

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

SEMINARIOS APLICADOS

**CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E FUNCIONAIS DAS  
CÉLULAS ENDOTELIAIS:**  
Revisão da Literatura

Juliana Carvalho de Almeida Borges  
Orientador: Eugênio Gonçalves de Araújo

GOIÂNIA  
2011

JULIANA CARVALHO DE ALMEIDA BORGES

**CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E FUNCIONAIS DAS  
CÉLULAS ENDOTELIAIS:**  
Revisão da Literatura

Seminário apresentado junto à Disciplina  
Seminários Aplicados do Programa de  
Pós-Graduação em Ciência Animal da  
Escola de Veterinária e Zootecnia da  
Universidade Federal de Goiás  
Nível: Mestrado

**Área de concentração:**  
Patologia, Clínica e Cirurgia Animal

**Linha de Pesquisa:**  
Patobiologia animal, experimental e  
comparada

**Orientador:**

Prof. Dr. Eugênio Gonçalves de Araújo – EVZ/UFG

**Comitê de Orientação:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura – EVZ/UFG  
Dr<sup>a</sup>. Yandra Cassia Lobato do Prado – EVZ/UFG

GOIÂNIA  
2011

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>2</b>
<b>2.1 Características estruturais das células endoteliais.....</b>	<b>2</b>
<b>2.1.1 A descoberta da célula endotelial.....</b>	<b>2</b>
<b>2.1.2 Morfologia da célula endotelial.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.3 Especializações da membrana da célula endotelial.....</b>	<b>6</b>
<b>2.2 Aspectos funcionais das células endoteliais.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2.1 Endotélio e angiogênese.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2.2 Endotélio e inflamação.....</b>	<b>18</b>
<b>2.2.3 Endotélio e neoplasias.....</b>	<b>23</b>
<b>2.2.4 Endotélio e estresse oxidativo.....</b>	<b>27</b>
<b>3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>30</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>31</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Fotomicrografia de uma secção de uma veia. Todos os vasos sanguíneos são revestidos por células endoteliais (setas). Fonte: JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2004..... 4
- Figura 2 Representação esquemática das junções intercelulares. Fonte: BENJAMIN (2001)..... 7
- Figura 3 Representação esquemática das junções de aderência (JA). VE-caderina é estabilizada por íons de cálcio e por conexões intracelulares para o citoesqueleto de actina:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$  e p120-catenina conectam a VE-caderina aos microfilamentos de actina. Proteínas de outras junções, como JAM e PECAM-1, contribuem para estruturar a JA. Fonte: RISAU, 1997..... 8
- Figura 4 Representação esquemática das junções *gap* fornecendo passagens entre o interior de células adjacentes..... 12
- Figura 5 Representação do processo angiogênico, destacando-se alguns integrantes do endotélio vascular. Fonte: FERRARA, 2009..... 16
- Figura 6 Fotomicrografia evidenciando diapedese de neutrófilos em apendicite. Neutrófilo (circulado) passando através de poro (P) aberto entre as paredes endoteliais de células adjacentes (HE, 1000X). Fonte: Corrêa, 2000..... 21

## LISTA DE ABREVIATURAS

Ang-1 – Angiopoetina

AKT – Agamaglobulinemia tirosina cinase

Cx – Conexina

EDCFs – Fatores de contração derivados do endotélio

EDRF – Fator de relaxamento derivado do endotélio

e-NOS – enzimas óxido-nítrico-sintase

EPCs – Células progenitoras endoteliais

FGF – Fator de crescimento de fibroblastos

GMPc – Guanosina monofosfato cíclica

HIF-1 – Fator de transcrição induzido por hipoxia

HIF-1 – Fator de transcrição induzido por hipoxia

ICAM – Molécula de adesão intercelular

IL – Interleucina

JA – Junção de aderência

JAM – Molécula de adesão juncional

LDL – lipoproteína de baixa densidade

LT-B4 – Leucotrieno B4

MAPK – Proteína quinase ativada por mitógenos

mm – milímetro

NO – óxido nítrico

PAF – Fator ativador plaquetário

PECAM – Molécula de adesão plaquetária

RNAm – RNA mensageiro

TAF – Fator angiogênico tumoral

TNF-  $\alpha$  – Fator de necrose tumoral- $\alpha$

TRIC – Tricelulina

VE-caderina – Caderina de endotélio vascular

VEGF – Fator de crescimento de endotélio vascular

ZO – Zônula de oclusão

## 1 INTRODUÇÃO

As células endoteliais formam o endotélio vascular, um epitélio de revestimento simples e plano que recobre a face interna dos vasos sanguíneos e coração. Conhecimentos acumulados nas últimas décadas evidenciaram que o endotélio não é apenas uma barreira entre o lúmen vascular e os constituintes das paredes dos vasos, mas um tecido endócrino, metabolicamente ativo e capaz de liberar várias substâncias reguladoras do tônus e do crescimento vascular, assim como de modular a coagulação e inflamação (BRITTEN, 1999).

As diversas funções realizadas pelo endotélio requerem uma efetiva capacidade de comunicação intercelular que ocorre por meio dos diferentes tipos de junções existentes nas membranas das células endoteliais, como as junções de adesão, vedação e junções *gap* (GUTSTEIN et al., 2003).

O desenvolvimento e a manutenção dos tecidos orgânicos demandam oxigênio e nutrientes, os quais são transportados através dos vasos sanguíneos, essa eficiência é mantida por meio da angiogênese. Além disso, a progressão de vários processos fisiopatológicos está diretamente relacionada ao aumento anormal das redes vasculares (RISAU, 1997; HOEBEN et. al., 2004).

A inflamação é um mecanismo de proteção do organismo em resposta à injúria. O endotélio vascular contribui consideravelmente para o processo inflamatório, assim como é afetado por ele. Quando o processo inflamatório agudo não é completamente resolvido, ocorre a inflamação crônica típica de doenças auto-imunes (TIZARD, 2002).

Em condições fisiológicas, a manutenção do tônus vascular e da homeostase intravascular é realizada pelo endotélio. Ele produz substâncias vasodilatadoras e também substâncias vasoconstritoras que atuam equilibradamente. O óxido nítrico atua como protetor da parede vascular e quando produzido em excesso ou em quantidades insuficientes pode desencadear processos patológicos cérebro e cardiovasculares, que estão acometendo cada vez mais pessoas no mundo (SNYDER & BREDET, 1992).

Diante do exposto, a compreensão tanto da estrutura quanto das inúmeras funções do endotélio vascular é fundamental para a prevenção de doenças e o desenvolvimento de novas ações terapêuticas.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Características estruturais das células endoteliais**

#### **2.1.1 A descoberta da célula endotelial**

A primeira descrição de endotélio foi atribuída a MALPIGHI em 1660. A palavra endotélio foi introduzida pelo anatomista alemão His, em 1865, combinando as palavras gregas “endon”, significando interior, e “thele”, significando mamilo, subentendendo-se revestimento com características papilares. Essa terminologia foi proposta para se contrapor a "epitélio", termo criado para descrever a camada de células que recobre as papilas (mamilos) da língua. Hoje, o termo endotélio é empregado para descrever o revestimento interno do sistema circulatório (EVORA, 1999).

