



TCE/UNICAMP
So89e
FOP

Juliana Pavan Zuliani Trench de Souza

**Efeitos biológicos de baixas doses de radiação ionizante
sobre o processo inflamatório.**

**Monografia apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, da Universidade
Estadual de Campinas, como requisito para
obtenção de título de Especialista em Radiologia
Odontológica.**

Piracicaba

2003

Juliana Pavan Zuliani Trench de Souza

**Efeitos biológicos de baixas doses de radiação ionizante
sobre o processo inflamatório.**

**Monografia apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, da Universidade
Estadual de Campinas, como requisito para
obtenção de título de Especialista em Radiologia
Odontológica.**

Orientador: Prof. Dr. Frab Norberto Bóscolo

254

Piracicaba

2003

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
BIBLIOTECA**

Unidade FOP/UNICAMP
 N. Chamada 2089e
 Vol. Ex.
 Tombo BC/

Unidade - FOP/UNICAMP
 TCE/UNICAMP
 2089e Ed.
 Vol. Ex.
 Tombo 5067
 C D
 Proc. 16P-124/2010
 Preço R\$ 11,00
 Data 20/11/10
 Registro 775341

Ficha Catalográfica

So89e Souza, Juliana Pavan Zuliani Trench de.
 Efeitos biológicos de baixas doses de radiação ionizante sobre o processo inflamatório. / Juliana Pavan Zuliani Trench de Souza. - Piracicaba, SP : [s.n.], 2003.
 42 f.
 Orientadora : Prof. Dr. Prof. Dr. Frab Norberto Boscolo.
 Monografia (Especialização) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.
 1. Inflamação. 2. Radiologia. 4. Radiação – Efeito. I. Boscolo, Frab Norberto. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.

Ao Carlos André,

Pela compreensão e apoio que contribuíram de forma especial para o meu desenvolvimento profissional e pessoal.

E agora, quando realizo o meu sonho e compartilho com você minha alegria,
quero sorrir, chorar, te beijar e dizer que
te amo muito”.

Aos meus pais,

pelo carinho e apoio que sempre me deram.

Aos meus sogros,

Pelo estímulo que para mim representam.

Dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha amiga e orientadora da Pós-graduação,

Catarina,

Pela oportunidade de frequentar o curso de Especialização, compreensão e apoio sempre demonstrado, que contribuíram de forma especial para o meu aprendizado profissional e pessoal.

Ao meu orientador do curso de Especialização,

Frab,

Pela amizade e constante apoio que contribuíram para a realização de um ideal.

Muito obrigado!

AGRADECIMENTOS

Expresso reconhecimento e agradeço a todos aqueles que direta ou indiretamente me ajudaram e colaboraram para a realização deste trabalho e em particular:

Ao *Dr. Francisco Haiter Neto*, pelo exemplo de vida profissional, pela amizade e valiosa colaboração.

A *Dra. Solange Maria de Almeida*, pela amizade e valiosa colaboração.

Ao *Dr. Agenor Montebello Filho*, pela amizade e valiosa colaboração.

Aos meus amigos do laboratório de Farmacologia do Instituto Butantan *Cristina, Renata e Sílvia*, sempre presentes e companheiras, pela enorme disponibilidade e colaboração, e acima de tudo pela amizade e carinho sempre demonstrados.

Aos meus amigos do curso de especialização *Karen, Viviane, Saori, Fátima, Christiane, Márcia, Daniela, Gustavo, Hugo, Saulo e Luciana*, pela convivência neste ano, pela amizade e pelos momentos de alegria que passamos juntos.

Aos funcionários da Disciplina de Radiologia da faculdade de Odontologia de Piracicaba FOP-UNICAMP, sempre solidários diante das dificuldades, pela carinhosa acolhida e importante colaboração na clínica radiológica: *Waldeck, Antonio e Giselda*.

A secretária da Disciplina de Radiologia da faculdade de Odontologia de Piracicaba FOP-UNICAMP *Raquel*, pela amizade e auxílio prestado.

A todos, o meu muito obrigado!

SUMÁRIO

Resumo	1
Abstract	2
Introdução	3
Revisão Bibliográfica	5
Discussão	22
Conclusão	29
Referências Bibliográficas	30

RESUMO

Os malefícios causados por exposições prolongadas ou mesmo pequenas e contínuas exposições de raios X, provocavam nas pessoas expostas uma suave inflamação semelhante à queimadura solar, que desaparecia em pouco tempo. Na época da descoberta dos raios-X, acreditava-se que pequenas exposições aos raios X, um tipo de radiação ionizante, não produzia efeitos danosos, mas mais tarde, foi comprovado que os efeitos eram desastrosos. Atualmente, a radiação ionizante é largamente utilizada na área médico-odontológica, com finalidade terapêutica ou de diagnóstico, uma vez que, baixas doses de radiação ionizante estimulam o processo de reparo e altas doses, retardam este processo. Neste estudo, os autores relataram que a exposição das células a baixas doses de radiação ionizante resulta em uma resposta inflamatória caracterizada pela modulação de moléculas de adesão leucocitária e endotelial, como a E-selectina e a ICAM-1 e modulação da enzima óxido nítrico sintase induzível em macrófagos. Ainda, baixas doses de radiação ionizante são capazes de ativar leucócitos, principalmente macrófagos residentes e levar a produção de citocinas como a IL-1 e a IL-6.

ABSTRACT

The damage caused by prolonged exposition or low and continuous X-ray exposition provokes in persons exposed to radiation a soft inflammation reaction similar to sunburn, but it disappears in a short time. In the century of the X-ray discovery, it believes that low X-ray exposition, a kind of ionizing radiation, did not produce damage effects, but today, it was supported that these effects were very dangerous. Actually the ionizing radiation is used by dentists and physicians with therapeutic and diagnosis purpose. Low dose radiation stimulates repair process and high dose radiation delays this process. In this study, the authors related that low dose radiation cell exposition resulted in an inflammatory reaction characterized by modulation of the leukocyte and endothelial adhesion molecules, like E-selectin and ICAM-1 and modulation of the inducible nitric oxide synthase in macrophages. Moreover, low dose radiation can activate leukocytes, especially resident macrophages, and to produce cytokines like IL-1 and IL-6.

INTRODUÇÃO

Em 1896, quatro meses após W. C. Röntgen ter descoberto um tipo de radiação ionizante, a qual denominou de raios X, o médico J. Daniels, da Universidade de Vanderbilt, notificou a comunidade científica o primeiro efeito biológico da radiação que foi a queda de cabelo de um de seus colegas, que havia sido submetido à radiografia de crânio.

Em 1899, dois médicos suecos conseguiram curar um tumor de pele na ponta do nariz de um paciente, e em 1903 um médico americano obteve a diminuição do baço de um paciente com leucemia.

O uso dos raios-X na terapia estava, entretanto, produzindo resultados desagradáveis. Eritema de pele e a seguir ulcerações se desenvolveram nas mãos dos médicos e em alguns casos, câncer dos ossos, como resultado das exposições durante o tratamento dos pacientes.

Desde então não só os benefícios trazidos pela radiação, mas também seus efeitos danosos têm interessado os cientistas de todo o mundo.

Os raios X, descobertos a mais de cem anos, começaram a preocupar seus usuários, a partir do momento que surgiram problemas deletérios nos profissionais que trabalhavam com este tipo de radiação ou com materiais radioativos.

Por desconhecerem os malefícios causados por exposições prolongadas ou mesmo pequenas e contínuas exposições de raios X, os pesquisadores da época notaram que os indivíduos que sofriam longas exposições exibiam uma suave inflamação semelhante à queimadura solar e que estes efeitos desapareciam em pouco tempo. Esses pesquisadores acreditavam que pequenas exposições aos raios X não

produziriam efeitos danosos, mas mais tarde, ficou comprovado que os efeitos eram desastrosos.

Uma vez que a radiação ionizante, principalmente a radiação eletromagnética e em particular a radiação X é largamente utilizada na área médico-odontológica, é de fundamental importância a compreensão da utilização deste tipo de radiação com finalidade terapêutica ou de diagnóstico, através do entendimento dos mecanismos biológicos pró-inflamatórios que ocorrem nos tecidos vivos tendo como resultado a reparação tecidual.

Os estudos dos mecanismos básicos da radiobiologia permitem análises microscópicas do que ocorre com a passagem da radiação e a liberação de energia em (volumes muito pequenos) intensidades variáveis em células ou tecidos e órgãos. A energia transferida do fóton para o meio pode produzir ionização e excitação dos átomos e quebra de moléculas e, como consequência, formação de íons e radicais livres altamente reativos. Estes, por sua vez, podem atacar moléculas de grande importância como a molécula de DNA, causando-lhe danos. A destruição de uma molécula de DNA resulta em uma célula capaz de continuar vivendo, mas incapaz de se dividir. Assim, a célula acaba morrendo e não sendo renovada ou dividindo – se de forma incorreta produzindo desta forma as células neoplásicas. Se isso ocorrer teremos a necrose do tecido ou do órgão, ou ainda o aparecimento de tumores.

Estudos consideram ainda que baixas doses de radiação X estimulam o processo de reparo e que, altas doses de radiação sobre os tecidos retardam este processo, é, portanto de grande importância o estudo dos efeitos da radiação X sobre os tecidos, especialmente sobre o contingente celular, no que diz respeito à resposta inflamatória.

