467-73.
7. Sporn MB, Roberts AB. TGF-beta: problems and prospects. *Cell Regul*, 1990; 1: 875-82.
8. Wakefield LM, Smith DM, Flanders KC, Sporn MB. Latent transforming growth factor-beta from human platelets. A high molecular weight complex containing precursor sequences. *J Biol Chem*, 1988; 263: 7646-54.
9. Pertovaara L, Kaipainen A, Mustonen T, Orpana A, Ferrara N, Saksela O, Alitalo K. Vascular endothelial growth factor is induced in response to transforming growth factor-beta in fibroblastic and epithelial cells. *J Biol Chem*, 1994; 269: 6271-4.
10. Wahl SM, Costa GL, Mizel DE, Allen JB, Skaleric U, Mangan DF. Role of transforming growth factor beta in the pathophysiology of chronic inflammation. *J Periodontol*, 1993; 64(5 Suppl): 450-5.
11. Couffinhal T, Kearney M, Witzenbichler B et al Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor (VEGF/VPF) in normal and atherosclerotic human arteries. *Am J Pathol*, 1997; 150: 1673-8.
12. Hunkapiller T, Hood L Diversity of the immunoglobulin gene superfamily. *Adv Immunol*, 1989; 44: 1-63.

13. Fan TP, Hu DE, Smither RL, Gresham GA. Further studies on angiogenesis in a rat sponge model. *EXS*, 1992; 61: 308-14.
14. Ziche M, Morbidelli L, Pacini M, Geppetti P, Alessandri G, Maggi CA. Substance P stimulates neovascularization in vivo and proliferation of cultured endothelial cells. *Microvasc Res*, 1990; 40: 264-78.
15. Detmar M, Tenorio S, Hettmannsperger U, Ruszczak Z, Orfanos CE. Cytokine regulation of proliferation and ICAM-1 expression of human dermal microvascular endothelial cells in vitro. *J Invest Dermatol*, 1992; 98: 147-53.
16. 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.
17. Slater C, House SD. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on microvascular dynamics. *Microvasc Res*, 1993; 45: 166-79.
18. Wren AD, Hiley CR, Fan TP. Endothelin-3 mediated proliferation in wounded human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993; 196: 369-75.
19. Orly J, Sato G. Fibronectin mediates cytokinesis and growth of rat follicular cells in serum-free medium. *Cell*, 1979; 17: 295-305.
20. Yamada KM, Yamada SS, Pastan I. Cell surface protein partially restores morphology, adhesiveness, and contact inhibition of movement to transformed fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1976; 73: 1217-21.
21. Booyse FM, Sedlak BJ, Rafelson ME Jr. Culture of arterial endothelial cells: characterization and growth of bovine aortic cells. *Thromb Diath Haemorrh*, 1975; 34: 825-39.
22. Smith JB, Hassan NF, Douglas SD, Polin RA. Effects of indomethacin and prostaglandin E1 on the production of fibronectin and lysozyme by monocyte-derived macrophages in vitro. *Clin Lab Immunol*, 1991; 35: 147-55.
23. Raisz LG. Local and systemic factors in the pathogenesis of osteoporosis. *N Engl J Med*, 1988; 318: 818-28.

24. Hom DB, Maisel RH. Angiogenic growth factors: their effects and potential in soft tissue wound healing. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1992; 101: 349-54.
25. Papapetropoulos A, Desai KM, Rudic RD, Mayer B, Zhang R, Ruiz-Torres MP, García-Cardeña G, Madri JA, Sessa WC. Nitric oxide synthase inhibitors attenuate transforming-growth-factor-beta 1-stimulated capillary organization in vitro. *Am J Pathol*. 1997; 150: 1835-44.
26. Torabinejad M. Mediators of acute and chronic periradicular lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1994; 78: 511-21.
27. Patt LM, Houck JC. Role of polypeptide growth factors in normal and abnormal growth. *Kidney Int*. 1983; 23: 603-10.
28. Smith JB, Hassan NF, Douglas SD, Polin RA. Effects of indomethacin and prostaglandin E1 on the production of fibronectin and lysozyme by monocyte-derived macrophages in vitro. *J Clin Lab Immunol*, 1991; 35: 147-55.
29. Soory M, Kasasa SC. The effects of epidermal growth factor, interleukin-1, and phenytoin, alone and in combination, on C19 steroid conversions in fibroblasts. *J Periodontol*, 1997; 68: 819-26.
30. Page RC, Davies P, Allison AC. Pathogenesis of the chronic inflammatory lesion induced by group A streptococcal cell walls. *Lab Invest*, 1974; 30: 568-81.
31. Page RC, Davies P, Allison AC. Participation of mononuclear phagocytes in chronic inflammatory diseases. *J Reticuloendothel Soc*, 1974; 15: 413-38.
32. Diegelmann RF, Cohen IK, Kaplan AM. Effect of macrophages on fibroblast DNA synthesis and proliferation. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1982; 169: 445-51.
33. Rola-Pleszczynski M, Lemaire I. Leukotrienes augment interleukin 1 production by human monocytes. *J Immunol*, 1985; 135: 3958-61.
34. Smith RS, Smith TJ, Blieden TM, Phipps RP. Fibroblasts as sentinel cells. Synthesis of chemokines and regulation of inflammation. *Am J Pathol*, 1997; 151: 317-22.

35. Goodger NM, Gannon J, Hunt T, Morgan PR. Cell cycle regulatory proteins--an overview with relevance to oral cancer. *Oral Oncol*, 1997; 33: 61-73.
36. Plemons JM, Dill RE, Rees TD, Dyer BJ, Ng MC, Iacopino AM. PDGF-B producing cells and PDGF-B gene expression in normal gingival and cyclosporine A-induced gingival overgrowth. *J Periodontol*. 1996; 67: 264-70.
37. Haynes AR, Shaw RJ. Dexamethasone-induced increase in platelet-derived growth factor (B) mRNA in human alveolar macrophages and myelomonocytic HL60 macrophage-like cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1992; 7: 198-20.
38. Pertovaara L, Kaipainen A, Mustonen T, Orpana A, Ferrara N, Saksela O, Alitalo K. Vascular endothelial growth factor is induced in response to transforming growth factor-beta in fibroblastic and epithelial cells. *J Biol Chem*, 1994; 269: 6271-4.
39. Yamasaki K, Shibata Y, Fukuhara T. The effect of prostaglandins on experimental tooth movement in monkeys (*Macaca fuscata*). *J Dent Res*, 1982; 61: 1444-6.
40. Tatakis DN. Interleukin-1 and bone metabolism: a review. *J Periodontol*, 1993; 64(5 Suppl): 416-31.
41. Harvey W, Benett A. Prostaglandins in bone resorption. Boca Raton, CRPress, 1989.
42. McAnulty RJ, Hernández-Rodríguez NA, Mutsaers SE, Coker RK, Laurent GJ. Indomethacin suppresses the anti-proliferative effects of transforming growth factor-beta isoforms on fibroblast cell cultures. *Biochem J*, 1997; 321 (Pt 3): 639-43.
43. Estes JE, Pledger WJ, Gillespie GY. Macrophage-derived growth factor for fibroblasts and Interleukin-1 are distinct entities. *J Leukoc Biol*, 1984; 35: 115-29.
44. Otterness IG, Bliven ML, Downs JT, Natoli EJ, Hanson DC. Inhibition of interleukin 1 synthesis by tenidap: a new drug for arthritis. *Cytokine*, 1991; 3: 277-83.
45. Wallstrom JB, Torabinejad M, Kettering J, McMillan P. Role of T cells in the pathogenesis of periapical lesions. A preliminary report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1993; 76: 213-8.

46. Catanzaro-Guimarães SA Patologia básica da cavidade bucal. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1982.
47. Otterness IG, Golden HW, Seymour PA, Eskra JD, Daumy GO. Role of prostaglandins in the behavioral changes induced by murine interleukin 1 alpha in the rat. *Cytokine*, 1991; 3: 333-8.
48. Feldman SR, Yaar M. Oncogenes. The growth control genes. *Arch Dermatol*, 1991; 127: 707-11.
49. Offenbacher S, Collins JG, Heasman PA. Diagnostic potential of host response mediators. *Adv Dent Res*, 1993; 7: 175-81.
50. Adolphe M, Giroud JP, Timsit J, Lechat P. [Comparative effects of E1,E2,A2,F1 alpha, F2 alpha prostaglandins on the division of the HeLa cells in culture] *C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci*, 1973 ; 277: 537-40.
51. Naseem SM, Hollander VP. Insulin reversal of growth inhibition of plasma cell tumor by prostaglandin or adenosine 3',5'-monophosphate. *Cancer Res*, 1973; 33: 2909-12.
52. Johnson GS, Pastan I. Change in growth and morphology of fibroblasts by prostaglandins. *J Natl Cancer Inst*, 1971; 47: 1357-64.
53. Yeudall WA, Jakus J. Cyclin kinase inhibitors add a new dimension to cell cycle control. *Eur J Cancer B Oral Oncol*, 1995; 31B: 291-8.
54. Feuerstein N, Foegh M, Ramwell PW. Leukotrienes C4 and D4 induce prostaglandin and thromboxane release from rat peritoneal macrophages. *Br J Pharmacol*, 1981; 72: 389-91.
55. Rola-Pleszczynski M, Lemaire I. Leukotrienes augment interleukin 1 production by human monocytes. *J Immunol*, 1985; 135: 3958-61.
56. Goodger NM, Gannon J, Hunt T, Morgan PR. Cell cycle regulatory proteins--an overview with relevance to oral cancer. *Oral Oncol*, 1997; 33: 61-73.
57. Lorenzo JA. The role of cytokines in the regulation of local bone resorption. *Crit Rev Immunol*, 1991; 11: 195-213.
58. Carro OM, Evans SA, Leone CW. Effect of inflammation on the proliferation of human gingival epithelial cells in vitro. *J Periodontol*, 1997; 68: 1070-5.

59. Gao Z, Flaitz CM, Mackenzie IC. Expression of keratinocyte growth factor in periapical lesions. *J Dent Res*, 1996; 75: 1658-63.
60. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*, 1976; 34: 235-49.
61. Barnard JA, Lyons RM, Moses HL. The cell biology of transforming growth factor beta. *Biochim Biophys Acta*, 1990; 1032: 79-87.
62. 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.
63. Onishi Y, Tanimoto Y, Kizaki H. Inflammation and apoptosis. *Bull Tokyo Dent Coll*, 1997; 38: 65-76.
64. Shinagawa T, Yoshioka K, Kakumu S, Wakita T, Ishikawa T, Itoh Y, Takayanagi M. Apoptosis in cultured rat hepatocytes: the effects of tumour necrosis factor alpha and interferon gamma. *J Pathol*, 1991; 165: 247-53.
65. Todoki K, Lee C, Okabe E [Measurement of reactive oxygen species in a biological system and its perspectives] *Nippon Yakurigaku Zasshi*, 1996; 108: 295-306.
66. Chen Y, Zychlinsky A. Apoptosis induced by bacterial pathogens. *Microb Pathog*, 1994; 17: 203-12.
67. Wallstrom JB, Torabinejad M, Kettering J, McMillan P. Role of T cells in the pathogenesis of periapical lesions. A preliminary report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1993; 76: 213-8.
68. Goodyear HM. Aciclovir in herpes simplex gingivostomatitis. Children studied were not representative of those seen in casualty departments. *BMJ*, 1997; 315:1162.
69. Shimizu S, Eguchi Y, Kosaka H, Kamiike W, Matsuda H, Tsujimoto Y. Prevention of hypoxia-induced cell death by Bcl-2 and Bcl-xL. *Nature*. 1995; 374: 811-3.
70. Shear M *Cistos da cavidade bucal*. 1a. ed., São Paulo, Santos, 1989.
71. Shimizu T, Sasaki T. Ultrastructural study of the effects of cytochalasin D administration on the structure and acid trimetaphosphatase activity of osteoclast. *J Electron Microsc* (Tokyo), 1991; 40: 346-55.