Historicamente, a célula endotelial foi um dos primeiros tipos de células a ser cultivada. Em 1921, Lewis cultivou células endoteliais extraídas de tecidos e observou que elas possuíam capacidade de formar vasos. Em 1961 Robertson aplicou técnicas de clonagem para isolar diferentes tipos de células a partir de explante arterial, enquanto em 1963 Maruyama e, em 1966, Freyer e colaboradores colhiam células endoteliais do revestimento interno da veia do cordão umbilical humano e da artéria, respectivamente, por meio de digestão por tripsina. No entanto, somente em 1973 que o pesquisador Jaffe e seus colaboradores foram bem sucedidos com a manutenção de cultivos de células endoteliais, obtendo uma população homogênea (MURRAY & KOPECH, 1953; THORIN & SHREEVE 1998).

Até o final dos anos 60, o endotélio foi considerado como uma barreira celular relativamente inerte, não-trombogênica. No entanto em 1966, Florey desafiou essas crenças, afirmando que o endotélio era mais que uma película fina nucleada. As células endoteliais normais mantêm um equilíbrio vascular entre indução e inibição de crescimento, vasoconstrição e vasodilatação, adesão e não adesão, coagulação e anticoagulação. Desse modo, o endotélio modula o tónus



vasomotor, regula a estrutura vascular, controla o fluxo sanguíneo e é mediador das respostas, inflamatória e imunológica (THORIN & SHREEVE 1998).

### **2.1.2 Morfologia da célula endotelial**

No início do desenvolvimento embrionário, durante a gastrulação, as células que invaginam através da linha primitiva formam a mesoderme. Estas novas células mesodérmicas orientam-se imediatamente em várias regiões, formando a mesoderme axial, paraxial, intermédia, lateral e posterior. A mesoderme posterior do embrião dará origem à mesoderme extra-embriónica, que irá originar a placenta e o saco vitelínico. Células hematopoiéticas e endoteliais possuem um precursor em comum, o hemangioblasto. No saco vitelínico, esses hemangioblastos formam agregados celulares, chamados de ilhotas sanguíneas. Nas células periféricas desse agregado encontram-se os angioblastos que irão se diferenciar em células endoteliais, enquanto que as células do centro se diferenciarão em células hematopoiéticas (RISAU, 1997).

O endotélio classifica-se como um tecido de revestimento pavimentoso simples, onde as células geralmente são achatadas e dispostas em uma única camada (Figura 1). O núcleo é saliente e central. Ocorrem em locais do corpo onde a proteção mecânica é pouco necessária. É um revestimento que permite a passagem de substâncias como, por exemplo, hormônios, hemácias, leucócitos dentre outras moléculas (BANKS, 1992).

As células endoteliais apresentam-se justapostas, entre as quais há pouca substância extracelular, e seu longo eixo orienta-se na direção do fluxo sanguíneo. A superfície de contato entre as células e o tecido conjuntivo subjacente é chamada lâmina basal, a qual é composta por colágeno tipo IV, proteoglicanas e as glicoproteínas laminina e entactina. Além de papel estrutural e filtração de membranas, a lâmina basal realiza, entre suas funções, a regulação da proliferação e diferenciação celular, ligando-se com fatores de crescimento, influencia na polaridade celular, no metabolismo celular, organiza as proteínas nas membranas plasmáticas de células adjacentes afetando a transdução de

sinais através dessas membranas e serve como caminho e suporte para a migração de células (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

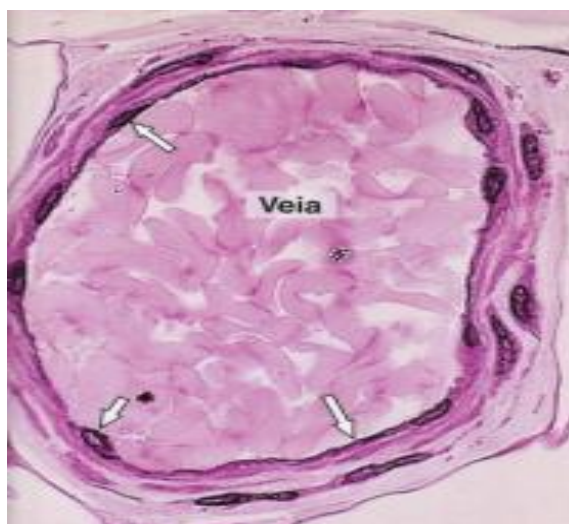


Figura 1 – Fotomicrografia de uma secção de uma veia. Todos os vasos sanguíneos são revestidos por células endoteliais (setas).

Fonte: JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2004.

Usualmente, o núcleo da célula endotelial se projeta para dentro da luz capilar, seu citoplasma contém poucas organelas, representadas principalmente por um pequeno aparelho de Golgi, mitocôndrias e polirribossomos livres e algumas cisternas de retículo endoplasmático rugoso (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

Está se tornando cada vez mais evidente que as células endoteliais são heterogêneas e podem variar de função, fenótipo, composição antigênica, propriedades metabólicas, e em suas respostas aos fatores de crescimento, pois constantemente moldam-se às necessidades do tecido local, adaptando-se a microambientes diferentes. Enquanto a heterogeneidade entre as espécies animais tem sido relatada, são interessantes as diferenças observadas dentro das próprias espécies, onde as células endoteliais diferem dependendo do tamanho, função e localização do vaso, e podendo até mesmo variar dentro de segmentos discretos de um único ciclo da microcirculação (RHODIN, 1968; GRAIER et al, 1996).

Foram relatados diferentes fenótipos na estrutura do citoesqueleto, na fibronectina da matriz e na expressão de moléculas de adesão célula-célula, nas

células endoteliais. A heterogeneidade tem sido relatada entre o endotélio microvascular, *in situ*, e os grandes vasos, assim como o endotélio microvascular de diferentes leitos vasculares. Embora as células endoteliais sejam tipicamente orientadas longitudinalmente na direção do fluxo sanguíneo, em todos os vasos, as células que revestem os microvasos são achatadas e alongadas, ao passo que o revestimento dos grandes vasos é poligonal, embora ambos os tipos de células tenham sido encontradas ao mesmo tempo. Endotélio contínuo é uma característica dos vasos do cérebro, retina e capilares musculares, enquanto endotélio fenestrado é encontrado na glândula endócrina e no rim. As vênulas têm a maioria e as arteríolas, a minoria, do sistema juncional elaborado, enquanto os capilares não têm comunicações juncionais. As células endoteliais das artérias são mais espessas do que as dos capilares e veias. Ocorrem também diferenças no número de corpos de Weibel-Palade, que são vesículas intracitoplasmáticas de armazenagem do fator VIII da coagulação. Corpos de Weibel-Palade são encontrados em pouca quantidade nos microvasos, principalmente no endotélio arteriolar, e eles estão em maior número nos vasos sanguíneos que se encontram perto do coração (WEIBEL & PALADE, 1964; SIMIONESCU & SIMIONESCU, 1977; CORNHILL et al., 1980).

O comportamento de células endoteliais de vasos de grande calibre, em cultura, é muito semelhante ao seu comportamento *in vivo*. Isso não ocorre para células endoteliais microvasculares, e pelo menos cinco fenótipos foram observados – em formato de paralelepípedos, polimórficos, aparência de fase densa, fusiforme e redondo – em microscopia de contraste de fase. Esses fenótipos têm sido considerados, por alguns autores, como artefatos morfológicos cultura-dependentes, e eles propõem que tais heterogeneidades morfológicas podem representar diferenças inatas mantidas em culturas (RONE & GOODMAN, 1987; SPANEL-BOROWSKI & FENYVES, 1994).