REVISÃO DA LITERATURA

Durante a consulta à literatura disponível foi possível constatar que o efeito da radiação X sobre os tecidos e especialmente sobre o contingente celular varia conforme diferentes fatores tais como o tipo de radiação e a dose empregada. Frente à literatura encontrada, foi possível constatar também que poucos foram os estudos sobre a radiação ionizante na resposta inflamatória aguda. Entretanto, cabe aqui revisar algumas considerações gerais sobre a reação inflamatória aguda.

A reação inflamatória é uma resposta do tecido vascularizado a estímulos lesivos (físicos, químicos ou mecânicos) com a finalidade de eliminar o agente agressor e restaurar o tecido à sua forma e função normais. Essa resposta, apesar de complexa, manifesta-se de maneira estereotipada e compreende fenômenos vasculares, teciduais e linfáticos (GARCIA LEME, 1989).

A natureza sensivelmente padronizada da reação: rubor, tumor, calor e dor é a expressão de fenômenos estruturais e funcionais que ocorrem na microcirculação e no tecido intersticial adjacente, com a participação da inervação sensitiva local. Esses fenômenos decorrem, em grande parte, da ação de mediadores de origem plasmática ou celular, os quais podem ser pré-formados ou armazenados em grânulos ou recém-sintetizados, que são liberados no decorrer da resposta inflamatória (GARCIA LEME, 1989; BUCKLEY & BRAIN, 1994).

Os fenômenos vasculares ocorrem principalmente na rede microcirculatória e iniciam-se com breve vasoconstrição, seguida de vasodilatação e aumento do fluxo local, seguido de aumento de permeabilidade vascular (PV), com conseqüente extravasamento do fluido e material protéico, do plasma para o interstício, levando à formação do edema (GARCIA LEME *et al.*, 1973).

A exsudação plasmática pode ocorrer por diversos mecanismos. Um deles é a formação de fendas no endotélio, mediada pela ativação de receptores de vários mediadores inflamatórios tais como a histamina, serotonina, leucotrienos e substância P. As fendas formadas são intercelulares e próximas às junções. O aumento da permeabilidade vascular, neste caso, ocorre rapidamente, é reversível e de curta duração (15-30 minutos). Outro mecanismo que pode levar à formação de fendas no endotélio é a reorganização do citoesqueleto. Este processo é, geralmente, induzido por citocinas como a interleucina 1 (IL-1), o fator de necrose tumoral (TNF) e o interferon- γ (IFN- γ). Em contraste ao efeito causado pela histamina, este processo aparece tardiamente e é de longa duração. A exsudação plasmática pode, ainda, ocorrer por transcitose de moléculas através do citoplasma das células endoteliais. Tal processo ocorre próximo a canais, localizados ao redor das junções intercelulares (LUM & MALIK, 1996).

O aumento de PV pode ocorrer também por injúria direta sobre as células endoteliais; aparece imediatamente após a lesão e é sustentado por várias horas. Por fim, pode haver aumento de PV por injúria endotelial induzida por leucócitos ativados, que aderem ao endotélio e liberam espécies reativas de oxigênio e enzimas proteolíticas (LUM & MALIK, 1996).

O componente celular da reação é representado, principalmente, pela migração de leucócitos polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e mononucleares (monócitos e linfócitos) para o tecido adjacente. A migração de leucócitos circulantes para o tecido é um evento central da resposta inflamatória. Este evento ocorre principalmente na porção venular da microcirculação, particularmente em vênulas pós-capilares.

Os leucócitos, em condições normais, circulam na região central do vaso e os eritrócitos na região periférica. Frente a um estímulo, ocorre agregação dos eritrócitos

que passam a deslocar os leucócitos para a periferia do vaso (PEARSON & LIPOWSKY, 2000), num processo denominado de marginação leucocitária. Com o progresso da reação inflamatória, há um aumento de contato com interação adesiva, de baixa afinidade, entre os leucócitos e as células endoteliais, fazendo com que os leucócitos exerçam um movimento rotacional em torno de seu próprio eixo, em processo denominado "rolling" (DAMIANO *et al.*, 1996). Este processo favorece um aumento de contato entre os leucócitos e o endotélio que, de modo progressivo, tornam-se mais fortemente aderidos entre si. Os leucócitos, então, migram para o exterior e locomovem-se, de modo orientado, em resposta a um gradiente de concentração de mediadores inflamatórios, acumulando-se no local de lesão. A ação dos mediadores inflamatórios que induzem alterações hemodinâmicas e a expressão de receptores glicoproteicos na membrana de leucócitos e da célula endotelial - denominados moléculas de adesão - acarretam o fenômeno da migração leucocitária (GARCIA LEME, 1989; GRANGER & KUBES, 1994).

Até o presente, várias famílias de moléculas de adesão foram caracterizadas e classificadas de acordo com suas propriedades bioquímicas e bases moleculares. Três destas famílias foram mais estudadas: a das selectinas, a das integrinas e a superfamília das imunoglobulinas (SPRINGER, 1994).

As selectinas compreendem uma família de moléculas semelhantes à lectina; são expressas tanto por leucócitos quanto pelo endotélio e medeiam, principalmente, o comportamento "rolling" dos leucócitos. Três moléculas principais fazem parte desta família e são denominadas de P, E e L-selectinas. Todos os membros desta família contêm um domínio amino-terminal semelhante à lectina, seguido por um domínio análogo ao fator de crescimento epidérmico, um número variável de unidades homólogas à proteínas regulatórias do sistema complemento, um domínio transmembrânico e um domínio citoplasmático (HOGG, 1992; LASKY, 1995). A P-

selectina (CD62P) está envolvida nos eventos iniciais de adesão dos leucócitos e encontra-se estocada nos corpúsculos de Weibel-Palade em células endoteliais e nos grânulos alfa de plaquetas; é transportada rapidamente para a superfície celular após a estimulação por mediadores inflamatórios (IL-1 e TNF- α) e, logo em seguida, é reinternalizada, resultando em uma expressão passageira (EBNET & VESTWEBER, 1999). A P-selectina liga-se a carboidratos sialilados (sialil Lewis), encontrados em glicolipídios e glicoproteínas da membrana de leucócitos e do endotélio ativado e também à L-selectina (PANÉS *et al.*, 1999). Já a E-selectina (CD62E), não é expressa constitutivamente na célula endotelial, necessitando de síntese protéica para a sua expressão, que pode ser induzida por citocinas como a IL-1 e o TNF- α , sustentando o fenômeno de "rolling", por um período mais prolongado; liga-se à L-selectina (BEEKHUIZEN & VAN FURTH, 1993; VESTWEBER & BLANKS, 1999).

A L-selectina ou LECAM-1 (CD62L) é expressa constitutivamente na superfície dos leucócitos e, após ativação, por mediadores inflamatórios é clivada da superfície celular permitindo que o leucócito role pela superfície da célula endotelial (BEVILACQUA & NELSON, 1993). Da mesma forma que a P-selectina, esta molécula liga-se a carboidratos sialilados (sialil Lewis) e também liga-se às E e P-selectinas (ALBELDA *et al.*, 1994; VESTWEBER & BLANKS, 1999). O "rolling" dos leucócitos precede a firme adesão, dada pelas integrinas e superfamília das imunoglobulinas e conseqüente transmigração dos leucócitos por entre as junções das células endoteliais (ADAMS & SHAW, 1994).

Outra importante família de moléculas de adesão é a das integrinas. São proteínas heterodiméricas, compostas por duas subunidades ou cadeias denominadas alfa (α) e beta (β), ligadas de forma não-covalente. Cada subunidade apresenta um domínio extracelular, globular e volumoso, um segmento transmembrânico e pequena projeção intracelular (HYNES, 1992). Estas glicoproteínas estão expressas na superfície

de leucócitos e determinam principalmente a adesão destas células ao endotélio. As integrinas envolvidas na adesão leucocitária pertencem às subfamílias $\beta 1$, $\beta 2$ e $\beta 7$. Os membros da subfamília $\beta 2$ contêm quatro cadeias α diferentes, denominadas CD11a, CD11b, CD11c e CD11d, que estão acopladas a uma cadeia β comum, a CD18 (HENRICKS & NIJKAMP, 1998).

O heterodímero CD11a/CD18 ou LFA-1 está expresso constitutivamente na superfície de leucócitos e interage com a ICAM-1, a ICAM-2 e a ICAM-3, moléculas de adesão da superfamília das imunoglobulinas, expressas na célula endotelial, levando à firme adesão do leucócito e favorecendo o processo de transmigração (HUBBARD & ROTHLEIN, 2000). Os heterodímeros CD11b/CD18 (MAC-1) e CD11c/CD18 (p 150,95), expressos por leucócitos, são estocados em grânulos e requerem ativação leucocitária para a sua mobilização para a superfície celular e fusão à membrana celular (PANÉS & GRANGER, 1998). Os ligantes para CD11b/CD18 são as ICAM-1, ICAM-2 e ICAM-3 do endotélio (ZIMMERMAN *et al.*, 1992). No entanto, os ligantes para CD11c/CD18 ainda não foram caracterizados. Recentemente, foi descoberto o heterodímero CD11d/CD18, porém a sua participação no recrutamento leucocitário ainda permanece incerta (DANILENKO *et al.*, 1995).