72. Kurihara N, Suda T, Miura Y, Nakauchi H, Kodama H, Hiura K, Hakeda Y, Kumegawa M. Generation of osteoclasts from isolated hematopoietic progenitor cells. *Blood*, 1989; 74: 1295-302.
73. Ash P, Loutit JF, Townsend KM. Osteoclasts derived from haematopoietic stem cells. *Nature*, 1980; 283: 669-70.
74. Fuller K, Gallagher AC, Chambers TJ. Osteoclast resorption-stimulating activity is associated with the osteoblast cell surface and/or the extracellular matrix. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991; 181: 67-73.
75. Brudvik P, Rygh P. Root resorption beneath the main hyalinized zone. *Eur J Orthod*, 1994; 16: 249-63.
76. Rosol TJ, Capen CC. Mechanisms of cancer-induced hypercalcemia. *Lab Invest*, 1992; 67: 680-02.
77. Kunkel SL, Chensue SW, Phan SH. Prostaglandins as endogenous mediators of interleukin 1 production. *J Immunol*, 1986; 136: 186-92.
78. Cornack DH *Histologia*. 9a. ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991
79. Meghji S. Bone remodelling. *Br Dent J*, 1992; 172: 235-42.
80. Schütz AB Estudo comparativo dos mecanismos de ação e efeitos farmacológicos do tenoxicam, indometacina, dexametazona e metotrexato no processo inflamatório agudo e crônico. Bauru, Faculdade de odontologia de Bauru da USP, 1996.
81. Fuller K, Chambers TJ. Generation of osteoclasts in cultures of rabbit bone marrow and spleen cells. *J Cell Physiol*, 1987; 132: 441-52.
82. Thomson BM, Saklatvala J, Chambers TJ. Osteoblasts mediate interleukin 1 stimulation of bone resorption by rat osteoclasts. *J Exp Med*, 1986; 164: 104-12.
83. Gyetko MR, Hsu CH, Wilkinson CC, Patel S, Young E. Monocyte 1 alpha-hydroxylase regulation: induction by inflammatory cytokines and suppression by dexamethasone and uremia toxin. *J Leukoc Biol*. 1993; 54: 17-22.
84. Adams JS, Fernandez M, Gacad MA, Gill PS, Endres DB, Rasheed S, Singer FR. Vitamin D metabolite-mediated hypercalcemia and hypercalciuria patients with AIDS- and non-AIDS-associated lymphoma. *Blood*, 1989; 73: 235-9.

85. Scheinman SJ, Kelberman MW, Tatum AH, Zamkoff KW. Hypercalcemia with excess serum 1,25 dihydroxyvitamin D in lymphomatoid granulomatosis/angiocentric lymphoma. *Am J Med Sci*, 1991; 301: 178-81.
86. Murray RK, Granner Dk, Rodwell Vw *Bioquímica básica* 9a. ed., São Paulo, Atheneu, 1994.
87. Heath JK, Smith AG, Hsu LW, Rathjen PD. Growth and differentiation factors of pluripotential stem cells. *J Cell Sci Suppl*, 1990; 13: 75-85.
88. Weir EC, Insogna KL, Horowitz MC. [Measurement of reactive oxygen species in a biological system and its perspectives] *Nippon Yakurigaku Zasshi*, 1996; 108: 295-306.
89. Wallstrom JB, Torabinejad M, Kettering J, McMillan P. Role of T cells in the pathogenesis of periapical lesions. A preliminary report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1993; 76: 213-8.
90. Yamasaki K, Miura F, Suda T. Prostaglandin as a mediator of bone resorption induced by experimental tooth movement in rats. *J Dent Res*, 1980; 59: 1635-42.
91. Harrell JC, Stein SH. Prostaglandin E2 regulates gingival mononuclear cell immunoglobulin production. *J Periodontol*, 1995; 66: 222-7.
92. Williams AS, Topley N, Amos N, Williams BD. Effect of three lipophilic methotrexate derivatives upon mediator release by lipopolysaccharide-stimulated rat peritoneal macrophages. *J Pharm Pharmacol*, 1994; 46: 291-5.
93. Wahl LM, Wahl SM, Mergenhagen SE, Martin GR. Collagenase production by endotoxin-activated macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1974; 71: 3598-601.
94. Yamasaki K, Shibata Y, Fukuhara T. The effect of prostaglandins on experimental tooth movement in monkeys (*Macaca fuscata*). *J Dent Res*, 1982; 61: 1444-6.
95. Schenkelaars EJ, Bonta IL Effect of leukotriene C4 on the release of secretory products by elicited populations of rat peritoneal macrophages. *Eur J Pharmacol*, 1983; 86: 477-80.

96. Feuerstein N, Ramwell PW. In vivo and in vitro effects of endotoxin on prostaglandin release from rat lung. *Br J Pharmacol*, 1981; 73: 511-6.
97. Tatakis DN. Interleukin-1 and bone metabolism: a review. *J Periodontol*, 1993; 64(5 Suppl): 416-31.
98. Kawada N. The hepatic perisinusoidal stellate cell. *Histol Histopathol*, 1997; 12: 1069-80.
99. Heath JK, Saklatvala J, Meikle MC, Atkinson SJ, Reynolds JJ. Pig interleukin 1 (catabolin) is a potent stimulator of bone resorption in vitro. *Calcif Tissue Int*, 1985; 37: 95-7.
100. Sipe JD, Bartle LM, Loose LD. Modification of proinflammatory cytokine production by the antirheumatic agents tenidap and naproxen. A possible correlate with clinical acute phase response. *J Immunol*, 1992; 148: 480-4.
101. Steinberg AD, Alves ME, Lipowski J, Lebreton GC. Platelet association with gingival tissue inflammation. *J Periodontol*, 1995; 66: 860-3.
102. Tatrai A, Foster S, Lakatos P, Shankar G, Stern PH. Endothelin-1 actions on resorption, collagen and noncollagen protein synthesis, and phosphatidylinositol turnover in bone organ cultures. *Endocrinology*, 1992; 131: 603-7.
103. Orloff JJ, Ganz MB, Ribaud AE, Burtis WJ, Reiss M, Milstone LM, Stewart AF. Analysis of PTHRP binding and signal transduction mechanisms in benign and malignant squamous cells. *Am J Physiol*, 1992; 262(5 Pt 1): E599-607.
104. Fujihashi K, Kono Y, Beagley KW, Yamamoto M, McGhee JR, Mestecky J, Kiyono H. mCytokines and periodontal disease: immunopathological role of interleukins for B cell responses in chronic inflamed gingival tissues. *J Periodontol*, 1993; 64 (5 Suppl): 400-6.
105. Ray A, Prefontaine KE. Physical association and functional antagonism between the p65 subunit of transcription factor NF-kappa B and the glucocorticoid receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994; 91: 752-6.

106. Denhardt DT, Edwards DR, Parfett CL. Gene expression during the mammalian cell cycle. *Biochim Biophys Acta*, 1986; 865: 83-125.
107. Rollins BJ, Stiles CD. Serum-inducible genes. *Adv Cancer Res*. 1989; 53: 1-32.
108. Arends MJ, Morris RG, Wyllie AH. Apoptosis. The role of the endonuclease. *Am J Pathol*, 1990; 136: 593-608.
109. Chedid M, Rubin JS, Csaky KG, Aaronson SA. Regulation of keratinocyte growth factor gene expression by interleukin 1. *J Biol Chem*, 1994; 269: 10753-7.
110. Dennison DK, Vallone DR, Pinero GJ, Rittman B, Caffesse RG. Differential effect of TGF-beta 1 and PDGF on proliferation of periodontal ligament cells and gingival fibroblasts. *J Periodontol*. 1994; 65(7):641-8.
111. Gospodarowicz D, III C. Extracellular matrix and control of proliferation of vascular endothelial cells. *J Clin Invest*, 1980; 65: 1351-64.
112. DeLustro F, Sherer GK, LeRoy EC. Human monocyte stimulation of fibroblast growth by a soluble mediator(s). *J Reticuloendothel Soc*, 1980; 28: 519-32.
113. McSheehy PM, Chambers TJ. Osteoblast-like cells in the presence of parathyroid hormone release soluble factor that stimulates osteoclastic bone resorption. *Endocrinology*. 1986; 119: 1654-9.
114. Hoylaerts M, Rijken DC, Lijnen HR, Collen D. Kinetics of the activation of plasminogen by human tissue plasminogen activator. Role of fibrin. *J Biol Chem*, 1982; 257: 2912-9.
115. Akamine A, Anan H, Hamachi T, Maeda K. A histochemical study of the behavior of macrophages during experimental apical periodontitis in rats. *Endod*, 1994; 20: 474-8.
116. Heyworth CM, Vallance SJ, Whetton AD, Dexter TM. The biochemistry and biology of the myeloid haemopoietic cell growth factors. *J Cell Sci Suppl*, 1990; 13: 57-74
117. Evely RS, Bonomo A, Schneider HG, Moseley JM, Gallagher JM, Martin TJ. Structural requirements for the action of parathyroid

- hormone-related protein (PTHrP) on bone resorption by isolated osteoclasts. *J Bone Miner Res*, 1991; 6: 85-93.
- 118.Cohen MA. Pathways of inflammatory cellular exudate through radicular cyst epithelium: a light and scanning electron microscope study. *Oral Pathol*, 1979; 8: 369-378.
- 119.Gao Z, Mackenzie IC, Rittmane BR, Korzun AK et al Immunocytochemical examination of immune cells in periapical granulomata and odontogenic cysts. *J Oral Pathol*, 1988; 17: 84-90.
- 120.Shin MM High extracellular  $Ca^{++}$  alone stimulates osteoclasts formation but inhibits in the presence of osteoclastogenic factors. *Exp Mol Med*, 2003; 35: 167-74.
- 121.Belibasakis EN et al The cytolethal distending toxin inducer receptor activator of NF-Kappa B ligand expression in human gingival fibroblast and periodontal cell s . *Infect Immunol*, 2005; 73: 342-51.
- 122.Smith AG, Nichols J, Robertson M, Rathjen PD. Differentiation inhibiting activity (DIA/LIF) and mouse development. *Dev Biol*. 1992;151: 339-51.

The background features an abstract graphic composed of several overlapping circles in various shades of blue. Two thin, light blue lines intersect to form an 'X' shape, with the intersection point located near the center of the page. The circles are arranged in a way that some are partially obscured by others, creating a sense of depth and movement. The overall aesthetic is clean and modern.