Diferenças nos tamanhos celulares, entre células endoteliais cultivadas de grandes vasos, foram observadas em indivíduos de mesma espécie. Em 1994, Ohbayashi e colaboradores relataram que as células endoteliais de aortas de suínos foram 30% menores que as células das artérias coronárias. Evidências indiretas também sugerem que as células endoteliais humanas isoladas de artérias cerebrais são maiores do que as isoladas de vasos periféricos do mesmo

tamanho. Em 1995, Mebazaa e colaboradores relataram que as células endoteliais endocárdicas crescem a uma densidade 25% maior do que células endoteliais vasculares, e esta densidade está associada a um aumento na sobreposição celular e interdigitações. Além disso, observou-se que células endoteliais de origem cerebral têm um período de tempo de replicação mais longo do que as células de um vaso periférico (THORIN et al., 1997).

Embora *in situ* o endotélio de artérias e veias geralmente estejam em um estado inativo durante toda a vida de um adulto normal e saudável, há evidências de que, em alguns vasos, as células endoteliais possam se tornar plásticas com respeito à capacidade proliferativa e de diferenciação. O crescimento da célula endotelial é outro parâmetro que pode variar nas culturas. Por exemplo, a proliferação endotelial de veias e capilares é essencial para a vascularização de membros transplantados e tumores. No entanto, o endotélio de grandes vasos não participa da neovascularização. Isto pode ser devido, pelo menos em parte, a diferenças na expressão de receptores de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), os quais são rapidamente induzidos em células endoteliais de vênulas e capilares, mas não em células endoteliais arteriais (FERRARA et al., 1992; RISAU, 1997; THORIN et al., 1997).

### **2.1.3 Especializações da membrana da célula endotelial**

Diversas funções especializadas do endotélio requerem uma efetiva capacidade de comunicação entre as células endoteliais e as células da parede vascular (POLACEK et al., 1997).

A maioria das células possui dois diferentes mecanismos de comunicação intercelular. A comunicação mediada por fatores de crescimento ou por hormônios é uma delas e, neste caso, as células não precisam ter contato direto. No segundo mecanismo, para que haja a comunicação intercelular, as células precisam estar em contato direto umas com as outras, sendo essa adesão, em parte, devida a ação coesiva de membros da família de glicoproteínas transmembrana, chamadas caderinas. Além desse efeito coesivo, as membranas exibem lateralmente várias especializações que constituem as junções

intercelulares (YAMASAKI, 1990; GOODENOUGH et al., 1996; JUNQUEIRA et al., 2004).

Os diferentes tipos de junções existentes em células de animais vertebrados são as junções de adesão celular (junções de aderência e desmossomos), as junções de vedação (zônula de oclusão) e as junções de comunicação (junções gap) (Figura 2). As junções de aderência (JA) e os desmossomos promovem a adesão intercelular, as junções de vedação impedem a livre movimentação de moléculas entre células, enquanto que as junções comunicantes mediam o trânsito de água e moléculas entre células. Ambos os tipos de junções estão presentes nas células endoteliais (GUTSTEIN et al., 2003).

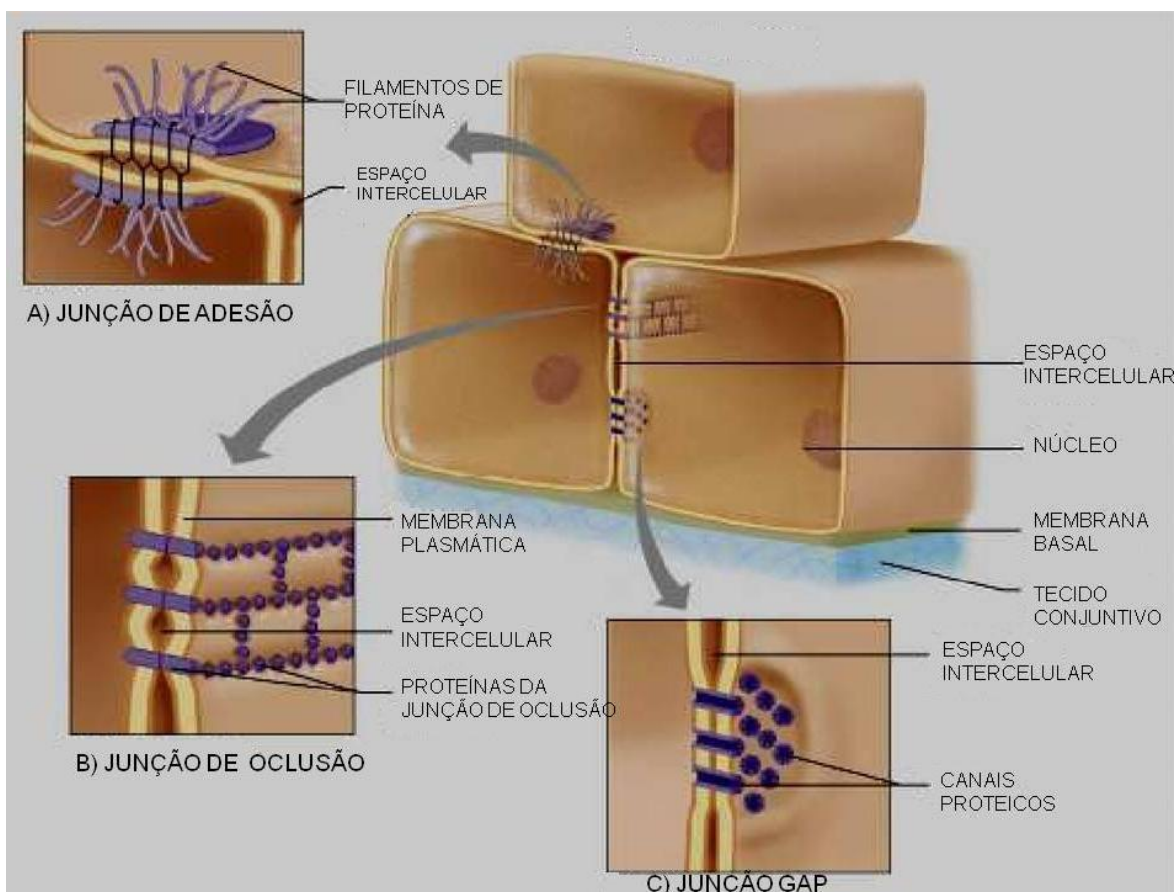


Figura 2 – Representação esquemática das junções intercelulares.

Fonte: FERRARA, 2009.

Por meio das junções de aderência, as células são mantidas juntas por ligações dependentes de cálcio formadas entre os domínios extracelulares de moléculas de caderina que transpõe o espaço entre células vizinhas. A VE-caderina (VE= *vascular endotelial*) é exclusiva de endotélios, sendo que essa

proteína é considerada inclusive como um marcador de endotélio. O domínio citoplasmático dessas caderinas é ligado por meio das proteínas, denominadas cateninas, a uma variedade de proteínas citoplasmáticas, incluindo filamentos de actina do citoesqueleto. Elas conectam o meio externo ao citoesqueleto de actina e fornecem uma via potencial para sinais a serem transmitidos do exterior da célula ao citoplasma (KARP, 2005).