A superfamília das imunoglobulinas abrange um grupo de moléculas de adesão caracterizadas pela presença de duas ou mais unidades semelhantes às imunoglobulinas G (IgG), no domínio extracelular, seguido pelo domínio transmembrânico e por uma pequena seqüência citoplasmática (BEEKHUIZEN & VAN FURTH, 1993). As ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, VCAM-1 e PECAM-1 são algumas moléculas de adesão pertencentes a esta família e medeiam, principalmente, a adesão do leucócito ao endotélio e a transmigração destas células através das células endoteliais.

A ICAM-1 (CD54) é normalmente encontrada na superfície das células endoteliais, de alguns linfócitos e monócitos e liga-se à CD11a/CD18 (LFA-1) e CD11b/CD18 (MAC-1) em leucócitos. Algumas citocinas como a IL-1 e o TNF- α induzem o aumento da expressão desta molécula de adesão (HUBBARD & ROTHLEIN, 2000). A ICAM-2 (CD102) e a ICAM-3 (CD50) está expressa constitutivamente na superfície do endotélio, liga-se à CD11a/CD18 (LFA-1) e à CD11b/CD18 (MAC-1), mas com baixa afinidade (HOGG, 1992; PANÉS & GRANGER, 1998). A VCAM-1 (CD106), molécula de adesão que interage com as cadeias β 1 e β 7 das integrinas, em leucócitos, está expressa constitutivamente nas células endoteliais e determina, principalmente, a firme adesão e subsequente transmigração dos leucócitos (LI *et al.*, 1998; PANÉS *et al.*, 1999). Por outro lado, a PECAM-1 (CD31) está expressa na superfície de plaquetas e de leucócitos e favorece, principalmente, a transmigração (SANS *et al.*, 2001).

Os fenômenos de marginação leucocitária e atividades locomotoras permitem que o leucócito alcance o foco de lesão para posterior destruição do agente injuriante. A eliminação do agente lesivo, presente no foco inflamatório, ocorre por meio de fagocitose, realizada pelos neutrófilos e macrófagos e produção de agentes microbicidas por estas células. A fagocitose é um processo dinâmico, desencadeado após a interação do substrato a ser fagocitado com o fagócito. Para que este processo ocorra, as fases de reconhecimento e aderência do substrato ao fagócito são importantes.

A fagocitose inicia-se com o espriamento da célula e redistribuição das organelas citoplasmáticas (RABINOVITCH, 1975), com aumento da área de contato da membrana plasmática da célula ao substrato a ser fagocitado. De modo geral, ocorrem interações seqüenciais entre receptores da superfície celular e ligantes opsônicos, presentes na superfície das partículas a serem fagocitadas, levando à polimerização da

actina e conseqüente internalização da partícula (GREENBERG, 1995; ADEREM & UNDERHILL, 1999). Em macrófagos, foram identificados alguns receptores da superfície celular. Dentre eles, encontram-se os receptores para a porção Fc da imunoglobulina G, para as frações C3b do sistema complemento e para os resíduos manose/fucose (BERKEN & BENACERREF, 1966; LAY & NUSSENZWEIG, 1968; GORDON *et al.*, 1988; LAW *et al.*, 1988; EZEKOWITZ & STAHL, 1988). A ativação desses três tipos de receptores desencadeia diferentes mecanismos de transdução de sinais, que causam diferentes rearranjos das proteínas do citoesqueleto e culminam em diferentes mecanismos de internalização. Ainda, os receptores para porção Fc da imunoglobulina G e para os resíduos manose/fucose levam à liberação de mediadores pró-inflamatórios como citocinas, intermediários reativos do oxigênio e metabólitos do ácido araquidônico (LENNARTZ *et al.*, 1993; CARON & HALL, 1998; LENNARTZ, 1999; ZHENG, *et al.* 1999). Por outro lado, os receptores para as frações C3b do sistema complemento parecem não promover a liberação desses mediadores inflamatórios (ADEREM & UNDERHILL, 1999).

As proteínas do complemento, presentes no soro, opsonizam as partículas a serem fagocitadas através de receptores para C3b e C3bi, presentes em macrófagos. Dentre eles, o receptor de complemento do tipo 1 (CR1) é constituído por uma cadeia única de proteínas, com um domínio extracelular de ligação ao complemento e um domínio citosólico curto, de 43 aminoácidos. O CR3 e o CR4 pertencem à família das integrinas e são constituídos de uma cadeia α associada de modo não covalente a uma cadeia β , formando um dímero. O receptor CR1 liga-se aos fragmentos C3b e C3bi do complemento e está relacionado à ligação da partícula, enquanto o CR3 e CR4 ligam-se ao C3bi e estão relacionados a internalização das partículas (ADEREM & UNDERHILL, 1999).

O receptor para porção Fc da imunoglobulina G (Fc γ R) é constituído de uma única cadeia protéica com um domínio extracelular de ligação ao Fc, um domínio transmembrana e uma cauda citoplasmática contendo regiões fundamentais para a transdução de sinal que consistem de dois pares de tirosinas e leucinas ("ITAM motifs") (MEJORADA & ROSALES, 1998; ADEREM & UNDERHILL, 1999). Enquanto esse receptor é constitutivamente ativo para a realização da fagocitose, o receptor de complemento liga-se as partículas e para internalizá-las, necessita de estímulos adicionais que ativam a proteína quinase C (PKC) e do TNF- α . Embora todos os tipos de fagocitose levem à polimerização de filamentos de actina no sítio de ingestão e à reorganização dos filamentos de actina, as partículas opsonizadas por IgG ou pelo complemento são internalizadas de modo diferente pelos macrófagos. A ativação dos receptores para porção Fc da IgG levam ao processo de fagocitose caracterizado pela formação de pseudópodes enquanto a ativação dos receptores para o complemento levam à endocitose (ALLEN & ADEREM, 1996; ADEREM & UNDERHILL, 1999; GREENBERG, 1999).

Atualmente, acredita-se que os mecanismos moleculares, responsáveis pela fagocitose induzida pelos diferentes receptores, envolvem a participação da família das Rho GTPases, da proteína quinase C (PKC) e da fosfatidilinositol 3-quinase (PI 3-quinase).

As Rho GTPases regulam a resposta do citoesqueleto de actina a uma variedade de sinais extracelulares além de participarem na ligação e internalização, no processo de fagocitose (CARON & HALL, 1998). Ainda, CARON & HALL (1998) verificaram que a fagocitose pelo receptor de complemento é mediada pela Rho, uma proteína da família das Rho GTPases que é responsável pela organização dos filamentos de actina. Por outro lado, a fagocitose pelo receptor Fc de IgG é mediada pelas Cdc 42 e Rac, proteínas da família das Rho GTPases que são responsáveis pelas

protrusões de membrana e polimerização dos filamentos de actina, respectivamente. Cabe ressaltar, ainda, que a Rac está relacionada ao "burst" respiratório pois regula a enzima NADPH oxidase (BABIOR, 1999). A PKC é requerida para a endocitose mas o mecanismo pelo qual esta proteína regula o processo de fagocitose ainda é desconhecido (ADEREM & UNDERHILL, 1999). Já, a PI 3-quinase é necessária para a inserção e a extensão de pseudópodes da membrana. Entretanto, a identidade da isoforma da PI 3-quinase, envolvida nesse processo, não é conhecida, sendo provável que mais de uma isoforma seja ativada durante a fagocitose (GREENBERG, 1999; COX *et al.*, 1999).

Outro receptor fagocítico de macrófagos é o receptor de manose. Esse receptor reconhece moléculas de manose e fucose da superfície de patógenos, desencadeando a sua fagocitose. É constituído por uma única cadeia de aminoácidos e um domínio extracelular com 8 domínios semelhantes à lectina, que se ligam a carboidratos. Este domínio, semelhante a lectina, é homólogo ao receptor de fosfolipase A₂ (PLA₂). A cauda citoplasmática do receptor de manose é importante para as funções endocíticas e fagocíticas, mas os sinais que desencadeiam a fagocitose não são conhecidos (STAHL & EZEKOWITZ, 1998). Em adição à fagocitose por este receptor, sinais pró-inflamatórios são gerados para produção de citocinas como a IL-1, IL-6 e TNF- α . No caso da fagocitose via receptor de complemento, há controvérsias na literatura a esse respeito (ADEREM & UNDERHILL, 1999).

Concomitantemente ao processo de fagocitose, ocorre um aumento do metabolismo oxidativo dos leucócitos, conhecido como "burst" respiratório, resultando na produção de agentes microbicidas, como o ânion superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (BABIOR, 1984). O ânion superóxido é um reagente óxido-redutor, extremamente potente, capaz de sofrer ou oxidação para O_2 ou redução para H_2O_2 (BABIOR *et al.*, 1973). A H_2O_2 é um produto do metabolismo celular, formado pela

redução de dois elétrons do oxigênio ou pela dismutação do ânion superóxido (ISCHIROPOULOS *et al.*, 1996).

Ainda, o vacúolo fagocítico dos leucócitos funde-se aos grânulos lisossomais acarretando a formação do fagolisossomo, com consequente liberação das enzimas presentes nestes grânulos, que auxiliam na eliminação do agente lesivo. Uma destas enzimas é denominada mieloperoxidase que na presença do íon cloro (Cl^-), converte a H_2O_2 a ácido hipocloroso (HOCl), um outro agente microbicida (KING *et al.*, 1997). Além destes agentes, os leucócitos, ativados por citocinas, podem produzir óxido nítrico que na forma de radical livre, atua também como agente microbicida (HIBBS *et al.*, 1990).