# **Figuras**

## **Capítulo 4**

**Mecanismos de aumento da  
população celular em lesões  
inflamatórias periapicais**

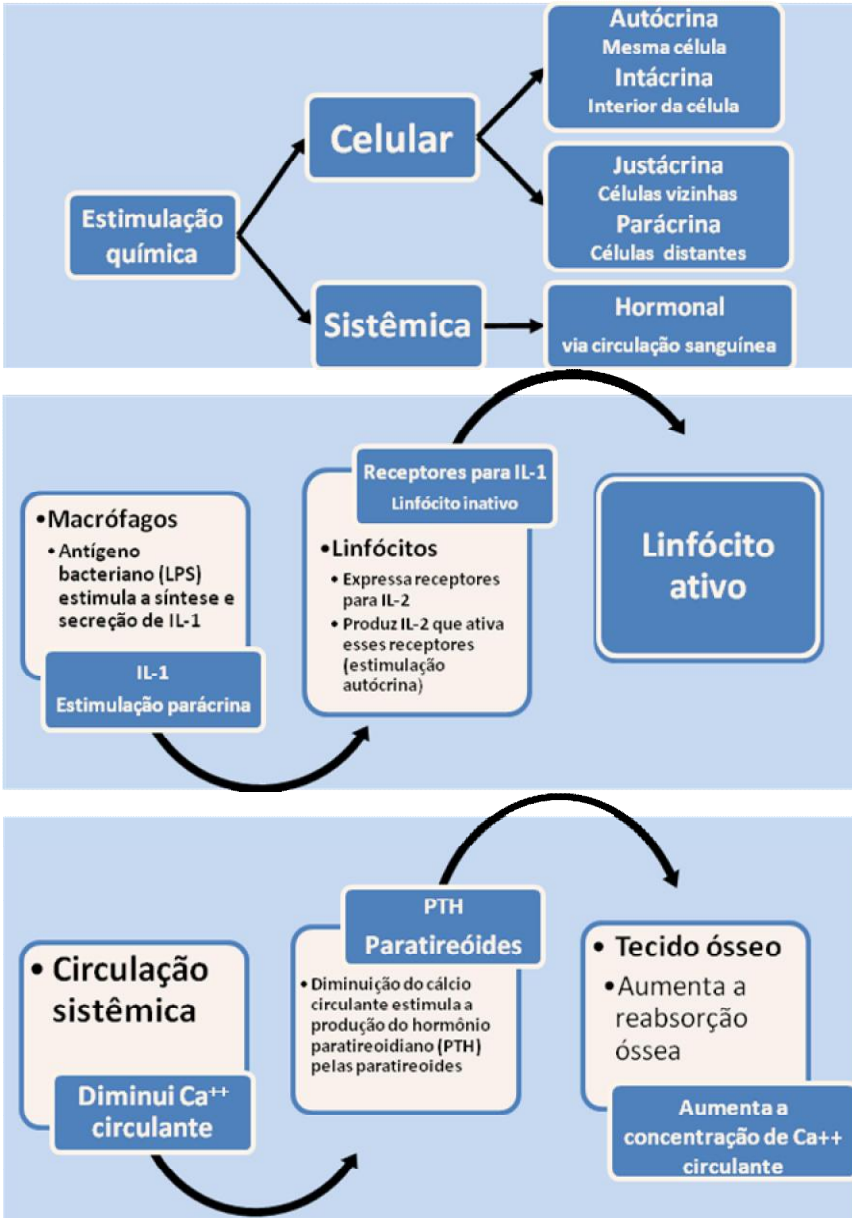


Fig. 1: Principais mecanismos da estimulação química celular.

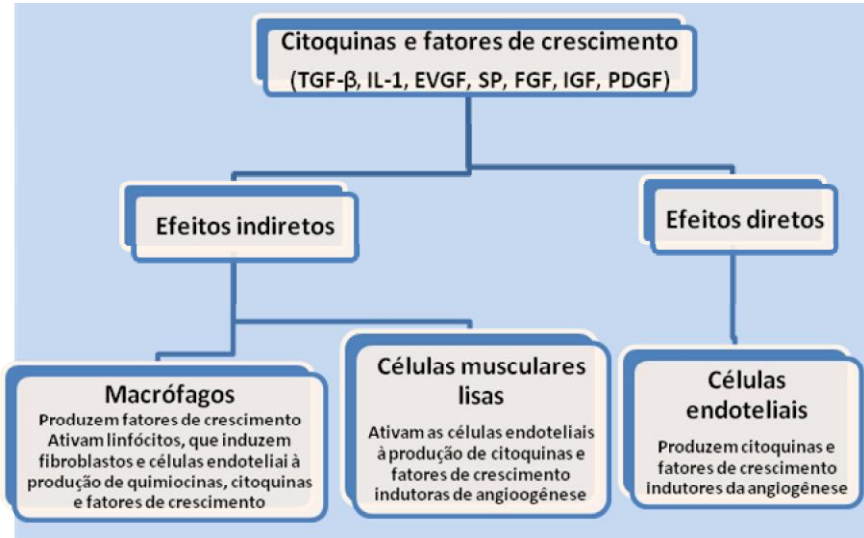


Fig. 2: Mecanismos de estimulação da angiogênese por citocinas e fatores de crescimento.

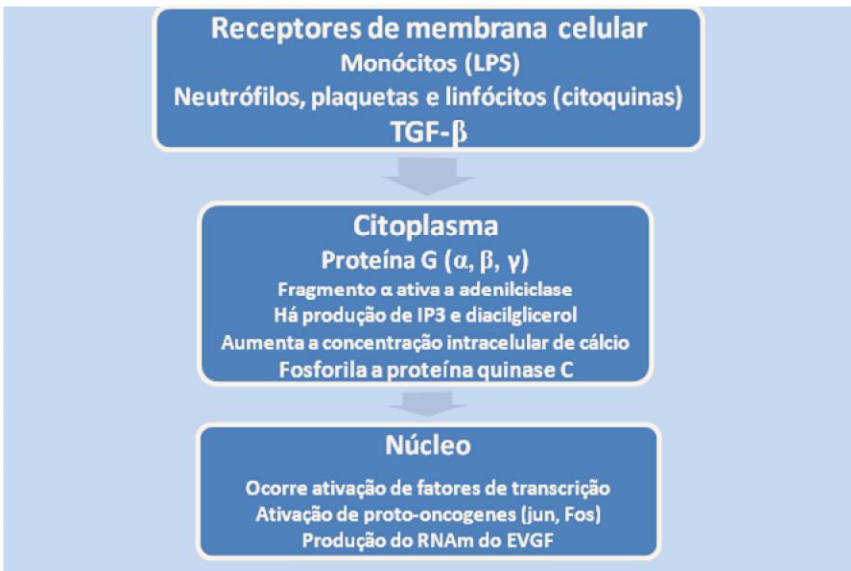


Fig. 3: Estímulo da síntese do VEGF pelo TGF-β.

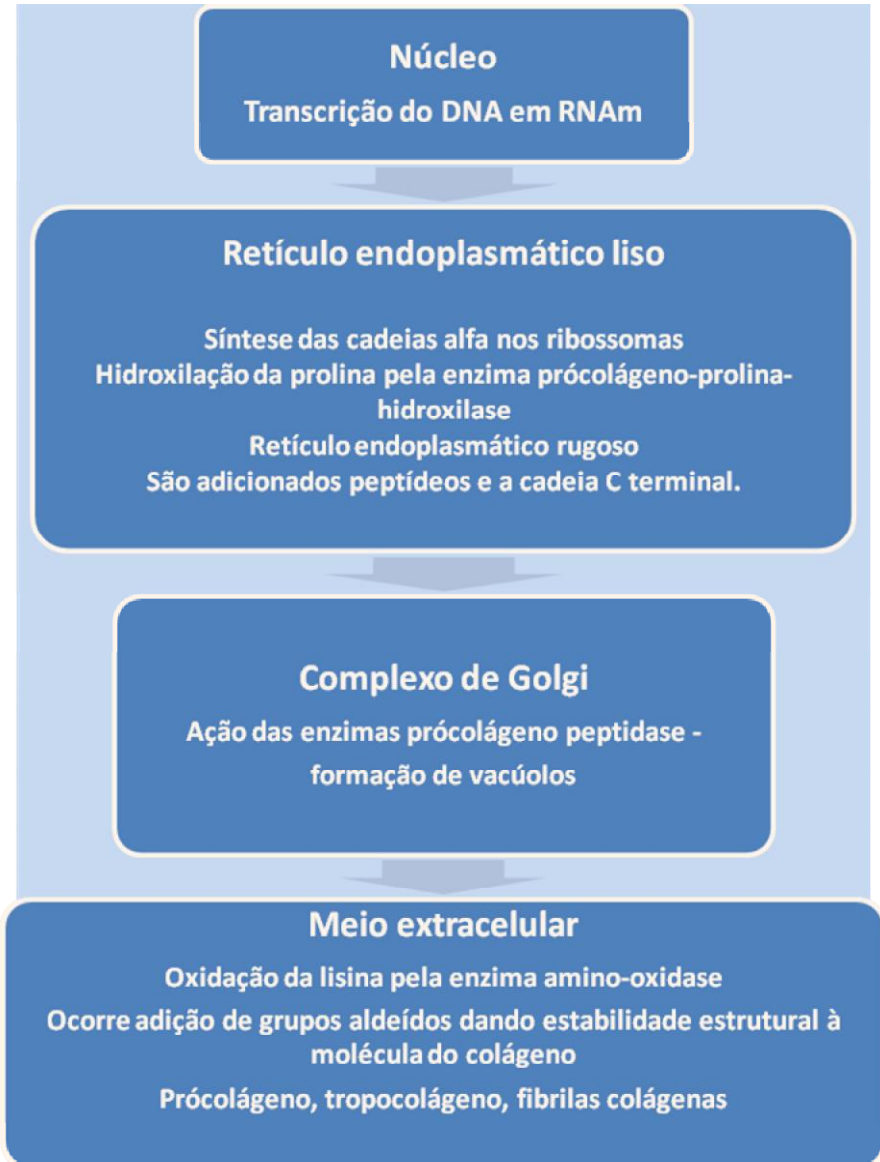


Fig. 4: Principais estágios de formação de fibras colágenas em lesões granulomatosas periapicais.

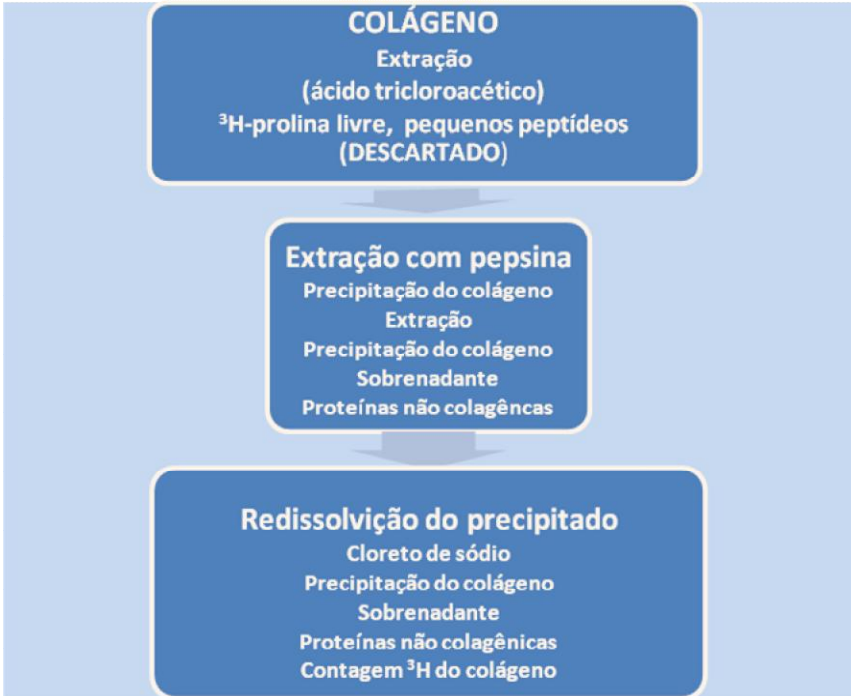


Fig. 5: Avaliação da síntese de fibras colágenas *in vitro*.