A VE-caderina limita a migração celular e participa de inibição de contato durante o crescimento de células endoteliais, o que requer a ligação da VE-caderina com as cateninas. O complexo VE-caderina/catenina é muito dinâmico e sua composição altera-se rapidamente de acordo com o estado funcional das células. Nos estados iniciais da formação da junção ou quando as células migram, a VE-caderina está altamente fosforilada em tirosina e principalmente ligada à catenina p120 e à  $\beta$ -catenina (liga a caderina à  $\alpha$ -catenina, as quais não se ligam diretamente), somente pequena quantidade do complexo está ligada ao citoesqueleto. Quando as junções se estabilizam, os resíduos de tirosina da VE-caderina são desfosforilados e a catenina p120 e a  $\beta$ -catenina tendem a se destacar do complexo e serem substituídas por placaglobina ( $\gamma$ -catenina). Tais alterações são acompanhadas por uma associação mais forte entre o complexo caderina-catenina e à actina (Figura 3) (LAMPUGNANI, 1997).

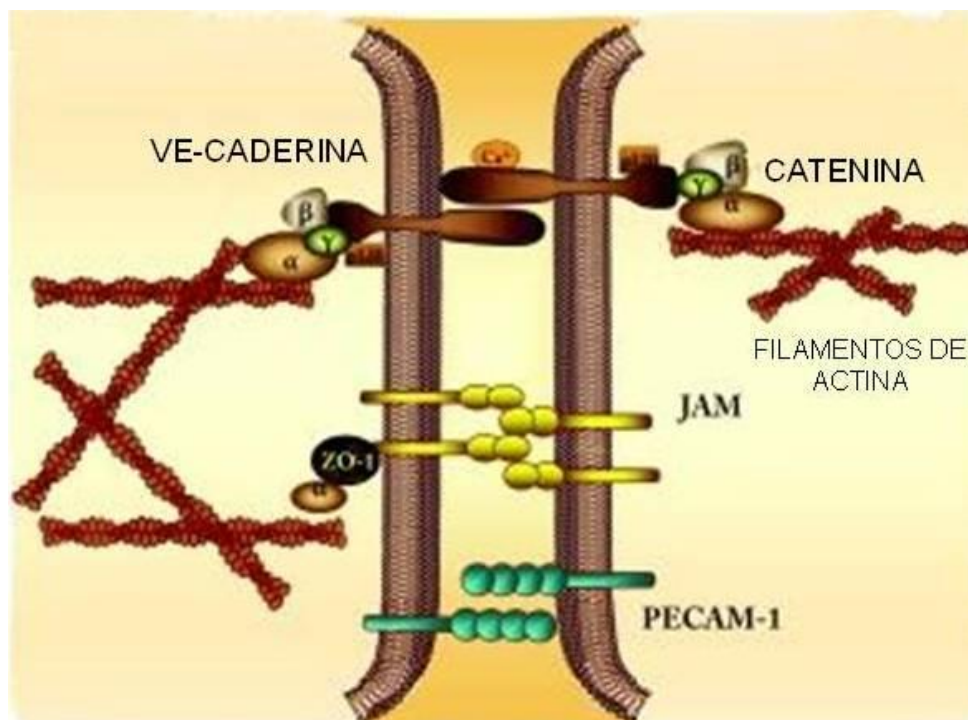


Figura 3 – Representação esquemática das junções de aderência (JA). VE-caderina é estabilizada por íons de cálcio e por conexões intracelulares para o citoesqueleto de actina:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$  e p120-catenina conectam a VE-caderina aos microfilamentos de actina. Proteínas de outras junções, como JAM e PECAM-1, contribuem para estruturar a JA.

Fonte: YUAN & RIGOR, 2010.

Processos inflamatórios agudos e potencialmente os crônicos podem provocar alterações juncionais. Em 2001, Bianchi e colaboradores demonstraram, utilizando um modelo experimental de circulação extracorpórea em suínos, a influência da injúria de isquemia e reperfusão sobre a integridade das junções de aderência do miocárdio. Foi registrada ruptura das junções associada à reperfusão e edema.

Os desmossomos são junções adesivas em forma de disco, numerosos em tecidos propensos ao estresse mecânico. Assim como as junções de adesão, os desmossomos contêm caderinas que ligam duas células através de um estreito espaço extracelular, mas que têm uma estrutura de domínio diferente daquela das junções de adesão e são referidas como desmogleínas e desmocollinas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

As membranas de cada célula vizinha na região do desmossomo aparecem paralelas e separadas por um espaço de 30nm a 50nm. No lado citoplasmático de cada célula adjacente, existe uma placa eletrodensa constituída de material protéico cuja proteína principal é chamada de desmoplaquina. Essas placas são conectadas aos respectivos citoplasmas por filamentos intermediários que formam uma verdadeira rede, ligando-se a vários desmossomos. Ainda nessa região, oligoproteínas transmembrânicas especiais, chamadas glicoproteínas de ligação, se prendem à placa de desmoplaquina por um lado e reagem entre si por meio de seus domínios extracelulares, mantendo assim juntas as membranas plasmáticas adjacentes. Essas glicoproteínas de ligação pertencem à família das caderinas e são as desmogleínas e desmocollinas. Entre as células endoteliais dos vasos da retina, por exemplo, existem zonas de oclusão entremeadas com desmossomos (HIRSCHI et al., 1997; ALBERTS et al., 2004).

Nas células endoteliais também se encontram estruturas elaboradas denominadas junções intercelulares de oclusão. Elas apresentam permeabilidade variável a macromoléculas, de acordo com o tipo de vaso sanguíneo considerado, e desempenham um papel fisiológico tanto em condições normais quanto em patológicas. Essas estruturas localizam-se na região apical da célula endotelial e funcionam como uma vedação que regula a difusão lateral entre os domínios basolateral e apical da membrana plasmática, formando uma barreira semipermeável ao fluxo paracelular (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004; CARDOSO et al., 2010).

Estudos recentes têm relatado dois tipos de junção de oclusão: a junção bicelular, que se apresenta como pontos de anastomose entre membranas plasmáticas de duas células adjacentes, quando observada por microscopia eletrônica, e a junção tricelular, que se apresenta como pontos de contato entre três células, sendo formada por três pares de elementos de selagem centrais (CEREIJIDO et al., 2008).

Claudinas, ocludinas (marvelD1), tricelulinas (marvelD2), marvelD3 e moléculas de adesão juncional (JAM) são proteínas integrais da membrana que interagem com as membranas de células vizinhas, formando uma barreira. As proteínas transmembrana das junções são freqüentemente agrupadas de acordo com o número de vezes que abrangem a membrana plasmática: JAM é uma



proteína transmembrana de passagem única, enquanto ocludinas, claudinas, tricelulinas (TRIC) e marvelD3 são proteínas de passagem quádrupla (CARDOSO et al., 2010).

A TRIC, uma proteína e identificada por Ikenouchi e colaboradores em 2005, pertence às junções de oclusão e encontra-se predominantemente concentrada nos contatos tricelulares, apesar de também estar presente nas junções bicelulares. Esta proteína pertence à família das proteínas transmembrana, como a ocludina, possuindo cerca de 32% de homologia com a mesma (ISHIBASHI, et al., 1993).