O óxido nítrico é sintetizado a partir da L-arginina por uma família de enzimas chamadas óxido nítrico sintases (NOS), tendo sido identificadas três isoformas de NOS. Nas células endoteliais, a isoforma mais comumente encontrada é a NOS constitutiva (cNOS ou NOS tipo III) que é uma enzima dependente de cálcio. No tecido nervoso, a isoforma mais encontrada é a bNOS (nNOS ou NOS do tipo I). Da mesma forma que a cNOS, a bNOS é dependente de cálcio. A forma induzida da NOS (iNOS ou NOS do tipo II) é encontrada em vários tipos celulares e, ao contrário da cNOS e da bNOS, não é normalmente expressa nas células mas induzida por citocinas como o $\text{TNF-}\alpha$, a IL-1 e $\text{INF-}\gamma$. Esta isoforma não depende de cálcio (FORSTERMANN *et al.*, 1995; ROBBINS & GRISHAM, 1997). O NO é uma molécula mensageira de várias funções fisiológicas como a neurotransmissão (DOWNEN *et al.*, 1999), vasodilatação (PALMER *et al.*, 1987) atividade tumoricida (HIBBS *et al.*, 1987) ou microbicida (MAUEL *et al.*, 1991). Em resposta a mediadores inflamatórios, as células fagocíticas produzem uma grande quantidade de NO (GREEN *et al.*, 1990; BERTHOLET *et al.*, 1999). Além disso, o óxido nítrico pode interagir com o ânion superóxido (O_2^-) e formar um potente agente

oxidante, o ânion peroxinitrito (ONOO^-), mais tóxico que os seus precursores (ISCHIROPOULOS *et al.*, 1996; ROHN *et al.*, 1999).

A partir dessa fase aguda, exsudativa, podem ocorrer fenômenos de regeneração e reparo. A resolução do processo inflamatório agudo se dá através da eliminação dos leucócitos recrutados através de um processo fisiológico de morte celular programada – apoptose. A seguir, as células apoptóticas e os debris celulares, são removidos pelos macrófagos através do processo de fagocitose e posteriormente, são drenados pelos vasos linfáticos através da linfa.

Em caso do estímulo lesivo persistir podem ocorrer modificações marcantes das características da resposta com cronificação da reação, que adquire caráter proliferativo. À fase inicial, segue-se uma fase em que predominam as células mononucleares. O macrófago persiste até a resolução da lesão, podendo, em caso de manutenção do processo, dar origem a células gigantes multinucleadas e as células epitelióides, presentes nas reações granulomatosas (PAPADIMITRIOU & SPECTOR, 1971).

Como é de amplo conhecimento, a radiação ionizante apresenta efeitos lesivos atuando sobre tecidos e principalmente sobre as células. Assim, MOHAN & MELTZ em 1994, publicaram um estudo sobre a indução do fator nuclear κB (NF- κB), um fator de transcrição associado à regulação gênica que codifica para citocinas e outras proteínas envolvidas em processos infecciosos e inflamatórios, após baixas doses de radiação ionizante envolvendo a via de sinalização dos reativos intermediários do oxigênio. Neste trabalho, os autores mostraram que baixas doses de radiação ionizante induzem a atividade do NF- κB em uma linhagem de células linfoblásticas humanas - 244B. Uma vez que baixas doses de radiação ionizante induzem a geração de radicais livres em células, os autores investigaram se a geração de intermediários reativos de oxigênio por baixas doses de radiação ionizante induzia a atividade do NF- κB e se essa

atividade decorria pelo mesmo mecanismo quando as células eram tratadas com PMA (acetato de forbol miristato), importante ativador da proteína quinase C (PKC), ou peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Os resultados não somente confirmaram que baixas doses de radiação ionizante (0,1 a 2,0 Gy) ativam o fator de transcrição NF-κB, com indução máxima após exposição de 0,5 Gy, mas demonstraram também que a ativação do NF-κB por baixas doses de radiação ionizante pode ser inibida por um antioxidante, indicando que a ativação do NF-κB é mediada pelos reativos intermediários do oxigênio.

Já, IBUKI & GOTO, em 1995, fizeram um estudo sobre o aumento da produção de óxido nítrico (NO) e atividade citotóxica por macrófagos obtidos de camundongos após baixas doses de radiação-γ. Neste trabalho, os camundongos foram expostos a baixas doses de radiação (4 Gy), capaz de ativar os macrófagos peritoneais residentes. Esses autores verificaram que a produção de NO e sua atividade citotóxica sobre uma linhagem de células tumorais - P-815 foi aumentada, mas a dose de radiação utilizada não foi capaz de ativar os macrófagos *in vitro*, sugerindo que baixas doses de radiação sobre todo o animal ativam os macrófagos e conseqüentemente aumentam a produção de NO.

A migração de células, polimorfonucleares e mononucleares, para os tecidos é um evento central da resposta inflamatória. Este evento ocorre na microcirculação e depende da expressão de moléculas de adesão e da ação de mediadores. Nesse sentido, HALLAHAN *et al.*, em 1996, trabalhando com células endoteliais humanas, realizaram um estudo sobre a participação de algumas moléculas de adesão induzidas em endotélio vascular por radiação ionizante. Neste trabalho, os autores quantificaram a expressão da P-selectina e E-selectina, moléculas de adesão envolvidas no processo de rolamento, ICAM-1 e VCAM-1, moléculas de adesão relacionadas a transmigração de leucócitos através do endotélio, na superfície de células endoteliais humanas

irradiadas. Os resultados mostraram que há um aumento da expressão dose e tempo-dependente de E-selectina (1 Gy) e de ICAM-1 (5 Gy) após a radiação, por outro lado, não houve aumento da expressão de P-selectina e de VCAM-1, sugerindo que algumas moléculas de adesão, principalmente a ICAM-1, participam da resposta inflamatória induzida pela radiação ionizante.

Uma vez que a inflamação é uma das maiores conseqüências da injúria causada pela radiação, GAUGLER *et al.*, em 1997, investigaram o efeito da radiação ionizante sobre a expressão de ICAM-1, VCAM-1 e E-selectina em células endoteliais humanas (HUVEC). Através de estudos de citometria de fluxo, os autores mostraram que houve um aumento tanto tempo (2 a 10 dias) como dose (2 a 10 Gy) dependente da expressão basal de ICAM-1, mas não de VCAM-1 e de E-selectina. O aumento da expressão de ICAM-1 em HUVEC estava correlacionado ao aumento de adesão de neutrófilos nas células endoteliais irradiadas, sugerindo que esta molécula de adesão participa da reação inflamatória do endotélio induzida por radiação ionizante.

Nesse sentido, HALLAHAN *et al.*, em 1997 realizaram um estudo com o objetivo de caracterizar o mecanismo pelo qual a radiação ionizante induz o influxo de células da circulação para os tecidos. Neste trabalho, os autores observaram um aumento da expressão de E-selectina, dose e tempo dependente, em células endoteliais humanas induzida por radiação ionizante.

IBUKI & GOTO, em 1997, trabalhando com NO, investigaram o aumento da produção de deste radical por macrófagos residentes peritoneais após irradiação- γ *in vitro* e sua relação com os intermediários reativos do oxigênio. Neste trabalho, os autores investigaram as mudanças funcionais dos macrófagos após exposição à alta dose de radiação ionizante (6 Gy) *in vitro*. Neste caso, os macrófagos peritoneais residentes obtidos de camundongos foram irradiados com raios-X (^{137}Cs , 0,3 Gy/min). Os autores verificaram que altas doses de radiação aumentam a produção de NO em

macrófagos tratados com interferon- γ (IFN- γ). Este aumento da produção de NO foi atribuído ao aumento da expressão da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS). Esta enzima converte L-arginina em citrulina e em uma forma reduzida do NO na presença de oxigênio, cofatores e NADPH. É conhecido que a radiação- γ induz a produção de radicais livres de oxigênio e que estes radicais possuem um papel relevante na geração de NO. Deste modo, os autores verificaram que baixas concentrações de peróxido de hidrogênio, um reativo intermediário do oxigênio, aumentam a produção de NO sugerindo que os radicais livres possuem um importante papel no aumento da produção de NO.

Ainda, MCKINNEY *et al.*, em 1998, fizeram um estudo sobre a potencia da radiação- γ sozinha ou associada ao INF- γ e/ou LPS em induzir a produção de NO em macrófagos murinos das linhagens J774 ou RAW264.7. Os resultados mostraram que a radiação- γ (0,5 a 50Gy) não é capaz de induzir a produção de NO, mas aumenta a produção deste gás, via expressão da iNOS, de maneira dose-dependente (0,5 a 5Gy) quando as células são tratadas com INF- γ ou LPS após a radiação. Quando as células são tratadas com anticorpos contra o fator de necrose tecidual- α (TNF- α) antes da radiação, há um bloqueio na produção de NO pelo IFN- γ , indicando que os macrófagos produzem NO em resposta ao IFN- γ /LPS e esta produção é modulada pela indução de TNF- α .