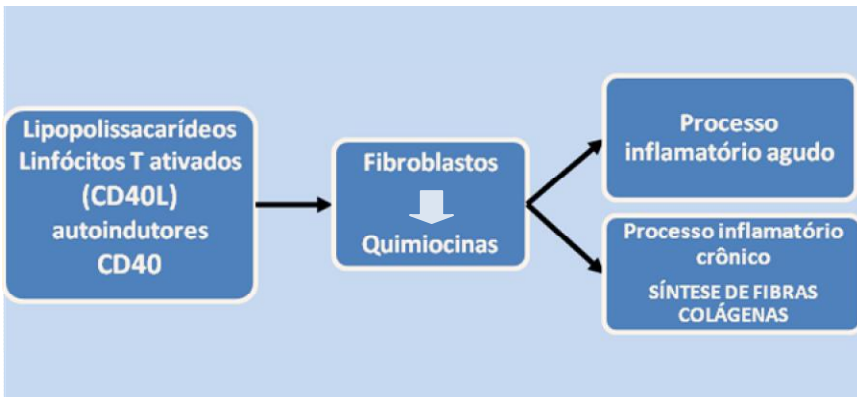
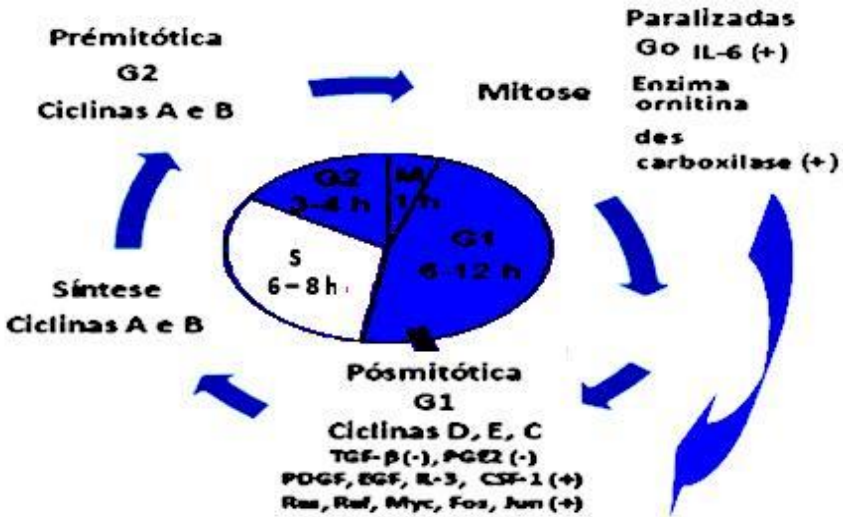


Fig. 6: Mecanismo de ativação dos fibroblastos à produção de fibras colágenas.



## Ciclo Celular

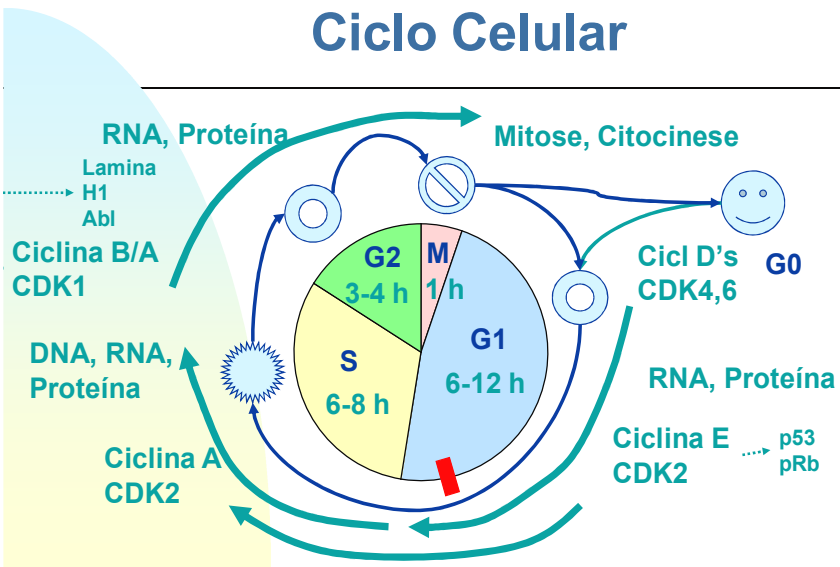


Fig. 7: Mecanismos de estimulação (+) participação das ciclinas e inibição (-) da proliferação celular.

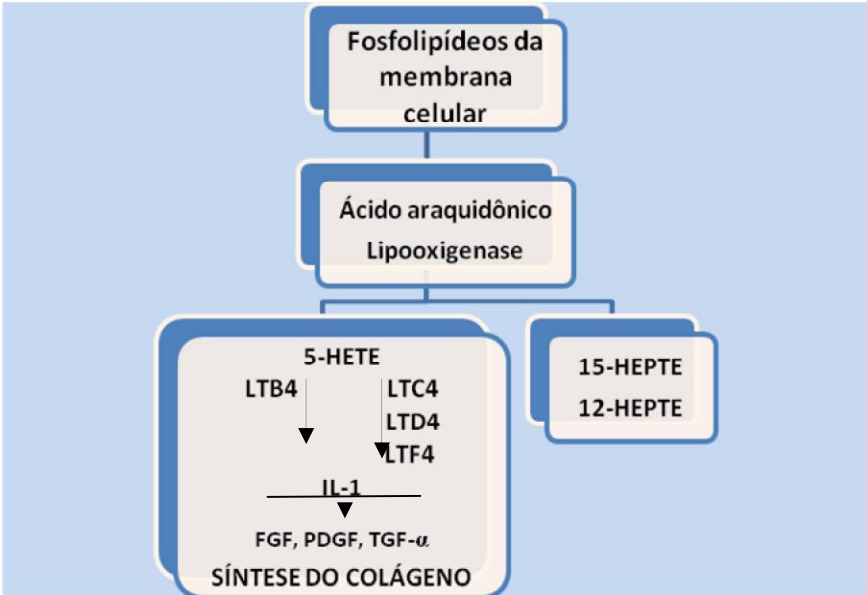


Fig. 8: Efeito da IL-1 na síntese do colágeno induzida por leucotrienos.

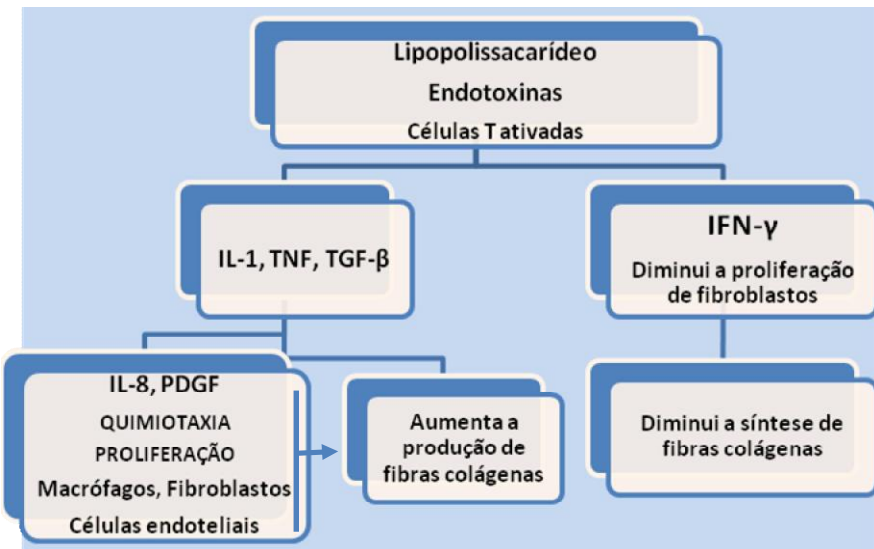


Fig. 9: Mecanismo de estímulo e de inibição da síntese de fibras colágenas via sistema imune.

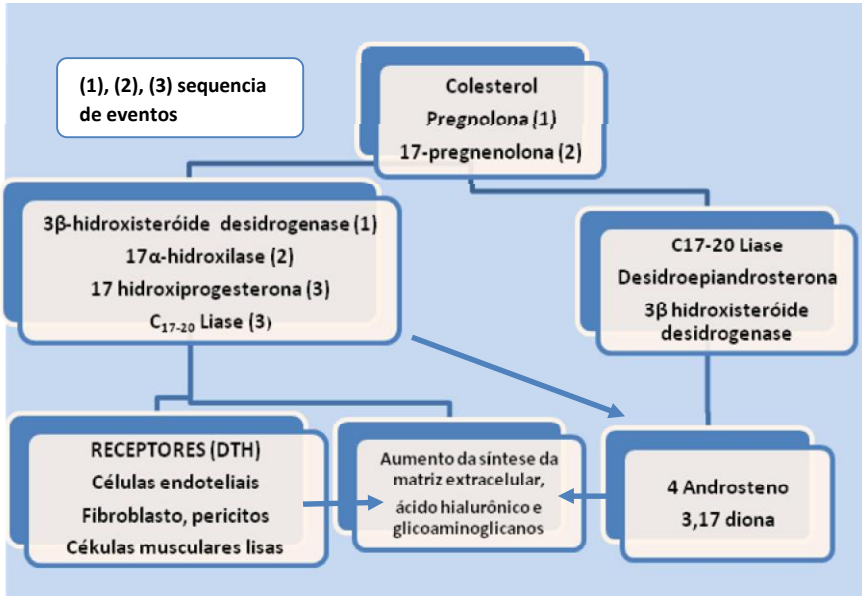


Fig. 10: Síntese de andrógenos e efeitos biológicos.

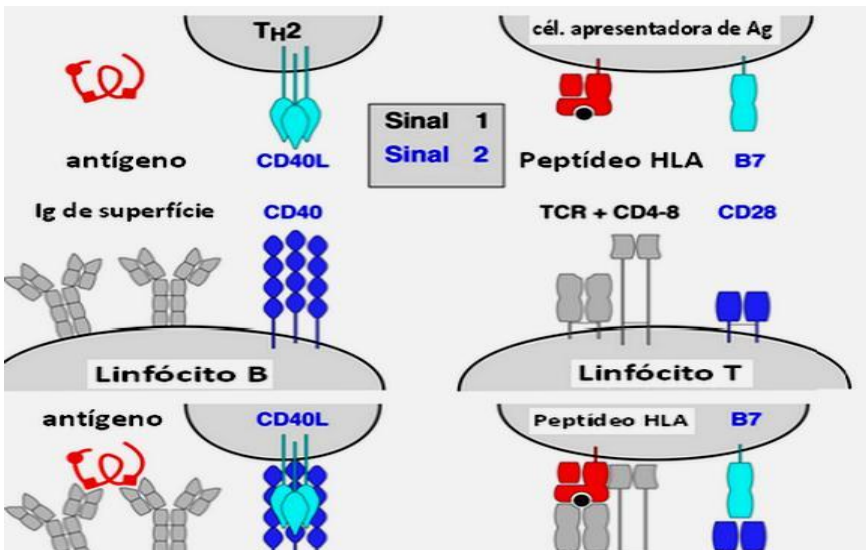


Fig. 11: Ativação das células B e T por ag, CD40L, peptídeo HLA e B7.