As ocludinas foram as primeiras proteínas integrais de membrana a serem identificadas nas junções de vedação. Estudos têm revelado a atuação da ocludina em diferentes eventos celulares relacionados à carcinogênese. Os experimentos usando hepatócitos de camundongos deficientes para ocludina mostraram que essa proteína inibe a apoptose através da ativação das vias MAPK – enzimas reguladas por mitógenos que atuam na modificação pós-traducional de proteínas – e AKT – agamaglobulinemia tirosina cinase proteína que modula a função de vários substratos envolvidos na regulação da sobrevivência, progressão e crescimento celular – demonstrando seu papel na sinalização celular, além da sua atuação como molécula de adesão (FELDMAN et al., 2005).

As claudinas foram identificadas como principais constituintes dos fios das junções bicelulares. Estudos *in vitro* mostraram que elas são capazes de induzir a formação de junções de vedação e que individualmente variam em sua capacidade de formar uma barreira mais estreita ou frouxa. Claudina-1 e claudina-5 estão associadas com a manutenção da função normal da barreira hematoencefálica. Alterações nos níveis de expressão das claudinas podem causar perturbações na funcionalidade da barreira paracelular e promover potencial oncogênico. Elas também são consideradas bastante importantes na angiogênese (VORBRODT & DOBROGOWSKA, 2003).

A molécula de adesão juncional (JAM), outra proteína integral de membrana, está envolvida na adesão intercelular entre as células das barreiras, bem como na adesão entre as barreiras e as células do sistema imunológico. Proteínas JAM são membros da superfamília de imunoglobulinas e são

compostas por JAM-1, JAM-2 e JAM-3. Ambas as proteínas JAM-2 e JAM-3 controlam a transmigração de leucócitos, outro importante aspecto das funções da barreira (OGASAWARA et. al., 2009).

MarvelD3 é uma terceira proteína de vedação associada ao domínio MARVEL. Acredita-se que marvelD3 não é essencial para a montagem da junção e a formação de uma barreira funcional de difusão paracelular. Por outro lado, é um determinante da permeabilidade paracelular, mas os mecanismos responsáveis por essa propriedade têm que ser identificados. Além disso, marvelD3 é capaz de compensar parcialmente a perda da ocludina ou da TRIC, mas, eles não se complementam funcionalmente (STEED et al., 2009).

Um tipo de junção de comunicação, chamada junção *gap* é um canal formado por um cilindro, denominado conexon, onde cada um deles é formado pelo agrupamento de seis cilindros menores, chamados de conexinas (Cx). Essa junção foi relatada pela primeira vez, na década de 60 por Kanno e Loewenstein com a finalidade de descrever regiões especializadas, onde as membranas plasmáticas de duas células adjacentes se reaproximam, sem se fundirem.

A junção *gap* é a única forma de comunicação direta de sinais entre células vizinhas. Essa junção é considerada mecanismo crucial para a manutenção da homeostasia celular, além de várias outras atividades como a regulação do crescimento e diferenciação celular, resposta vasoativa das células endoteliais e condução elétrica nos tecidos excitáveis (STEINBERG, 1998; YAMASAKI et. al., 1998).

Estudos ultraestruturais, funcionais e fisiológicos a fim de identificar e caracterizar as conexinas, mostraram que as junções formam poros que permitem a passagem de moléculas sinalizadoras como hormônios, AMP cíclico, íons dentre outros, que podem propagar informações entre células vizinhas, integrando as funções celulares nos tecidos (FIGURA 4) (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

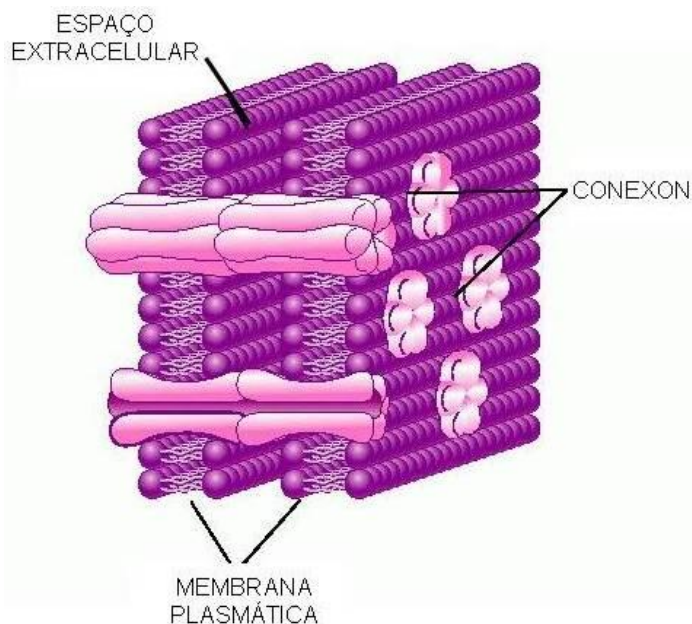


Figura 4 – Representação esquemática das junções *gap* fornecendo passagens entre o interior de células adjacentes.

Fonte: RISAU, 1997.

Uma das maiores contribuições no conhecimento das junções *gap*, no transcorrer dos últimos anos, foi a demonstração de que diferentes conexinas poderiam estar implicadas na formação de um mesmo canal. As constituições diferentes dos conexons contribuem para a seletividade dos canais. A presença das conexinas 37, Cx40, Cx43 e Cx45 foram constatadas na parede vascular através da detecção de RNAm, proteínas e outros métodos indiretos (LARSON et al., 1995; KRUGER et al., 2002).

As células musculares lisas da parede vascular expressam predominantemente a Cx43, e em alguns momentos a Cx40. As células endoteliais expressam as Cx37, Cx40, Cx43. As funções especializadas do endotélio requerem uma comunicação intercelular entre as próprias células endoteliais, entre elas e os monócitos e também entre células endoteliais e a parede vascular (LITTLE et al., 1995).

Existem evidências de que as conexinas também exercem papel importante na transmigração de linfócitos através do endotélio. É possível que a sinalização entre as células endoteliais seja modificada em condições patológicas

como na inflamação, em que a migração trans-endotelial é essencial no recrutamento das células para a resolução do processo inflamatório (OVIÉDO-ORTA et al., 2002).

A expressão das Cx37, Cx40 e Cx43 foram estudadas em arteríolas de mesentério de ratos por meio de imunofluorescência. A expressão das Cx40 e Cx43 foi abundante nas maiores arteríolas (30-40um) assim como nas arteríolas terminais e capilares. A Cx37 foi encontrada na maioria, mas não em todas as arteríolas estudadas. Já as vênulas mesentéricas não apresentaram marcação para nenhuma conexina (GUSTAFSSON et al., 2003).

Embora as células endoteliais expressem as Cx37, Cx40 e Cx43 nos grandes vasos como aorta de camundongos, as células endoteliais expressam predominantemente as conexinas 37 e 40. Em estudos com animais deficientes em conexinas 37 e 40, SIMON e MCWHORTER (2002) mostraram a importância dessas proteínas para o desenvolvimento normal e manutenção do sistema vascular de camundongos. Animais que possuíam deficiências das Cx37 e Cx40 morreram após o primeiro dia de nascimento e apresentavam severas anormalidades vasculares em pele, testículos, intestino, estômago e pulmões. Em outro estudo, os mesmos autores verificaram a comunicação intercelular e os níveis das Cx37 e Cx40 em células endoteliais de aorta de camundongos em fase embrionária. Houve diminuição da comunicação intercelular nos animais deficientes da Cx40, sendo que nos animais jovens essa diminuição foi mais acentuada. Não foi observada diferença na comunicação intercelular nos animais deficientes da Cx37, porém, nos animais que apresentavam deficiência das Cx37 e Cx40, a comunicação foi interrompida. A ausência de uma conexina resultou na superexpressão da outra, mostrando uma mútua dependência para máxima expressão no endotélio vascular (PEPPER et al., 1992).