As citocinas compreendem uma família de mediadores protéicos, importantes em interações inter celulares e na indução e modulação de um grande número de processos inflamatórios e metabólicos. Além disso, participam ativamente da resposta imune, principalmente na ativação e proliferação dos linfócitos; estão envolvidas também na resposta pirogênica e de fase aguda. As citocinas são produzidas por vários tipos celulares e principalmente por macrófagos e linfócitos ativados. Possuem ações pleiotrópicas, atuando sobre diversos tecidos e tipos celulares.

Nesse sentido, IBUKI & GOTO (1999) avaliaram a contribuição da liberação de citocinas pró-inflamatórias na ativação de macrófagos peritoneais residentes *in vivo* após baixas doses de radiação. Os resultados mostraram que a produção de citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IFN- γ no sobrenadante de co-cultura de linfócitos e macrófagos aumentaram na presença de macrófagos irradiados com baixas doses de radiação *in vivo*. Os autores observaram que a ativação dos macrófagos era causada pela interação com linfócitos e por uma ação parácrina de certas citocinas iniciada pela liberação de IL-1 β por macrófagos irradiados.

KERN *et al.*, em 2000, trabalhando com baixas doses de radiação e adesão de células mononucleares ao endotélio vascular, mostraram que baixas doses de radiação (0,1 – 0,5 Gy) reduzem a adesão de células mononucleares às células endoteliais *in vitro* 4 horas após a irradiação. Ainda, eles observaram que houve uma diminuição da expressão de L-selectina nos leucócitos, indicando que baixas doses de radiação possuem um efeito anti-inflamatório.

MCKINNEY *et al.*, em 2000 fizeram um estudo sobre a indução da enzima óxido nítrico sintase (NOS) por interferon- γ (IFN- γ) e/ou lipopolissacarídeo (LPS) em linhagens de macrófagos murinos potencializada por radiação ionizante. Os macrófagos respondem à injúria e a infecção mudando o seu fenótipo celular de estado de repouso para estado ativado. Este estado de transição de repouso para ativado é regulado por citocinas e/ou por sinais patogênicos. A resposta dos macrófagos depende tanto da natureza dos sinais como da forma como são apresentados. Alguns sinais não induzem ativação, mas deixam os macrófagos em um estado primado, ou seja, prontos para responder a um segundo sinal. Um exemplo deste fenômeno envolve a indução da síntese de NO pela NOS do tipo II (iNOS). Quantidades moderadas de NO podem ser induzidas diretamente pela exposição ao LPS em muitos tipos de macrófagos. Entretanto, se estas células são expostas previamente ao IFN- γ , o qual induz a

produção de pequenas quantidades de NO, ocorre um efeito sinérgico deste dois sinais levando a uma somatória de efeitos. Neste trabalho, os autores mostraram que baixas doses de radiação ionizante (1 a 5 Gy) podem aumentar a expressão da iNOS por duas linhagens diferentes de macrófagos murinos estimulados por IFN- γ e LPS. Esses autores mostraram também que somente a radiação ionizante não é capaz de induzir a expressão da iNOS, mas age como um primeiro sinal. Os autores mostraram ainda que, as células expostas à radiação produzem mais NO quando um segundo sinal, dado pelo IFN- γ ou LPS é aplicado após 24 horas.

HOSOI *et al.*, em 2001, investigaram a indução da expressão gênica da IL-1 β e IL-6 por baixas doses de radiação ionizante em macrófagos. Os resultados mostraram que 2 Gy de radiação induzem a expressão gênica de IL-1 β e IL-6 1 a 2 horas após a irradiação, diminuindo ao nível basal 4 horas após a irradiação. A irradiação com 0,1 Gy aumentou a expressão da IL-6 2 horas após a irradiação, mas o mesmo não ocorreu com a IL-1 β .

HILDEBRANDT *et al.*, em 2002 realizaram um estudo para verificar se baixas doses de radiação poderiam modular a expressão de moléculas de adesão em células endoteliais ativadas. Os autores verificaram também a adesão de células mononucleares em células endoteliais ativadas. Para isso, células endoteliais da linhagem EA.hy.926 foram irradiadas com doses de 0,3 - 10 Gy em diferentes tempos antes da estimulação com TNF- α . Os resultados mostraram que doses de radiação entre 0,3 - 0,6 Gy reduziram a adesão de células mononucleares as células endoteliais *in vitro* no período de 4 e 24 horas, mas aumentaram no período de 12 horas. Doses de radiação menores ou iguais a 5 Gy não induziram a expressão de ICAM-1. Já, expressão de E-selectina, no entanto, aumentou de maneira dose-dependente após 6 horas de irradiação. A modulação da liberação de E-selectina de células endoteliais

ativadas pode ser um mecanismo de diminuição da adesão de leucócitos após baixas doses de radiação *in vitro*.

ROEDEL *et al.*, em 2002, exploraram em seus estudos o papel de alguns mediadores inflamatórios (IL-6 e TGF- β) na redução da adesão de células mononucleares a células endoteliais após radiação ionizante. Neste trabalho, as células endoteliais foram irradiadas e após 20 horas da irradiação, foram tratadas com IL-1 β e incubadas com as células mononucleares. Os resultados mostraram que ocorreu uma pequena adesão de mononucleares entre as doses de 0,3 e 0,7 Gy, e paralelamente uma expressão máxima de TGF- β e IL-6. A análise por citometria de fluxo revelou que houve uma regulação negativa da E-selectina nas mesmas doses. Portanto, neste estudo, baixas doses de radiação induzem uma produção máxima de TGF- β por células endoteliais estimuladas resultando em uma regulação negativa da adesão de leucócitos ao endotélio contribuindo para o efeito anti-inflamatório de baixas doses de radiação.

SCHAUE *et al.*, em 2002, testou os efeitos de baixas doses de radiação-X sobre o "burst" oxidativo em macrófagos estimulados. Os resultados mostraram que baixas doses de radiação ionizante (menor do que 1 Gy) reduziram o "burst" oxidativo em macrófagos ativados com PMA ou zimosan, enquanto altas doses de radiação tiveram pouco efeito sobre o "burst" oxidativo.

DISCUSSÃO

A exposição das células à radiação ionizante resulta em uma resposta celular complexa. A passagem de uma radiação eletromagnética ou mesmo de um fóton causa remoção de um elétron de um átomo, resultando na criação de um par de íons, positivo e negativo. Esse fenômeno, chamado ionização, é o principal meio pelo qual a energia da radiação ionizante é transferida para tecidos biológicos, sem, no entanto, produzir radioatividade. O primeiro radical gerado como consequência de eventos de ionização é o radical hidroxila (OH^\cdot), um importante promotor dos danos às macromoléculas. Em seguida, outros radicais derivados do oxigênio são gerados: o íon oxigênio (O_2^\cdot) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

Segundo os estudos de MOHAN & MELTZ, em 1994, baixas doses de radiação ionizante induzem a produção de reativos intermediários do oxigênio. Os resultados obtidos neste estudo mostraram que os radicais livres de oxigênio levam a ativação do fator de transcrição NF- κ B, e que esta ativação é inibida por um antioxidante, indicando que a ativação do NF- κ B é mediada pelos reativos intermediários do oxigênio. O efeito de baixas doses de radiação ionizante sobre a indução de NF- κ B pode ser atribuída a diferentes mecanismos. A ativação de NF- κ B, um fator de transcrição associado à regulação de vários genes que codificam para citocinas e outras proteínas envolvidas em processos inflamatórios, pode ser mediada por uma cascata de sinalização intranuclear. Os radicais livres produzidos pela ação da radiação ionizante levam a danos no DNA resultando em um mecanismo de sinalização reversa, do núcleo para o citoplasma. Ou a ativação de NF- κ B pode ser iniciada na membrana plasmática celular levando à ativação da fosfolipase C (FLC), a mobilização do cálcio e a ativação da proteína quinase C (PKC) o que resulta na translocação de NF- κ B para o núcleo, representando uma rápida resposta aos sinais extracelulares.

As evidências da literatura mostram que os macrófagos ativados podem produzir óxido nítrico (NO). Este gás é sintetizado a partir da L-arginina, em reação catalisada pela enzima NO sintase, resultando em quantidades estequiométricas de L-citrulina e NO. Os estudos de IBUKI & GOTO (1995) mostraram que baixas doses de radiação ionizante *in vivo* ativam os macrófagos residentes levando a produção de NO, sugerindo que baixas doses de radiação ionizante *in vivo* ativam indiretamente os macrófagos constituindo em um primeiro sinal para a ativação celular. Esses achados corroboram os dados de IBUKI & GOTO (1997) que mostraram que altas doses de radiação ionizante (6 Gy), *in vitro*, aumentam a produção de NO por macrófagos tratados com interferon- γ (IFN- γ), via aumento da expressão da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS).

Adicionalmente, MCKINNEY *et al.* (1998; 2000), mostraram que a radiação- γ isoladamente não é suficiente para induzir a produção de NO, assim como, a expressão da iNOS, agindo como um primeiro sinal. As células quando expostas a radiação produzem mais NO quando um segundo sinal dado pelo INF- γ ou LPS é aplicado. Ainda, esses autores verificaram que quando as células são tratadas com anticorpos contra o fator de necrose tecidual- α (TNF- α) antes da exposição à radiação, ocorre um bloqueio na produção de NO pelo IFN- γ , sugerindo que os efeitos da radiação ionizante são mediados pelo TNF- α . Esta citocina é produzida e secretada por diversos tipos celulares que incluem os macrófagos. É conhecido que o TNF- α possui várias ações biológicas e uma dessas ações esta relacionada à ativação da enzima óxido nítrico sintase induzível (AKIRA *et al.*, 1990).