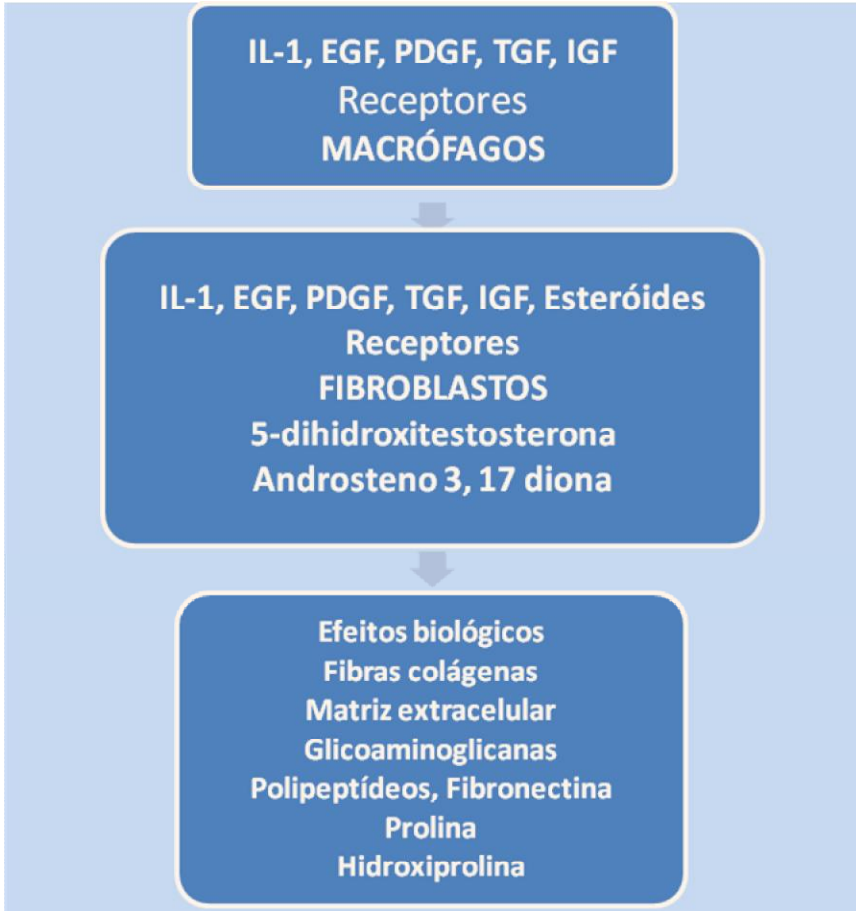


Fig. 12: Estímulo à produção das fibras colágenas e matriz extracelular por fatores de crescimento via estímulo hormonal.

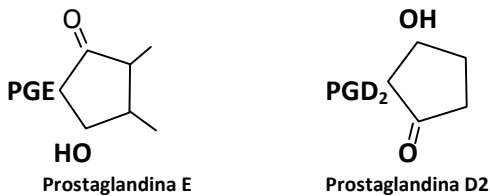


Fig. 13: Anel ciclopentano das prostaglandinas envolvido na inibição do ciclo celular .

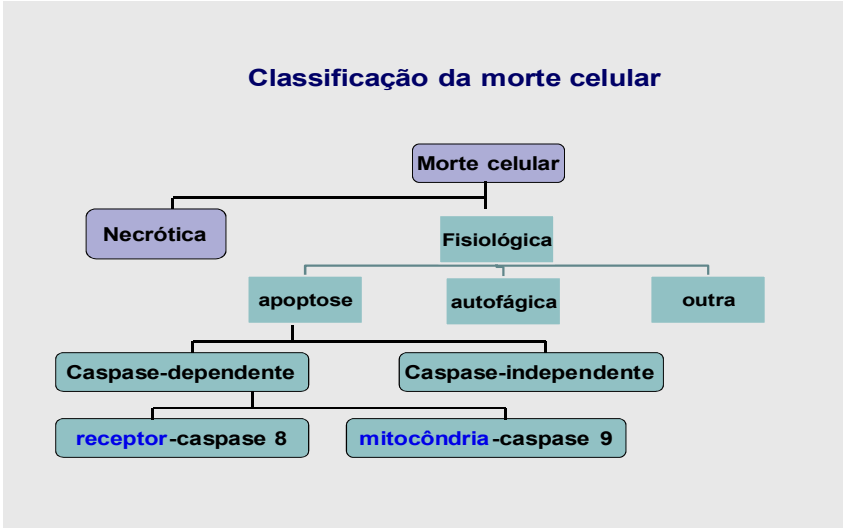


Fig. 14: Mecanismo da morte celular programada (apoptose).

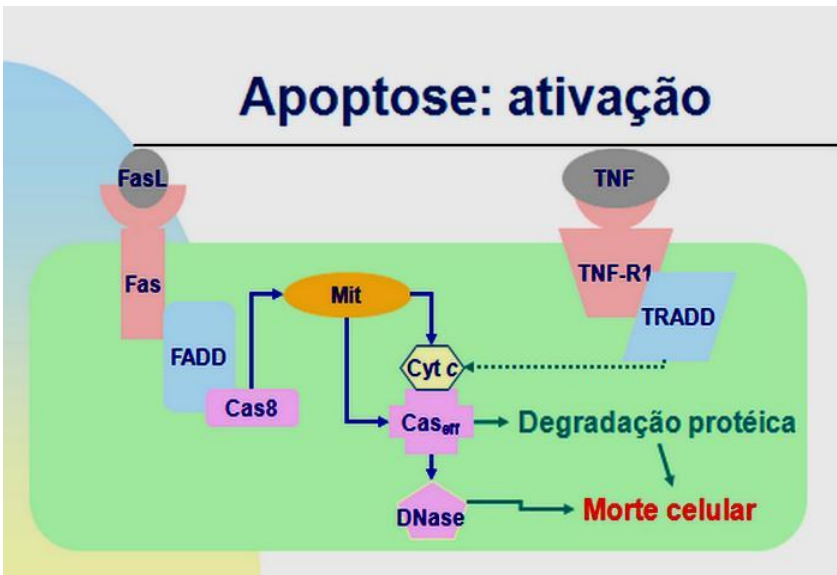


Fig. 15: Mecanismo molecular de ativação da apoptose.

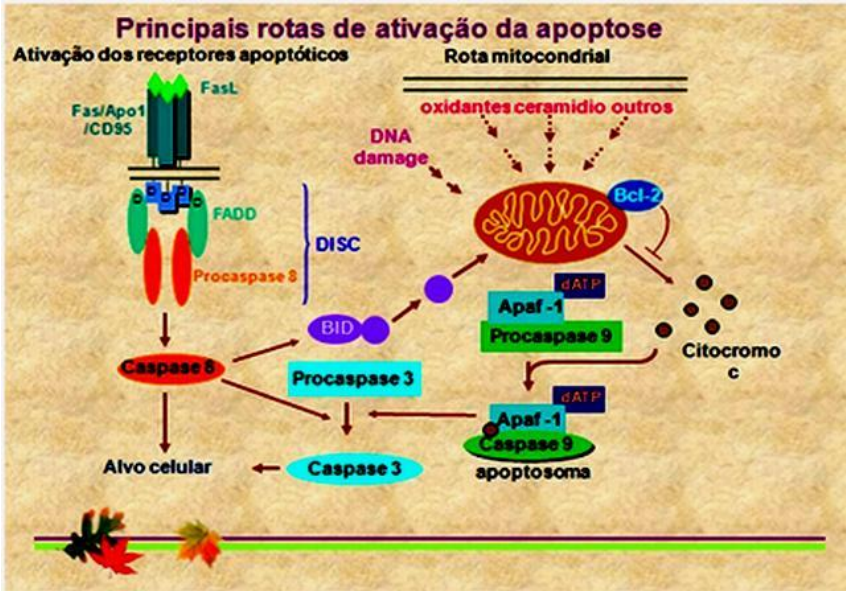


Fig. 16: Rotas de ativação da apoptose.

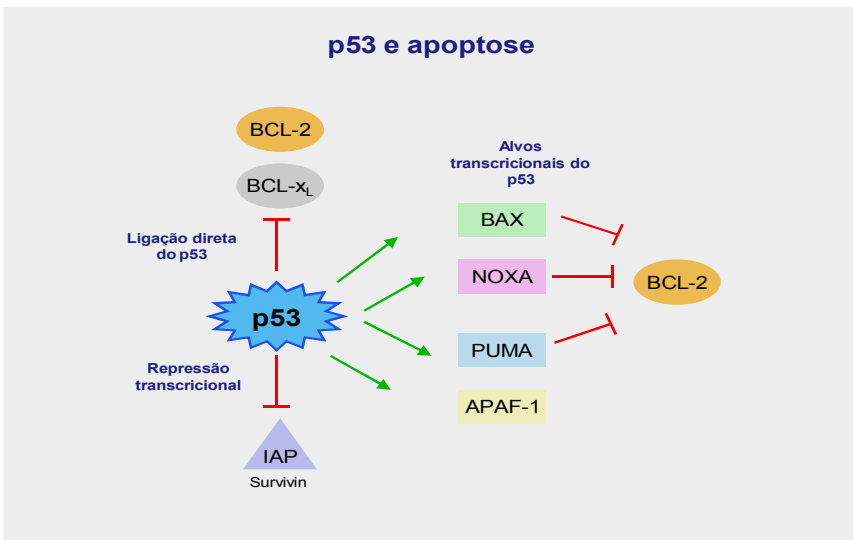


Fig. 17: Mecanismos de ativação da apoptose pelo p53 e de inibição pelo Bcl2.

## Apoptose

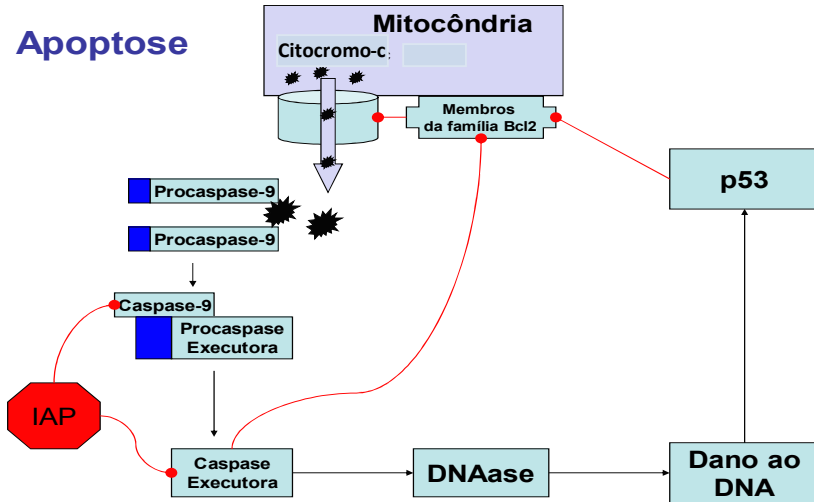


Fig. 18: Apoptose e sua inibição via inibição das caspases por IAP.