O ácido ribonucléico mensageiro (RNAm) da Cx37 foi identificado em células de diversos órgãos, tais como coração, útero e ovário de rato, coração de camundongo, células endoteliais da veia umbilical de humanos, células endoteliais aórticas de bovinos e célula muscular lisa de aorta de rato. Camundongos com fenótipo deficiente em Cx37 apresentam hemorragia intensa e esterilidade das fêmeas. Cultura de células endoteliais proveniente de aorta bovina e endotélio bovino mostrou altos níveis de RNA das Cx37 e Cx40, porém

na cultura de células endoteliais proveniente de vasos de pequeno calibre da retina somente a Cx43 apresentou alta expressão. Esse resultado mostra mais uma vez que o padrão de expressão das conexinas nas células endoteliais é muito variado (EVANS et al., 2002).

Alguns estudos têm relacionado às conexinas das células endoteliais com diversas patologias vasculares. Em 2000, Meda demonstrou que na hipertensão crônica em ratos há uma alteração da expressão da Cx43 nas células musculares lisas da parede dos vasos, sugerindo que a comunicação entre células mediada pela Cx43 pode contribuir para a regulação da elasticidade da parede vascular, pois em geral, houve aumento da expressão da Cx43 acompanhado por uma maior elasticidade do vaso (EVANS et al., 2002).

Em 2001, Liao e colaboradores relacionaram a expressão da Cx43 com as alterações vasculares. Utilizando camundongos com deleção da Cx43 especificamente nas células endoteliais, verificaram que a não expressão da Cx43 no endotélio provocou hipotensão e bradicardia nesses animais. Sobre a Cx40, camundongos que apresentam deficiência da proteína apresentam arritmia atrial, uma vez que esta conexina está localizada nas células endoteliais principalmente do tecido cardíaco (EVANS et al., 2002).

## **2.2 Aspectos funcionais das células endoteliais**

O endotélio é estruturalmente simples, porém funcionalmente complexo, sendo responsável por diversos processos como homeostase, angiogênese, regulação da pressão arterial, inflamação. O endotélio possui papéis múltiplos e importantes tanto em eventos fisiológicos quanto em fisiopatológicos (BAHIA et al., 2004).

### **2.2.1 Endotélio e Angiogênese**

A angiogênese é um processo fisiológico dos organismos, responsável pelo crescimento, manutenção e maturação dos tecidos vasculares normais. Está

envolvido também em fenômenos patológicos nos quais a neovascularização tem maior importância (LICHTENBERG et al., 1997).

O termo angiogênese foi utilizado pela primeira vez em 1935 por Hertig para descrever a vascularização na placenta. O estudo sistemático da angiogênese teve início com Judah Folkman, e, progressivamente, foram desenvolvidos vários modelos *in vitro* e *in vivo* para o estudo de seus mecanismos moleculares, modulação e a sua importância nos processos fisiológicos e patológicos (FOLKMAN, 1995).

Atualmente, o termo angiogênese tem sido empregado para descrever o crescimento de brotos endoteliais a partir de vênulas pós-capilares preexistentes e para demonstrar os processos de crescimento e remodelamento de uma rede vascular primitiva, até se tornar uma rede complexa. A angiogênese envolve distintas formas de crescimento vascular. Elas têm início com a dilatação de vênulas pré-existentes, as quais podem sofrer brotamento, ou tornarem-se divididas por colunas de células periendothelias, processo denominado intussuscepção, ou por pontes de células transendothelias, as quais dividem o vaso em capilares distintos (CARMELIET, 2000).

No embrião, o plexo vascular primitivo se origina do mesoderma por vasculogênese. Células precursoras indiferenciadas, denominadas angioblastos, diferenciam-se *in situ* em células endoteliais, que se reúnem formando uma rede vascular primitiva. Essa rede consiste numa teia de tubos e sacos de células endoteliais, que posteriormente sofrem remodelamento transformando-se em uma rede vascular madura. O remodelamento envolve a formação de pequenos e grandes vasos, estabelecimento de um fluxo direcional, associações com células murais, denominadas células periendothelias (pericitos e músculo liso), e ajuste da densidade vascular para satisfazer as exigências nutricionais do tecido. As células endoteliais formam as artérias, as veias, os vasos linfáticos e podem gerar pericitos e células musculares lisas da parede vascular (YAMASHITA et al., 2000).

Na fase adulta, novos vasos surgem principalmente por angiogênese, embora a vasculogênese também possa ocorrer. Essa neovascularização acontece pelo recrutamento de células semelhantes aos angioblastos,

denominadas células progenitoras endoteliais (EPCs) da medula óssea (Figura 5) (CONWAY et al., 2001).

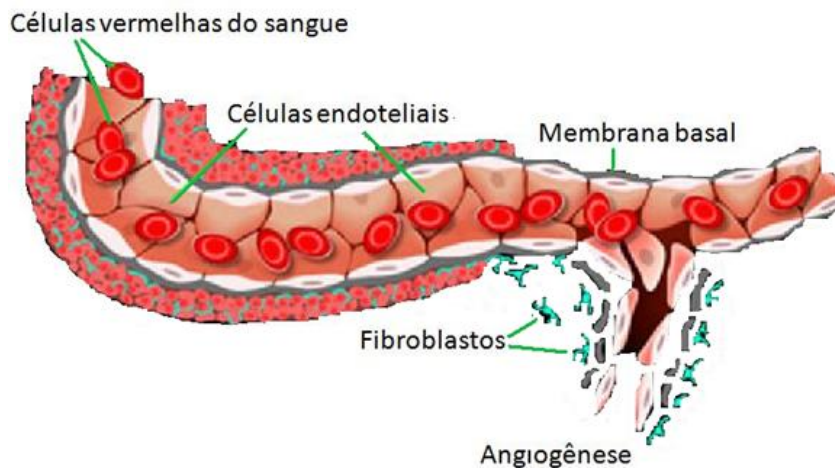


Figura 5 – Representação do processo angiogênico, destacando-se alguns integrantes do endotélio vascular.

Fonte: FERRARA, 2009.

Os mecanismos celulares e moleculares envolvidos no crescimento vascular diferem-se nos vários tecidos. Assim, os neovasos terão aspectos morfológicos e funcionais de acordo com as necessidades de cada tecido. Essa heterogeneidade das células endoteliais é determinada pela expressão e atividade de fatores angiogênicos, tais como fator de crescimento de endotélio vascular (VEGF) e angiopoetina (Ang-1), que variam nos diferentes tecidos, e por fatores angiogênicos órgão-específicos, que determinam a alteração angiogênica. A angiogênese está sujeita a um complexo sistema de controle com fatores angiogênicos e antiangiogênicos. No adulto, há uma predominância dos fatores angiostáticos (antiangiogênese) sobre os angiogênicos. A neovascularização só ocorrerá quando esta relação for inversa (CARMELIET, 2000).