Além do TNF- α , a interleucina-1 (IL-1), inicialmente descrita como um pirogênio endógeno, é produzida em resposta a vários estímulos, que incluem o lipopolissacárideo de bactérias (LPS) e outros produtos bacterianos, além de citocinas como o TNF- α e o

INF- γ (DINARELLO, 1988; 1991; OPPENHEIM *et al.*, 1989; STYLIANOU & SAKLATVALA, 1998).

A IL-1 é sintetizada por muitos tipos celulares que incluem as células endoteliais e os leucócitos. As ações biológicas da IL-1 são múltiplas e diversificadas. O principal efeito biológico desta citocina é mediar o processo inflamatório. A IL-1 promove acúmulo de granulócitos, particularmente de neutrófilos, nos sítios de inflamação, através do aumento da expressão de moléculas de adesão nas células endoteliais. Esta citocina participa da formação do edema e induz a produção de quimiocinas como a IL-8 e de outras citocinas como TNF- α , IL-6. A IL-1 induz a proliferação de linfócitos B e ativação de linfócitos T, levando a produção de IL-2 e IFN- γ (DINARELLO, 1988; 1991; MIZEL, 1989; STYLIANOU & SAKLATVALA, 1998).

Segundo os dados de IBUKI & GOTO, em 1999, baixas doses de radiação ionizante induzem a expressão de IL-1 em macrófagos, esta citocina liberada de macrófagos irradiados estimula os linfócitos a produzir e liberar, por uma ação parácrina, outras citocinas, como o IFN- γ , que ativam os macrófagos. Da mesma forma, HOSOI *et al.* (2001) mostraram que além da IL-1, a IL-6, citocina produzida por vários tipos celulares como leucócitos, mastócitos e células endoteliais, possui sua expressão aumentada quando os macrófagos são irradiados com baixas doses de radiação ionizante.

A IL-6 participa de diferentes mecanismos de defesa como a resposta imune, reações de fase aguda e hematopoiese. Portanto, as principais atividades biológicas desta citocina envolvem a diferenciação dos linfócitos B em plasmócitos e conseqüente produção de imunoglobulinas (IgM, IgG e IgA), ativação de linfócitos T, indução da produção de IL-2 e do receptor da IL-2 por estas células, proliferação de células progenitoras hematopoiéticas e síntese de proteínas de fase aguda (KISHIMOTO, 1989; HIRANO *et al.*, 1990; SCHINDLER *et al.*, 1990).

Esta citocina não é produzida normalmente pelas células, mas sua expressão é rapidamente induzida em processos inflamatórios. Algumas citocinas como a IL-1 e TNF- α , induzem a produção da IL-6 (AKIRA *et al.*, 1990; SNICK, 1990). Além disso, a IL-6 desempenha papel na indução e propagação da resposta inflamatória pois está relacionada, principalmente, à atividade pirogênica e ao aumento da expressão de moléculas de adesão ICAM-1 em células endoteliais (AKIRA *et al.*, 1990; TILG *et al.*, 1997).

Segundo os dados de ROEDEL *et al.* (2002) e de SCHAUE *et al.* (2002) baixas doses de radiação ionizante possuem efeitos anti-inflamatórios. ROEDEL *et al.*, em 2002, verificaram que a radiação induz a produção de TGF- β , citocina que atenua os efeitos de citocinas pró-inflamatórias regulando negativamente a resposta inflamatória, por células endoteliais estimuladas o que resulta em uma regulação negativa da adesão de leucócitos ao endotélio contribuindo para o efeito anti-inflamatório observado. SCHAUE *et al.*, também em 2002, mostraram que baixas doses de radiação ionizante reduzem o "burst" oxidativo em macrófagos ativados com PMA ou zimosan, sugerindo que a radiação ionizante pode interferir na fosforilação dos componentes citosólicos p47phox e p67phox da enzima NADPH-oxidase.

O recrutamento de células inflamatórias, principalmente de leucócitos polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e mononucleares (monócitos e linfócitos) para o tecido adjacente é um evento central da resposta inflamatória. Este evento decorre da expressão de receptores glicoproteicos na membrana de leucócitos e das células endoteliais - denominados moléculas de adesão - e acarretam o fenômeno da migração leucocitária (GRANGER & KUBES, 1994; ALBELDA *et al.*, 1994; RAMPART, 1994). Várias famílias de moléculas de adesão foram recentemente caracterizadas e, dentre estas, três desempenham papel fundamental na interação leucócito-endotélio: 1) a das selectinas (LECAM-1 ou L-selectina, P-selectina e E-

selectina), expressas tanto por leucócitos circulantes quanto por células endoteliais e responsáveis pelo comportamento "rolling" (BOSSE & VESTWEBER, 1994); 2) a das integrinas (CD11a/CD18 (LFA-1), CD11b/CD18 (Mac-1), CD11c/CD18 (gp150/95) e CD11d/CD18), expressas na célula endotelial e alguns tipos de leucócitos, que contribuem para a aderência e diapedese (WALZOG *et al.*, 1999) e 3) a da superfamília das imunoglobulinas (ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3 e PECAM-1), expressas na célula endotelial e alguns tipos de leucócitos, contribuindo para a aderência e diapedese (ISSEKUTS *et al.*, 1999). Além disso, a expressão dessas famílias de moléculas é determinada por diferentes mediadores inflamatórios, liberados ou gerados durante o processo inflamatório (WILLIAMS *et al.*, 1988; WILES *et al.*, 1991; CAUGHEY *et al.*, 1997).

Nesse sentido, os estudos de HALLAHAN *et al.*, em 1996 e mais tarde, em 1997, mostraram aumento da expressão de E-selectina e ICAM-1, sugerindo que algumas moléculas de adesão participam da resposta inflamatória induzida pela radiação ionizante. Corroborando esses dados, GAUGLER *et al.*, em 1997, mostraram que o aumento da expressão de ICAM-1 em HUVEC estava correlacionado ao aumento de adesão de neutrófilos às células endoteliais irradiadas, sugerindo que esta molécula de adesão participe da reação inflamatória do endotélio induzida por radiação ionizante.

Ainda, segundo os estudos de KERN *et al.*, em 2000, com células mononucleares, os resultados obtidos mostraram que baixas doses de radiação reduzem a adesão destas células ao endotélio. Esses autores sugeriram que houve uma diminuição da expressão de L-selectina nos leucócitos, indicando que baixas doses de radiação possuem um efeito anti-inflamatório.

Já, HILDEBRANDT *et al.*, em 2002, em um estudo para verificar se baixas doses de radiação poderiam modular a expressão de moléculas de adesão em células endoteliais ativadas, verificaram que doses de radiação ionizante acima de 5 Gy reduzem a expressão de ICAM-1 e, conseqüentemente, a adesão de células mononucleares às células endoteliais *in vitro*.

Tomados em conjunto, os dados da literatura permitem concluir que as células expostas à radiação ionizante exibem uma resposta celular complexa. Os eventos inflamatórios abordados neste trabalho são distintos, porém complementares. O mecanismo pelo qual baixas doses de radiação causam a expressão de moléculas de adesão expressas por células endoteliais, a liberação de citocinas e a ativação celular não foi esclarecido neste estudo. Porém, considerando que baixas doses de radiação induzem a expressão pelo endotélio de ICAM-1 e E-selectina e que estas moléculas de adesão são induzidas por citocinas como IL-1 e IL-6, observada neste estudo, é provável que esta expressão seja decorrente da liberação desses mediadores induzida por baixas doses de radiação ionizante.

A ativação do "burst" respiratório com conseqüente produção de reativos intermediários do oxigênio e nitrogênio induzida por baixas doses de radiação pode decorrer de um mecanismo direto através da ativação da enzima NADPH-oxidase. Porém, a possibilidade de um mecanismo indireto não pode ser descartada.

Ainda, a literatura mostra que a IL-1 induz a expressão da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) (DING *et al.*, 1988). Considerando os resultados obtidos, demonstrando a liberação de IL-1 por ação de baixas doses de radiação, é possível sugerir um efeito indireto da mesma através de estímulos à produção desse mediador pelos macrófagos sobre a iNOS, aumentando a sua expressão.

Finalmente, até o presente não há descrito na literatura os mecanismos envolvidos no desencadeamento da resposta inflamatória induzido por baixas doses de radiação ionizante. Assim, estudos adicionais devem ser realizados para melhor esclarecer esses mecanismos.