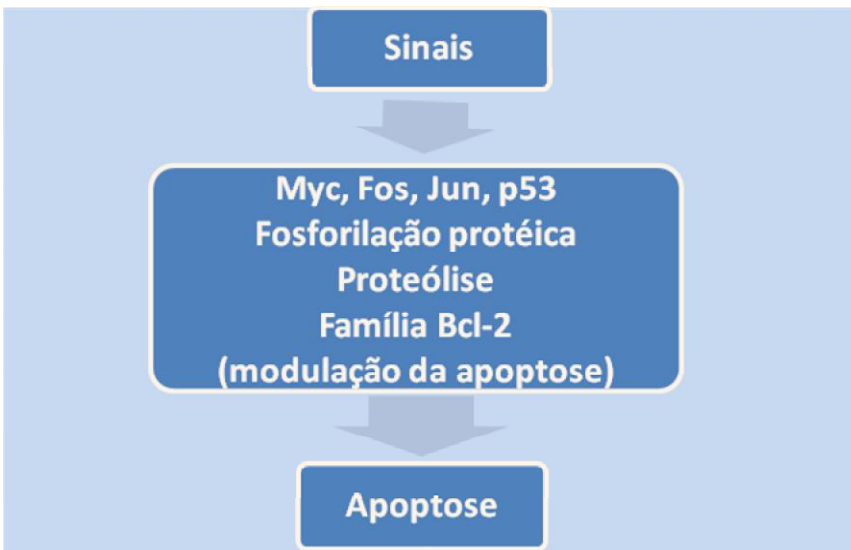


Fig. 19: Mecanismo modulação da apoptose.

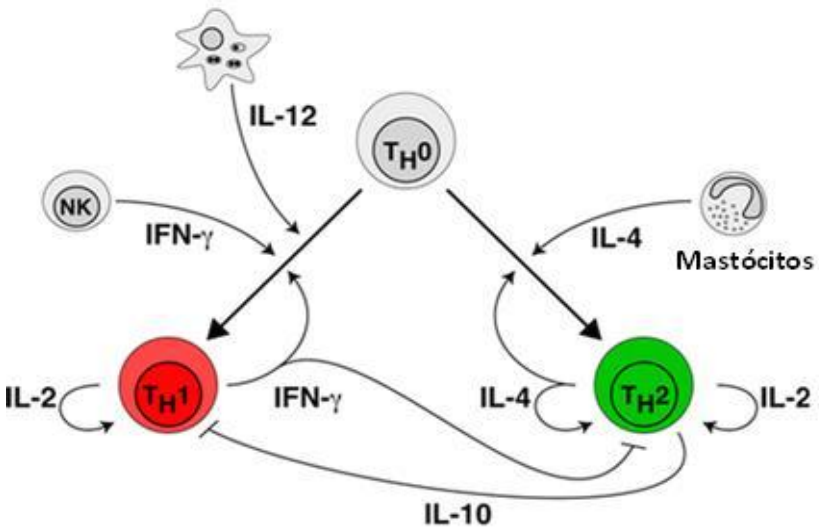
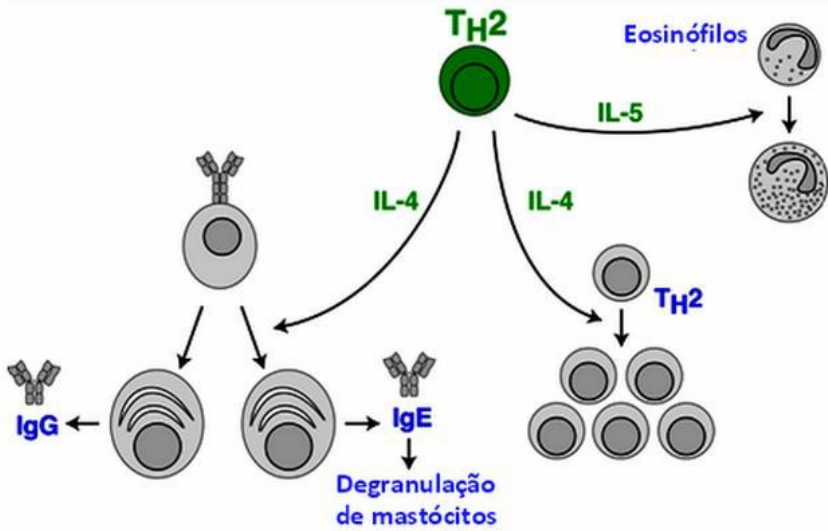


Fig. 20: Citoquinas indutoras e inibidoras da apoptose geradas via mecanismo imune.

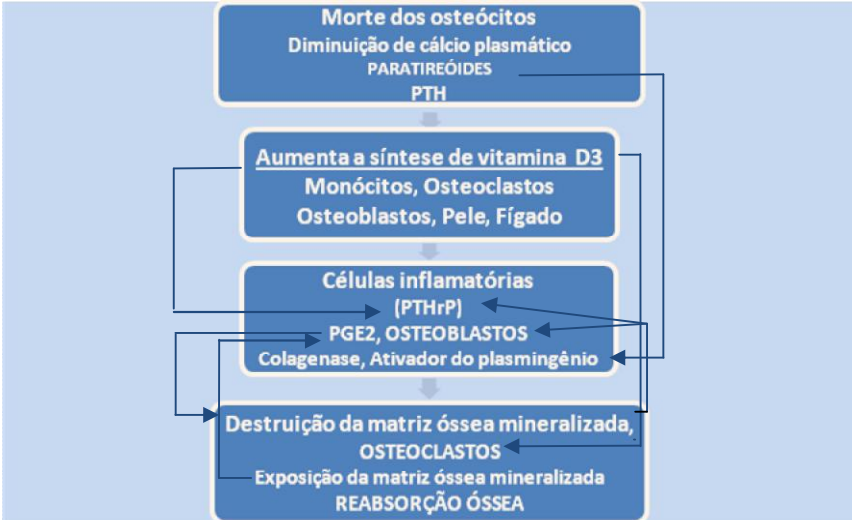


Fig. 21: Possível mecanismo inicial do processo de reabsorção óssea.

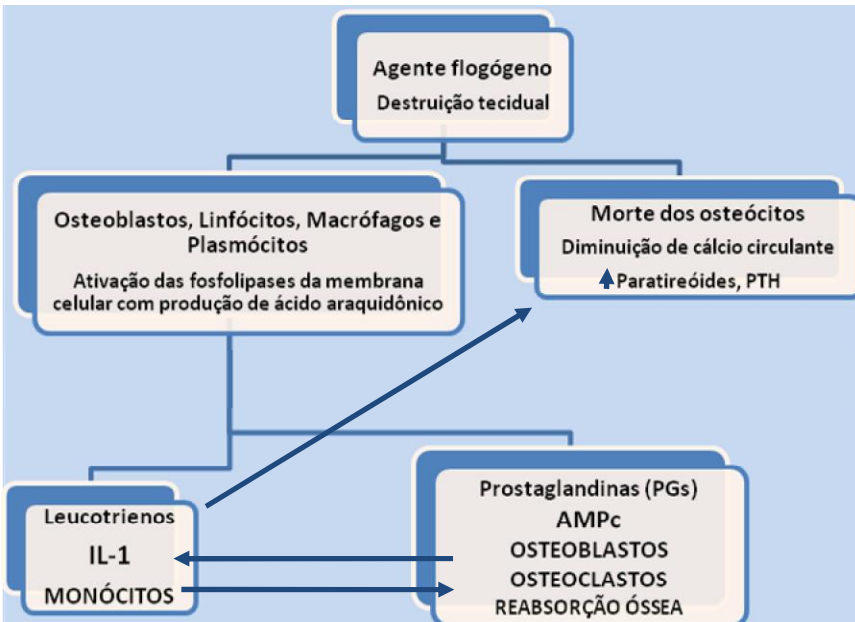


Fig. 22: Estímulo da reabsorção óssea via produção de IL-1.

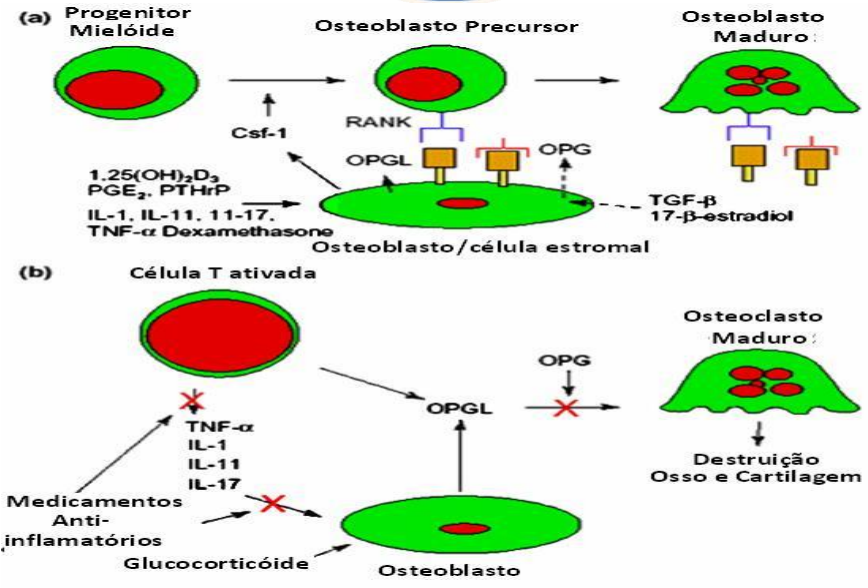
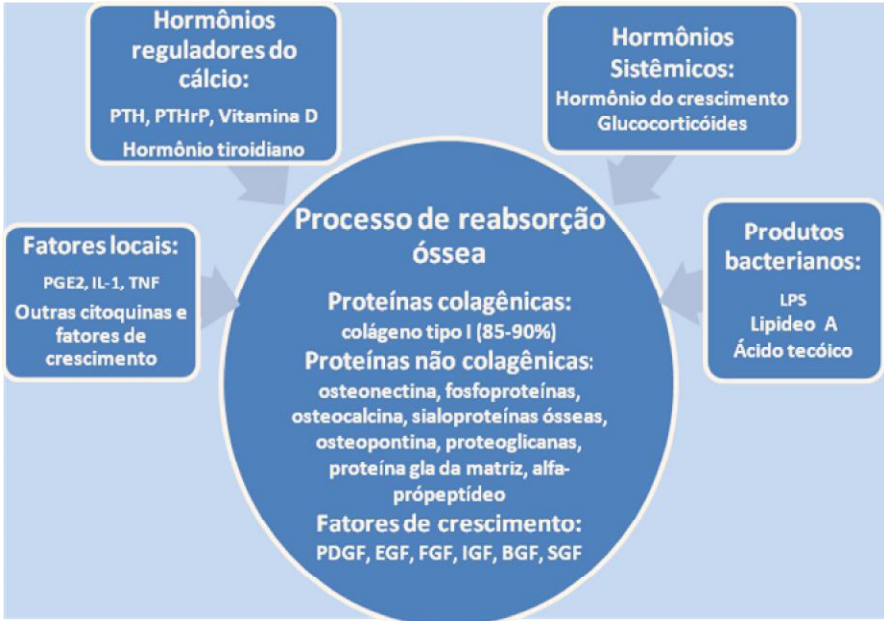


Fig. 23: Fatores de reabsorção óssea e modulação farmacológica.