O processo de angiogênese é dividido em quatro etapas. Inicia-se com a degradação da matriz extracelular adjacente, seguida da migração celular, proliferação e reorganização das células endoteliais para formar o tubo capilar. Nos vasos fornecedores de células endoteliais para a formação de brotos capilares, ocorre vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular em resposta ao óxido nítrico e ao VEGF. Logo em seguida, ocorre a degradação da

membrana basal por metaloproteinases para que a célula endotelial consiga migrar em direção à fonte de estímulo angiogênico. Simultaneamente a essa migração ocorre a proliferação celular induzida por fatores de crescimento como o fator de crescimento de fibroblastos (FGF), VEGF A, angiotensinas, efrinas e outros, que irão se ligar aos receptores nas células endoteliais induzindo sua proliferação. As células então se alinham, formando tubos capilares, e depositam a matriz extracelular, contribuindo assim para a morfogênese. Nos vasos em crescimento, é rara a presença de pericitos, células semelhantes à musculatura lisa que envolvem os capilares endoteliais; tais células somente aparecerão nos capilares maduros (FOLKMAN, 1995; ACKERMANN, 2009).

Depois de formados, os vasos sanguíneos são frouxamente ordenados e demandam remodelação para tornarem-se maduros. As células endoteliais irão produzir uma membrana basal madura e células de músculo liso e pericitos podem se formar na parede do vaso. Fibroblastos podem formar fibras adventícias, dependendo de o vaso formado ser um capilar, uma artéria, veia ou um vaso linfático. A proliferação de células endoteliais linfáticas é mediada essencialmente por VEGF C e pelo seu receptor, VEGF R3, assim como a expressão do gene *prox 1* (ACKERMANN, 2009).

A angiogênese está sujeita a um complexo sistema de controle com fatores angiogênicos e antiangiogênicos. Angiostatina, endostatina, trombospodina são alguns exemplos de fatores angiostáticos. Os fatores angiogênicos funcionam como um mecanismo protetor do tecido normal, mas podem promover também formações vasculares patológicas em certas doenças como a psoríase, retinopatia diabética, artrite reumatóide e, principalmente, no crescimento e disseminação de tumores, em que os inibidores de angiogênese têm sido intensamente estudados pela ação quimioterápica contra certos tipos de câncer (BERNARDINI et al., 2003).

A ligação entre inflamação e angiogênese é bastante evidente devido ao número de fatores que modulam ambos os mecanismos. O processo dentro o qual a íntima relação entre angiogênese e inflamação fica estabelecida é durante a reparação tecidual (ROBBINS, 1994).



### 2.2.2 Endotélio e Inflamação

A inflamação tem sido intensamente investigada desde o início da era cristã, quando Celsus definiu os quatro sinais principais ou cardinais da inflamação rubor, tumor, calor e dor. No século XIX, Rudolph Virchow, patologista germânico, retomou um conceito introduzido por Galeno, médico da Roma Antiga, que acrescentou a esses sinais um quinto: a perda de função da parte afetada (WANNMACHER & FERREIRA, 2004).

A inflamação é caracterizada pela resposta dos tecidos à presença de microorganismos ou injúria. É um mecanismo vital de defesa do organismo, contudo, dependendo do grau, a inflamação pode ser muitas vezes mais danosa do que a agressão causada pelo agente. O endotélio vascular contribui consideravelmente para processo inflamatório, assim como é afetado por esse processo. A lesão tecidual, causada por bactérias, trauma, agentes químicos, calor ou por qualquer outro fenômeno, determina a liberação de diversas substâncias que produzem alterações secundárias acentuadas nos tecidos lesionados. As alterações mais marcantes são a vasodilatação com conseqüente aumento do fluxo sanguíneo local, aumento da permeabilidade dos capilares com extravasamento de líquido para o espaço intersticial, coagulação no espaço intersticial devido a grande presença de fibrinogênio e de outras proteínas que migraram dos capilares, além de tumefação celular (GLÜCK et al., 2001; RESCHE-RIGON et al., 2006).

A magnitude da resposta inflamatória é crucial ao organismo. Assim como a insuficiência nesta resposta (ou imunodeficiência) pode levar à infecção generalizada, a resposta excessiva pode causar prejuízo ao organismo. O equilíbrio homeostático é restabelecido por uma resposta altamente conservada de contra-resposta à inflamação, o processo antiinflamatório. O tempo de duração e a intensidade da inflamação determinam diferentes graus ou fases de transformação nos tecidos, caracterizando uma inflamação como sendo, por exemplo, do tipo agudo ou crônico (TRACEY, 2002; FALLAVENA et al., 2009).

Após a injúria, ocorre uma constrição transitória das arteríolas locais, seguida imediatamente pela dilatação de todos os pequenos vasos sanguíneos da área acometida, resultando no aumento do fluxo sanguíneo para o tecido

lesado. Quando os vasos sanguíneos se dilatam, aumentam sua permeabilidade, de forma que o fluido se move do sangue para os tecidos, nos quais provoca edema e inchaço. Ao mesmo tempo em que essas mudanças estão ocorrendo no sangue, estão acontecendo as resposta celulares. As mudanças nos vasos sanguíneos permitem aos neutrófilos e monócitos aderirem às células endoteliais. Se os vasos sanguíneos forem danificados, então as plaquetas também podem se ligar e liberar fatores vasoativos e de coagulação. Após aderirem às paredes dos vasos, os leucócitos emigram para o interior dos tecidos adjacentes, pela compressão através das fendas entre as células endoteliais (TIZARD, 2002).

Os leucócitos aderem ao epitélio vascular, inserem seus pseudópodos entre as células e se comprimem entre as células endoteliais e a membrana basal. Em seguida, eles se movem do interior do fluido tecidual sob a influência de moléculas quimiotáxicas. Pelo fato de os neutrófilos serem as células mais móveis de todos os leucócitos sanguíneos, essas células são as primeiras a chegarem ao tecido danificado. Monócitos se movem mais vagarosamente e chegam mais tarde. Essas células são atraídas por moléculas quimiotáxicas aos locais de crescimento bacteriano e ao tecido danificado. Lá eles fagocitam e destroem qualquer material estranho. Os monócitos se transformam em macrófagos inflamatórios e removem o tecido morto e em processo de morte. O primeiro passo na migração dos neutrófilos é a aderência às paredes dos vasos sanguíneos pequenos. Normalmente, os neutrófilos flutuam no sangue e não se ligam às células endoteliais. A ligação resulta quando as moléculas de aderência são expressas pelas moléculas endoteliais. Essa expressão é desencadeada por produtos bacterianos, tais como lipopolissacarídeos, ou por moléculas produzidas pelos tecidos danificados, como trombina, histamina, fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ) e interleucina-1 (IL-1). Essas moléculas fazem com que as células endoteliais expressem uma glicoproteína chamada de selectina P (CD62P). Ela pode se ligar às cadeias laterais de carboidratos em uma proteína de superfície presente nos neutrófilos denominada selectina L (CD62L). Essa adesão é transitória em virtude da rápida liberação da selectina P da superfície do neutrófilo. Como resultado, os neutrófilos não se ligam firmemente, mas se movem gradualmente, rolando ao longo das superfícies das células endoteliais perdendo velocidade até parar por completo (TIZARD, 2002).