CONCLUSÕES

Os dados da literatura permitem concluir que a radiação ionizante:

- em baixas doses ativa leucócitos, principalmente macrófagos residentes;
- induz a expressão de INOS e a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio por macrófagos quando estimulados com LPS e ou INF- γ ;
- induz a expressão de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 e IL-6;
- induz a expressão de moléculas de adesão como E-selectina e ICAM-1.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, D.; SHAW, S. Leucocyte-endothelial interactions and regulation of leucocyte migration. **Lancet** **343**: 831-836, 1994.
- ALLEN, L.A.; ADEREM, A. Mechanisms of phagocytosis. **Curr. Opin. Immunol.**, **8**: 36-40, 1996
- ADEREM, A.; UNDERHILL, D.M. Mechanisms of phagocytosis in macrophages. **Annu. Rev. Immunol.**, **17**: 593-623, 1999.
- AKIRA, S.; HIRANO, T.; TAGA, T.; KISHIMOTO, T. Biology of multifunctional cytokines: IL-6 and related molecules (IL-1 and TNF). **FASEB J.**, **4**: 2860-2867, 1990.
- ALBELDA, S.M.; SMITH, W.C.; WARD, P.A. Adhesion molecules and inflammatory injury. **FASEB J.**, **8**: 504-512, 1994.
- BABIOR, B.M. NADPH Oxidase: an update. **Blood**, **93**: 1464-1476, 1999.
- BABIOR, B.M. The respiratory burst of phagocytes. **J. Clin. Invest.**, **73**: 599-601, 1984.
- BABIOR, B.M.; KIPNES, R.S.; CURCNUITTE, J.T. Biological defense mechanism. The production by leukocytes of superoxide, a potencial agent. **J. Clin. Invest.**, **52**: 741-4, 1973.
- BEEKHUIZEN, H.; VAN FURTH, R. Monocyte adherence to human vascular endothelium. **J. Leukoc. Biol.**, **54**: 363-378, 1993.
- BERKEN, A.; BENACERREF, B. Properties of antibodies cytophilic for macrophages. **J. Exp. Med.**, **123**: 119-144, 1966.
- BERTHOLET, S.; TZENG, E.; FELLEY-BOSCO, E.; MAUEL, J. Expression of the inducible NO synthase in human monocytic U937 cells allows high output nitric oxide production.

J. Leukoc. Biol., **65**: 50-58, 1999.

BEVILACQUA, M.P.; NELSON, R.M. Selectins. **J. Clin. Invest.**, **91**: 379-387, 1993.

BOSSE, R.; VESTWEBER, D. Only simultaneous blocking of the L- and P-selectin completely inhibits neutrophil migration into mouse peritoneum. **Eur. J. Immunol.**, **24**: 3019-3024, 1994.

BUCKLEY, T.L; BRAIN, S.D. Functional interactions between inflammatory mediators, in the microcirculation and relevance of neurogenic components. In: **The Handbook of Immunopharmacology, Immunopharmacology of the Microcirculation S.D. Brain**, ed. Academic Press, San Diego, 1994, p.63-76.

CARON, E.; HALL, A. Identification of two distinct mechanisms of phagocytosis controlled by different Rho GTPases. **Science**, **282**: 1717-1721, 1998.

CAUGUEY, G.E.; POULIOT, M.; CLELAND, L.G.; JAMES, M.J. Regulation of tumor necrosis factor-alpha and IL-1 beta synthesis by thromboxane A₂ in nonadherent human monocytes. **J. Immunol.** **158**: 351-358, 1997.

COX, D.; TSENG, C.C.; BJEKIC, G.; GREENBERG, S. A requirement for phosphatidylinositol 3-kinase in pseudopod extension. **J. Biol. Chem.**, **274**: 1240-7, 1999.

DAMIANO, E.R.; WESTHEIDER, J.; TÖZEREN, A.; LEY, K. Variation in the velocity, deformation, and adhesion energy density of leukocytes rolling within venules. **Circ. Res.**, **79**: 1122-1130, 1996.

DANILENKO, D.M.; ROSSITTO, P.V.; VAN DER VIEREN, M.; LE TRONG, H.; MCDONOUGH, S.P.; AFFOLTER, V.K.; MOORE, P.F. A novel canine leukointegrin, alpha d beta 2, is expressed by specific macrophage subpopulations in tissue and a minor CD8+ lymphocyte subpopulation in peripheral blood. **J. Immunol.**, **155**: 35-44, 1995.

- DINARELLO, C.A. Biology of interleukin-1. **FASEB J.**, **2**: 108-115, 1988.
- DINARELLO, C.A. The proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor and treatment of the septic shock syndrome. **J. Infect. Dis.**, **163**: 1177-1184, 1991.
- DING, A.H.; NATHAN, C.F.; STUEHER, D.J. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. **J. Immunol.**, **141**: 2407-2412, 1988.
- DOWNEN, M.; ZHAO, M.L.; LEE, P.; WEIDENHEIN, K.M.; DICKSON, D.W.; LEE, S.C. Neuronal nitric oxide synthase expression in developing and adult human CNS. **J. Neuropathol. Exp. Neurol.**, **58**: 12-21, 1999.
- EBNET, K.; VESTWEBER, D. Molecular mechanisms that control leukocyte extravasation: the selections and the chemokines. **Histochem Cell Biol.**, **112**: 1-23, 1999.
- EZEKOWITZ, R.A.; STAHL, P.D. The structure and function of vertebrate mannose lectin-like proteins. **J. Cell. Sci.**, **9**: 121-33, 1988.
- FORSTERMANN, U.; GATH, I.; SCHWARZ, P.; CLOSS, E.I.; KLEINERT, H. Isoforms of nitric oxide synthase. Properties, cellular distribution and expressional control. **Biochem. Pharmacol.**, **50**: 1321-1332, 1995.
- GARCIA-LEME, J. In: **Hormones and inflammation**. Boca Raton, Flórida, 1989.
- GARCIA-LEME, J.; HAMMAMURA, L.; LEITE, M.P.; ROCHA E SILVA, M. Pharmacological analysis of the acute inflammatory process induced in the rat's paw by local injection of carrageenin and by heating. **Br. J. Pharmacol.**, **48**: 88-96, 1973.
- GAUGLER, M.H.; SQUIBAN, C.; VAN DER MEEREN, A.; BERTHO, J.M.; VANDAMME, M.; MOUTHON, M.A. Late and persistent up-regulation of intercellular adhesion molecule-1

(ICAM-1) expression by ionizing radiation in human endothelial cells in vitro. **Int. J. Radiat. Biol.**, **72**: 201-9, 1997.

GORDON, D.; PERRY, H.; RABINOWITZ, S.; LAPPING, C.; ROSEN, H. Plasma membrane receptors of the mononuclear phagocyte system. **J. Cell Sci.**, **9**: 1-26, 1988.

GRANGER, D.N.; KUBES, P. The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. **J. Leukoc. Biol.**, **55**: 662-675, 1994.

GREEN, S.J.; MELLOUK, S.; HOFFMAN, S.L.; MELTZER, M.S.; NACY, C.A. Cellular mechanisms of nonspecific immunity to intracellular infection: cytokine-induced synthesis of toxic nitrogen oxides from L-arginine by macrophages and hepatocytes. **Immunol. Lett.**, **25**: 15-19, 1990.

GREENBERG, S. Modular components of phagocytosis. **J. Leukoc. Biol.**, **66**: 712-717, 1999.

GREENBERG, S. Signal transduction of phagocytosis. **Trends Cell Biol.** **5**: 93-99, 1995.

HALLAHAN, D.; KUCHIBHOTLA, J.; WYBLE, C. Cell adhesion molecules mediate radiation-induced leukocyte adhesion to the vascular endothelium. **Cancer Res.**, **56**: 5150-5, 1996.

HALLAHAN, D.E.; KUCHIBHOTLA, J.; WYBLE, C. Sialyl Lewis X mimetics attenuate E-selectin-mediated adhesion of leukocytes to irradiated human endothelial cells. **Radiat. Res.**, **147**: 41-7, 1997.

HENRICKS, P.A.; NIJKAMP, F.P. Pharmacological modulation of cell adhesion molecules. **Eur. J. Pharmacol.**, **344**: 1-13, 1998.

HIBBS, J.B.; TAINTOR, R.R.; VAVRIN, Z.; RACHLIN, E.M. Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, **30**:

87-94, 1990.

HILDEBRANDT, G.; MAGGIORELLA, L.; RODEL, F.; RODEL, V.; WILLIS, D.; TROTT, K.R. Mononuclear cell adhesion and cell adhesion molecule liberation after X-irradiation of activated endothelial cells in vitro. **Int. J. Radiat. Biol.**, **78**: 315-25, 2002.

HOGG, N. Roll, roll, roll your leucocyte gently down the vein... **Immunol Today**, **13**: 113-115, 1992.

HOSOI, Y.; MIYACHI, H.; MATSUMOTO, Y.; ENOMOTO, A.; NAKAGAWA, K.; SUZUKI, N.; ONO, T. Induction of interleukin-1beta and interleukin-6 mRNA by low doses of ionizing radiation in macrophages. **Int. J. Cancer**, **96**: 270-6, 2001.

HUBBARD, A.; ROTHLEIN, R. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression and cell signaling cascades. **Free Rad. Biol. Med.**, **28**: 1379-1386, 2000.

HYNES, R. Integrins: versatility, and signaling in cell adhesion. **Cell**, **69**: 11-25, 1992.

IBUKI Y, GOTO R. Contribution of inflammatory cytokine release to activation of resident peritoneal macrophages after in vivo low-dose gamma-irradiation. **J. Radiat. Res.**, **40**: 253-62, 1999.

IBUKI, Y.; GOTO, R. Augmentation of NO production and cytolytic activity of M phi obtained from mice irradiated with a low dose of gamma-rays. **J. Radiat. Res.**, **36**: 209-20, 1995.

IBUKI. Y.; GOTO, R. Enhancement of NO production from resident peritoneal macrophages by in vitro gamma-irradiation and its relationship to reactive oxygen intermediates. **Free Radic. Biol. Med.**, **22**:1029-35, 1997.