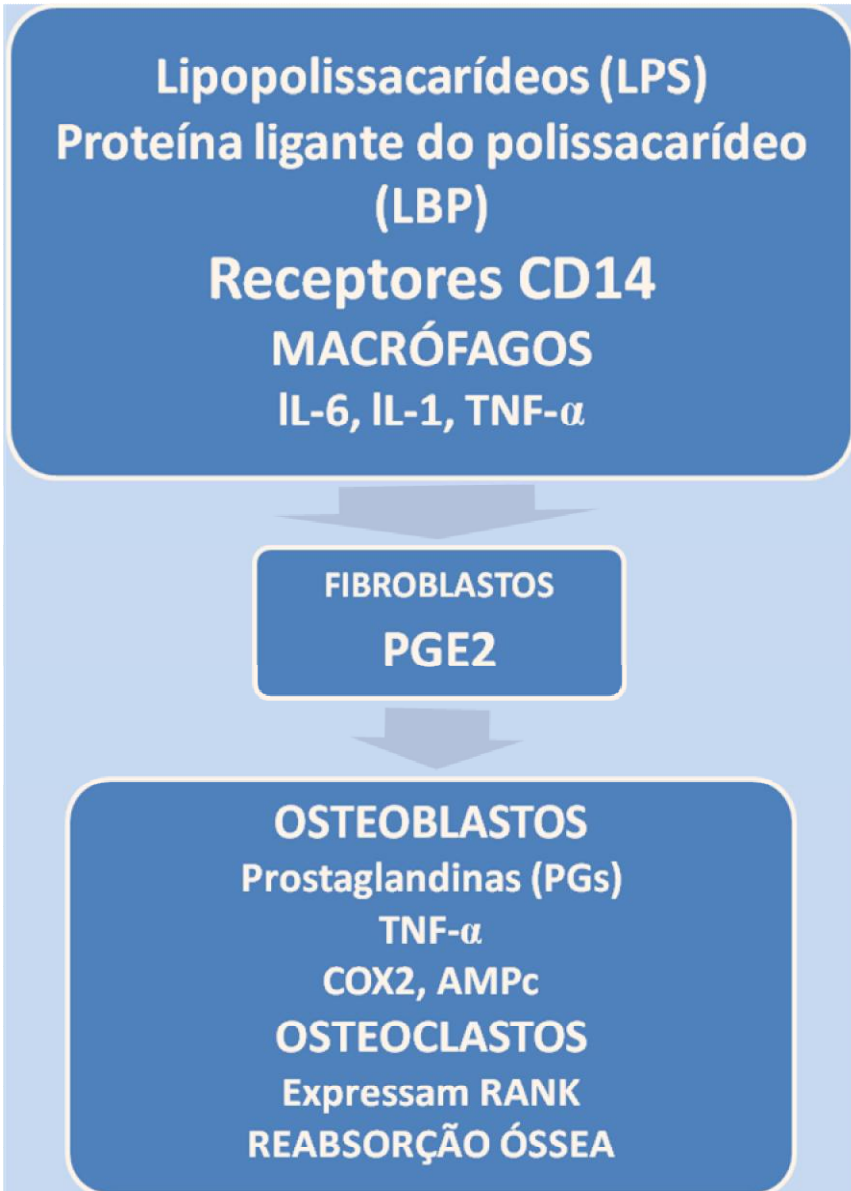


Fig. 24: Ativação dos receptores CD14 em macrófagos gera PGE2 induzindo reabsorção óssea.

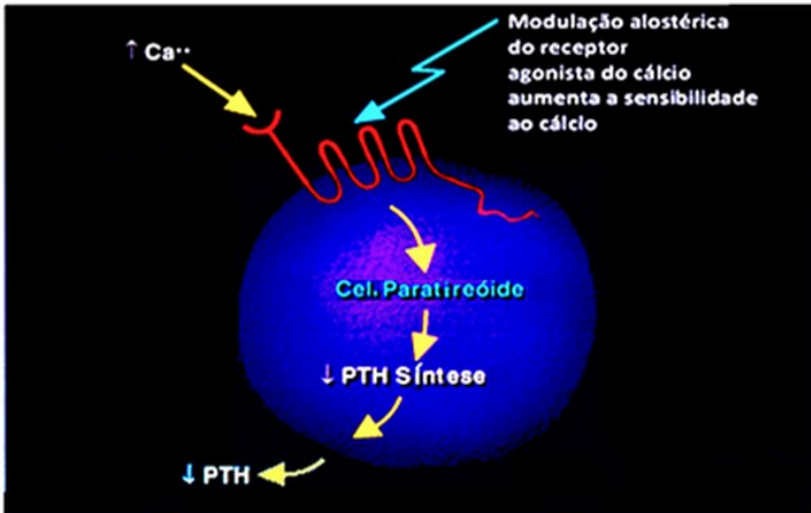
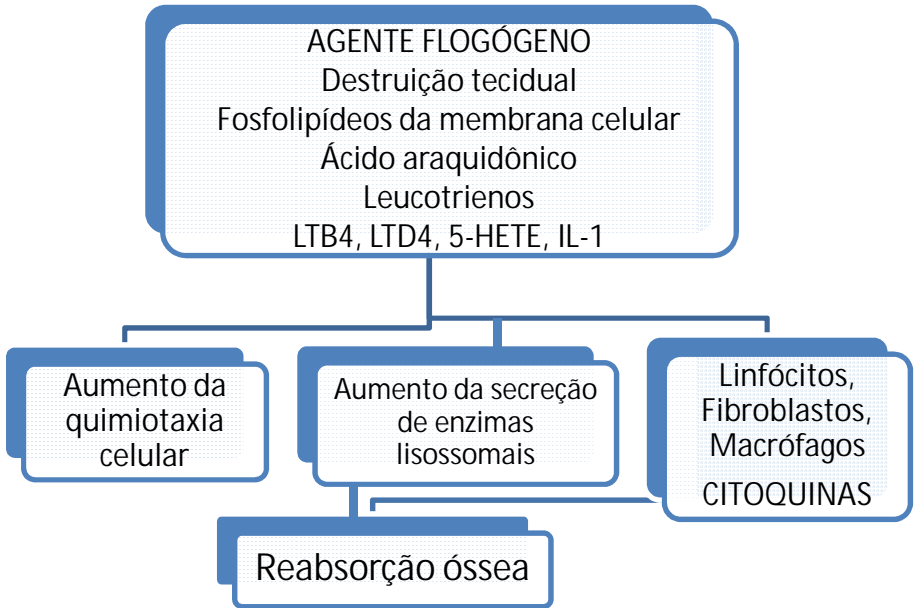


Fig. 25: Estímulo da reabsorção óssea via leucotrienos e regulação da secreção de PTH por  $\text{Ca}^{++}$ .

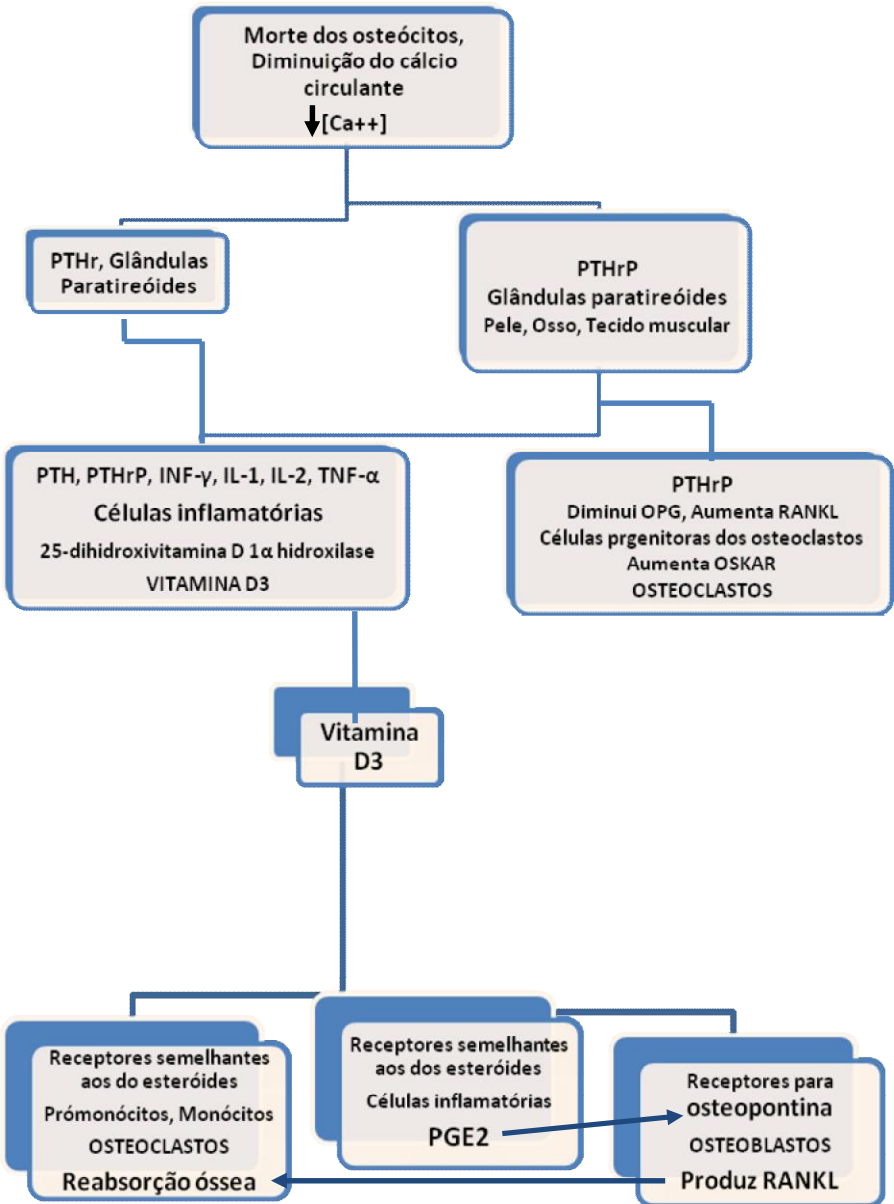


Fig. 26: Mecanismo de ação e efeitos da vitamina D3 estimulada pelo PTHrP, PTH e citocinas próinflamatórias.