ISCHIROPOULOS, H.; NELSON, J.; DURAN, D.; AL-MEHDI, A. Reactions of nitric oxide and peroxynitrite with organic molecules and ferrihorseradish peroxidase: interference with the determination of hydrogen peroxide. **Free Radic Biol Med.** **20**:373-81,

1996.

ISSEKUTZ, A.C.; ROWTER, D.; SPRINGER, T.A. Role of ICAM-1 and ICAM-2 and alternate CD11/CD18 ligands in neutrophil transendothelial migration. **J. Leukoc. Biol.**, **65**: 117-126, 1999.

KERN, P.M.; KEILHOLZ, L.; FORSTER, C.; HALLMANN, R.; HERRMANN, M.; SEEGENSCHMIEDT, M.H. Low-dose radiotherapy selectively reduces adhesion of peripheral blood mononuclear cells to endothelium in vitro. **Radiother. Oncol.**, **54**: 273-82, 2000.

KING, C.C.; JEFFERSON, M.M.; THOMAS, E.L. Secretion in inactivation of mieloperoxidase by isolated neutrophils. **J. Leukoc. Biol.**, **61**: 293-302, 1997.

LASKY, L. Selectin-carbohydrate interactions and the initiation of the inflammatory response. **Annu. Rev. Biochem.**, **258**: 113-139, 1995.

LAW, S.K.A. C3 receptors on macrophages. **J. Cell Sci.**, **9**: 67-97, 1988.

LAY, W.H.; NUSSENZWEIG, V. Receptors for complement on leucocytes. **J. Exp. Med.**, **128**: 991-1009, 1968.

LENNARTZ, M.R. Phospholipases and phagocytosis: the role of phospholipid-derived second messengers in phagocytosis. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, **31**: 415-430, 1999.

LENNARTZ, M.R.; LEFKOWITH, J.B.; BROMLEY, F.A.; BROWN, E.J. Immunoglobulin G-mediated phagocytosis activates a calcium-independent, phosphatidylethanolamine-specific phospholipase. **J. Leukoc. Biol.**, **54**: 389-398, 1993.

LI, X.C.; MIYASAKA, M; ISSEKUTZ, T.B. Blood monocyte migration to acute lung inflammation involves both CD11/CD18 and very late activation antigen-4 and independent pathways. **J. immunol.**, **161**: 6258-6264, 1998.

LUM, H.; MALIK, A.B. Mechanism of increased endothelial permeability. **Can. J.**

Physiol. Pharmacol. 74: 787-800, 1996.

MAUEL, J.; RANSIJN, A.; BUCHMULLER-ROUILLER, Y. Killing of leishmania parasites in activated murine macrophages is based on L-arginine-dependent process that produces nitrogen derivatives. **J. Leukoc. Biol. 49:** 73-82, 1991.

MCKINNEY LC, AQUILLA EM, COFFIN D, WINK DA, VODOVOTZ Y. Ionizing radiation potentiates the induction of nitric oxide synthase by IFN-gamma and/or LPS in murine macrophage cell lines: role of TNF-alpha. **J. Leukoc. Biol., 64:** 459-66, 1998.

MCKINNEY, L.C.; AQUILLA, E.M.; COFFIN, D.; WINK, D.A.; VODOVOTZ, Y. Ionizing radiation potentiates the induction of nitric oxide synthase by interferon-gamma and/or lipopolysaccharide in murine macrophage cell lines. Role of tumor necrosis factor-alpha. **Ann. N. Y. Acad. Sci., 899:** 61-8, 2000.

MEJORADA, G. S; ROSALES, C. Signal transduction by immunoglobulin Fc receptors. **J. Leukoc. Biol., 63:** 521-533, 1998.

MIZEL, S.B. The interleukins. **FASEB J. 3:** 2379-2388, 1989.

MOHAN, N.; MELTZ, M.L. Induction of nuclear factor κ B after low-dose ionizing radiation involves a reactive oxygen intermediate signaling pathway. **Radiat. Res., 140:** 97-104, 1994.

OPPENHEIM. J.J.; MATSUSHIMA, K.; YOSHIMURA, T.; LEONARD, E.J.; NETA, R. Relationship between interleukin 1 (IL1), tumor necrosis factor (TNF) and a neutrophil attracting peptide (NAP-1). **Agents Actions, 26:** 134-40, 1989.

PALMER, R.M.; FERRIGE, A.G.; MONCADA, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature, 11-17:** 524-526, 1987.

PANÉS, J.; GRANGER, D.N. Leukocyte-endothelial cell interactions: molecular

mechanisms and implications in gastro-intestinal disease. **Gastroenterology**, **114**: 1066-1090, 1998.

PANÉS, J.; PERRY, M.; GRANGER, D.N. Leukocyte-endothelial cell adhesion: avenues for therapeutic intervention. **Br. J. Pharmacol.**, **126**: 537-550, 1999.

PAPADIMITRIOU J.M.; SPECTOR, W.G. The origin, properties and fate of epithelioid cells. **J. Pathol.**, **105**: 187-203, 1971.

PEARSON, M.J.; LIPOWSKY, H.H. Influence of erythrocyte aggregation on leukocyte margination in postcapillary venules of rat mesentery. **Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol.**, **279**: H1460-H1471, 2000.

RABINOVITCH, M. Macrophage spreading in vitro. In: **Mononuclear Phagocytes in Immunity Infection and Pathology**. Van Furth, R., ed., Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1975, p.369-385.

RAMPART, M. Neutrophil-endothelial cell interactions. In: **The handbook of immunopharmacology. Immunopharmacology of Microcirculation**. Ed. Brain, S.D. San Diego, Academic Press: 77-107, 1994.

ROBBINS, R.A.; GRISHAM, M. B. Molecules in focus. Nitric oxide. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, **29**: 857-860, 1997.

ROEDEL F, KLEY N, BEUSCHER HU, HILDEBRANDT G, KEILHOLZ L, KERN P, VOLL R, HERRMANN M, SAUER R. Anti-inflammatory effect of low-dose X-irradiation and the involvement of a TGF-beta1-induced down-regulation of leukocyte/endothelial cell adhesion. **Int. J. Radiat. Biol.**, **78**: 711-9, 2002.

ROHN, T.T., NELSON, L.K.; SIPES, K.M.; SWAIN, S.D.; JUTILA, K.L. and QUINN, M.T. Priming of human neutrophils by peroxynitrite: potential role in enhancement of the local inflammatory response. **J. of Leukoc. Biol.**, **65**: 59-70; 1999.

SANS, E.; DELACHANAL, E.; DUPERRAY, A. Analysis of the roles of ICAM-1 in neutrophil transmigration using a reconstituted mammalian cell expression model: implication of ICAM-1 cytoplasmic domain and Rho-dependent signaling pathway. **J. Immunol.**, **166**: 544-51, 2001.

SCHAUE, D.; MARPLES, B.; TROTT, K.R. The effects of low-dose X-irradiation on the oxidative burst in stimulated macrophages. **Int. J. Radiat. Biol.**, **78**: 567-76, 2002.

SNICK, J.V. Interleukin-6: an overview. **Annu. Rev. Immunol.**, **8**: 253-278, 1990.

SPRINGER, T.A. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. **Cell**, **28**: 301-14, 1994.

STAHL, P.D.; EZEKOWITZ, R.A. The mannose receptor is a pattern recognition receptor involved in host defense. **Curr. Opin. Immunol.**, **10**: 50-5, 1998.

STYLIANOU, E.; SAKLATVALA, J. Molecules in Focus Interleukin-1. **Intern. J. Biochem. Cell Biol.** **30**: 1075-1079, 1998.

TILG, H.; DINARELLO, C.A.; MIER, J.W. IL-6 and APPs: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. **Immunol. Today** **18**: 428-432, 1997.

VESTWEBER, D.; BLANKS, J.E. Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. **Physiol. Rev.**, **79**: 181-213, 1999.

WALZOG, B.; WEINMANN, P.; JEHLONSKI, F.; SCHARFFETTER-KOCHANNEK, K.; BOMMERT, K.; GAEHTGENS, P. A role for β_2 integrins (CD11/CD18) in the regulation of cytokine gene expression of polymorphonuclear neutrophils during the inflammatory response. **FASEB** **13**: 1855-1865, 1999.

WILES, M.E.; WELBORN, R.; GOLDMAN, G.; HECHTMAN, H.B.; SHEPRO, D. Tromboxane-induced neutrophil adhesion to pulmonary microvascular and aortic endothelium is regulated by CD18. **Inflammation**, **15**: 181-197, 1991.

WILLIAMS, K.L.; HIGGS, G.A. Eicosanoids and inflammation. **J. Pathol.**, **156**: 101-10, 1988.

ZHENG, L.; ZOMERDIJK, T.P.L.; VAN DER BARSELAAR, M.T.; GEERTSMA, M.F.; VAN FURTH, R.; NIBBERING, P.H. Arachidonic acid, but not its metabolites, is essential for Fc γ R-stimulated intracellular killing of *Staphylococcus aureus* by human monocyte. **Immunology**, **96**: 90-97, 1999.

ZIMMERMAN, G.A.; PRESCOTT, S.M.; McINTYRE, T.M. Endothelial cell interactions with granulocytes: tethering and signaling molecules. **Immunol Today**, **13**: 93-100, 1992.