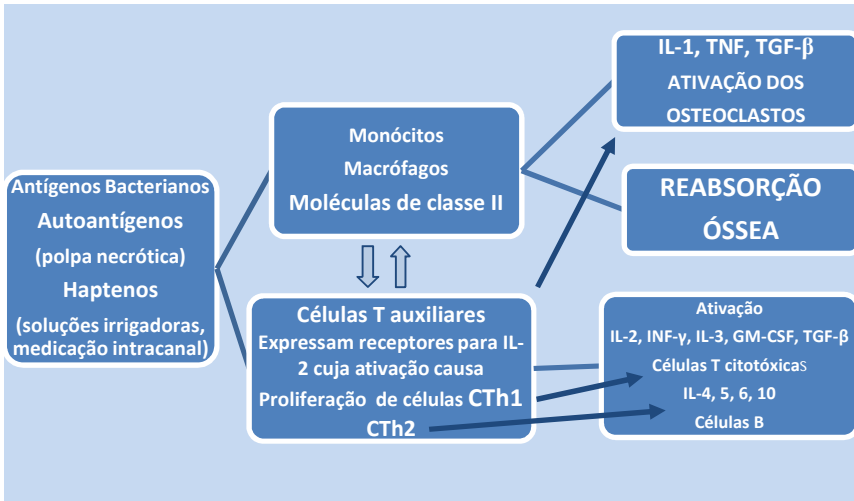


Fig. 27: Mecanismo de ativação dos osteoclastos via sistema imune.

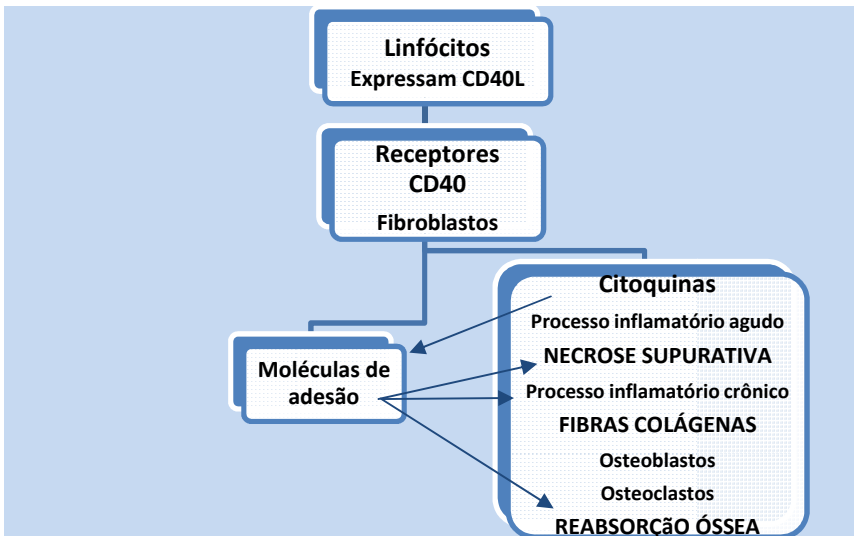


Fig. 28: Relação entre sistema imune e fibroblastos com relação à formação das fibras colágenas no tecido granulomatoso periapical, região central de necrose supurativa e reabsorção óssea

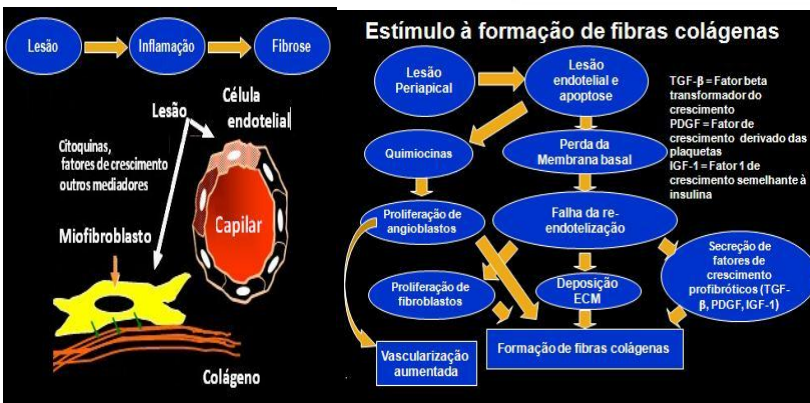
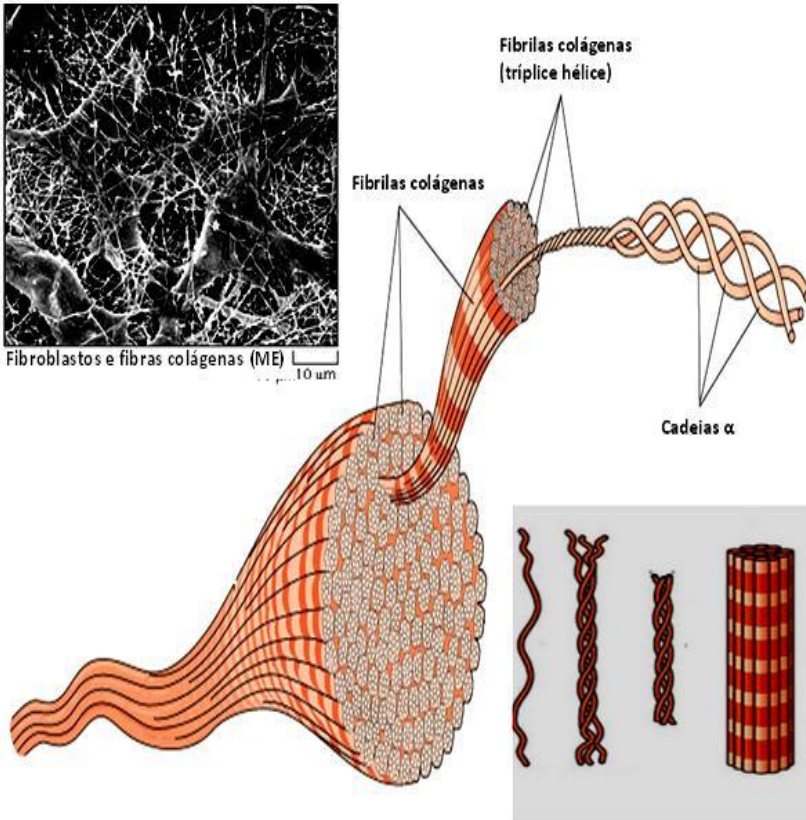


Fig. 29: Fibras colágenas: estrutura, microscopia eletrônica e mecanismo de formação.

## Rota sinalizadora das PGs promove o crescimento celular

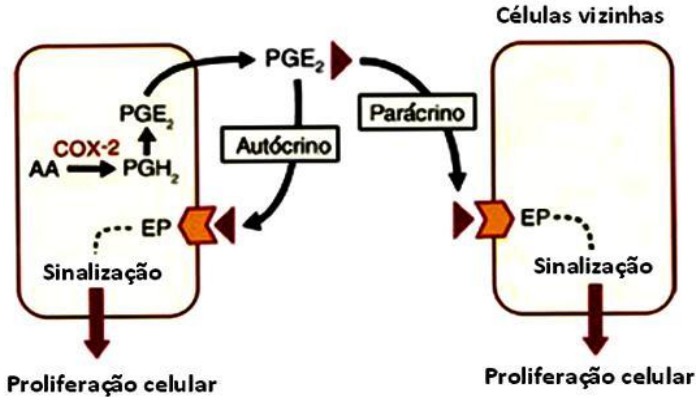


Fig. 30: Efeito autócrino e parácrino da proliferação celular induzida por prostaglandinas.

## Efeitos da PGE<sub>2</sub>

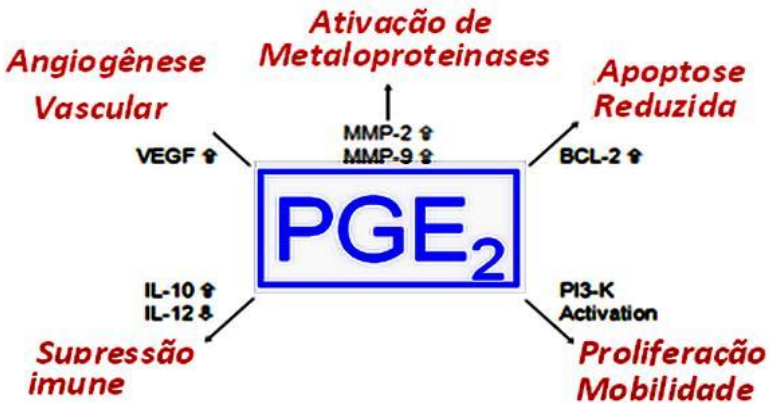


Fig. 31: Efeitos da PGE<sub>2</sub>.

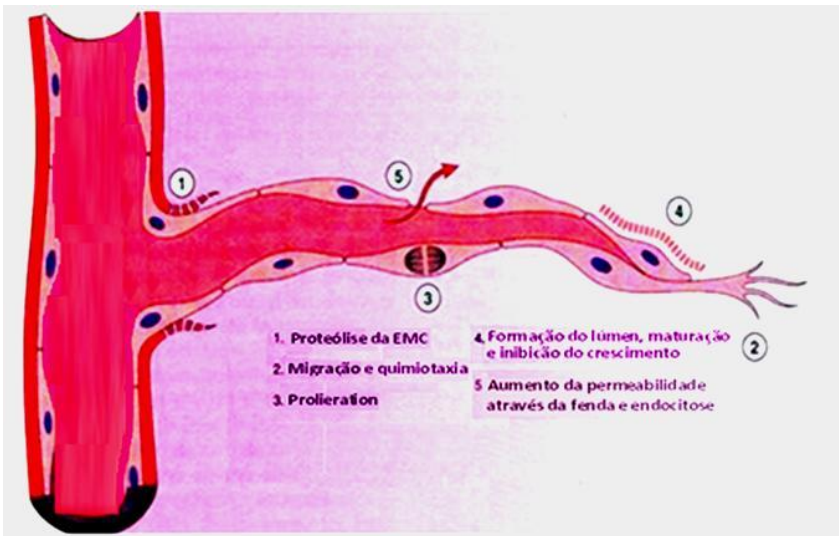
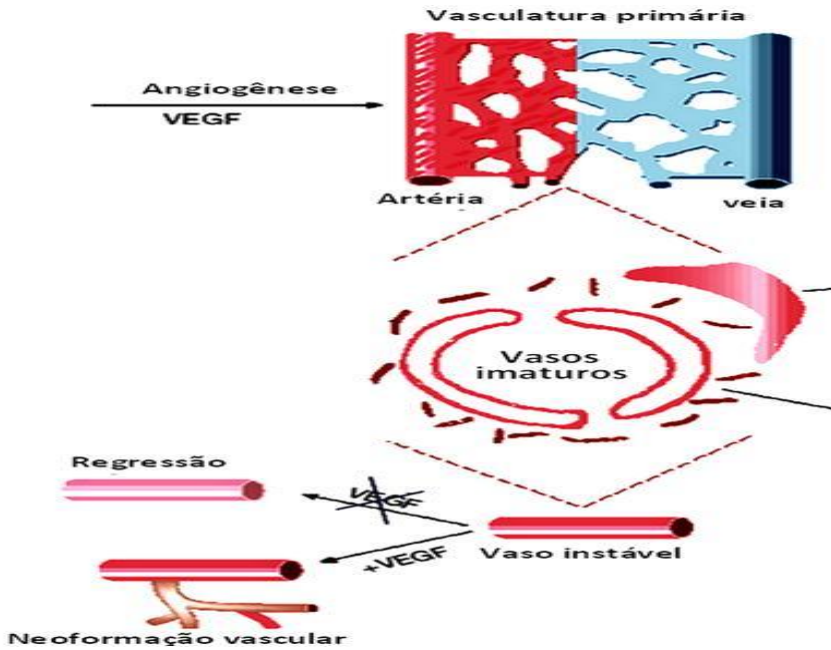


Fig. 32: Angiôgênese.