À medida que os neutrófilos rolam ao longo da superfície endotelial ocorre o segundo estágio de adesão. Um lipídeo denominado fator ativador plaquetário (PAF), secretado pelas células endoteliais, ativa os neutrófilos circulantes. Como resultado, a expressão da integrina CD11a/CD18, na superfície dos neutrófilos aumenta e sofre mudança conformacional. Isso resulta em aumento da afinidade pelo seu ligante, uma glicoproteína denominada CD102 (ICAM-2), expressa nas células endoteliais. Essa ligação da integrina faz com que o neutrófilo chegue a uma parada completa e se ligue firmemente às células endoteliais apesar da força de separação do fluxo sanguíneo. Uma vez que os neutrófilos se liguem firmemente, inserem seus pseudópodos entre as células endoteliais e migram para fora do vaso sanguíneo no interior dos espaços teciduais sob a influência de moléculas quimiotáticas (diapedese) (Figura 6) (TIZARD, 2002).

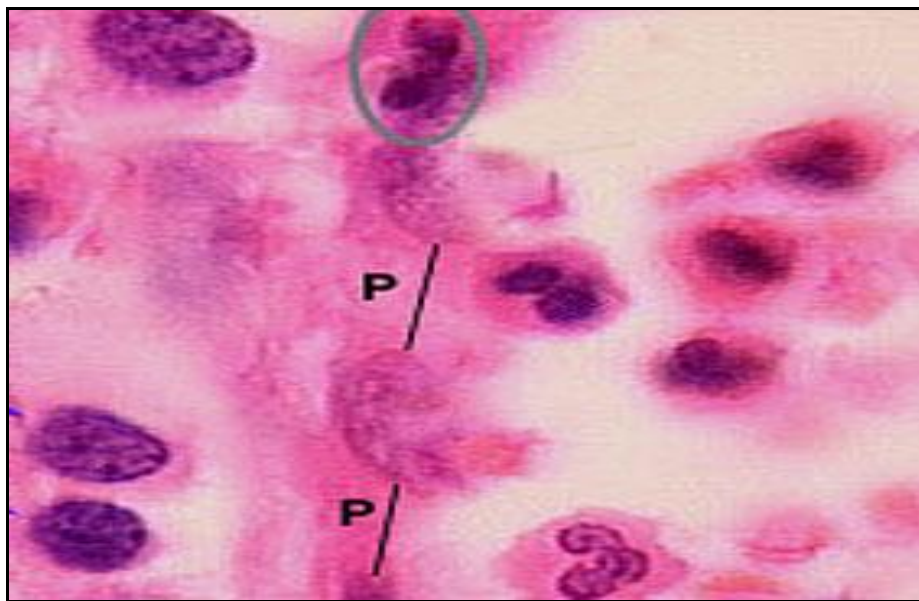


Figura 6 – Fotomicrografia evidenciando diapedese de neutrófilos em apêndice. Neutrófilo (circulado) passando através de poro (P) aberto entre as paredes endoteliais de células adjacentes (HE, 1000X).

Fonte: CORRÊA, 2000.

Um segundo estágio do aumento de leucócito-célula endotelial leva várias horas pra se desenvolver e é mediado por citocinas. Conseqüentemente, as células endoteliais ativadas pela IL-1 e pelo TNF-  $\alpha$  expressam a selectina E

(CD62E), que potencializa ainda mais a adesividade dos neutrófilos. A IL-1 também induz à produção de uma proteína denominada interleucina-8 (IL-8), a partir das células endoteliais e isso por sua vez atrai mais neutrófilos para a área. O TNF -  $\alpha$  estimula as células endoteliais a secretarem a IL-1. Além disso, promove a vasodilatação, atividade de procoagulantes e trombose, e aumenta a expressão das proteínas de aderência celular e a produção de moléculas quimiotáticas. Os leucócitos migram pelo tecido inflamado por um processo chamado quimiotaxia. Substâncias endógenas e exógenas podem agir como agentes quimiotáticos. Os agentes exógenos mais comuns são os produtos bacterianos como peptídios e outros de natureza lipídica. Mediadores endógenos incluem: componentes do sistema complemento, particularmente C5a, produtos da lipoxigenase, principalmente leucotrieno B4 (LTB4), e as citocinas como IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e particularmente as quimiocinas da família da IL-8 (TIZARD, 2002).

A fagocitose e a liberação de enzimas pelos neutrófilos e macrófagos constituem os dois principais benefícios do acúmulo de leucócitos no foco inflamatório. Ao se encontrarem, a partícula a ser ingerida e a célula fagocitária acoplam-se, um fenômeno que exige reconhecimento e fixação. Algumas vezes, a célula fagocitária é capaz de reconhecer e ingerir a partícula diretamente, mas na maioria das vezes a fagocitose só é possível após o envolvimento das partículas por opsoninas, que são fatores naturais do soro como, por exemplo, um fragmento da imunoglobulina G e o fator C3b do sistema complemento, que se ligam a partículas facilitando a fixação de células fagocitárias. Após a fixação, as células fagocitárias emitem pseudópodos que envolvem completamente as partículas dentro de um vacúolo (fagossomo) delimitado por parte da sua própria membrana citoplasmática. Para dentro deste vacúolo são liberados produtos bactericidas e bacteriostáticos, preexistentes ou recém-formados nos lisossomos. A fagocitose culmina com a destruição do agente agressor no interior dos fagolisossomos. Um mecanismo importante para a destruição de microrganismos no interior dos fagolisossomos é dependente de oxigênio: a fagocitose estimula o consumo de oxigênio e a produção de metabólitos reativos, que são convertidos em peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, por sua vez, na presença de Cl<sup>-</sup> é convertido, pela enzima mieloperoxidase, em ácido hipocloroso (HOCl) (TIZARD, 2002).

Em alguns casos, o processo inflamatório agudo não é completamente resolvido, o que pode levar à inflamação crônica, como é o caso de doenças auto-imunes ou infecções causadas por microrganismos que conseguem evadir a resposta imune. Esse tipo de inflamação acontece quando macrófagos e células T são constantemente ativados, levando ao seu acúmulo nos sítios de lesão e significativo dano tecidual. As citocinas liberadas pelos macrófagos cronicamente ativados estimulam a proliferação de fibroblastos, levando ao aumento da produção de colágeno que culmina na fibrose, característica típica das inflamações crônicas (TIZARD, 2002).

A inflamação aguda pode ser controlada por constituintes do plasma que inativam os mediadores inflamatórios diretamente ou inibem as enzimas que geram os mediadores. A  $\alpha$ 1-antitripsina e a  $\alpha$ 2 macroglobulina bloqueiam as proteases liberadas a partir dos grânulos dos neutrófilos, bem como trombina, plasmina e esterase C1. A proteína C-reativa bloqueia a agregação plaquetária. Os radicais de oxigênio altamente reativos (superóxido e peróxido de hidrogênio), liberados durante a explosão respiratória dos neutrófilos, causam danos teciduais e inflamação através da oxidação dos lipídeos da membrana celular. Como esses radicais livres são muito destrutivos, os tecidos devem proteger-se através da remoção de radicais livres. As catalases e as peroxidases removem os peróxidos, enquanto o superóxido dismutase, ceruloplasmina e íons de cobre livres removem o superóxido liberado pelos neutrófilos (TIZARD, 2002).

Os neutrófilos geralmente morrem durante uma resposta inflamatória. No entanto, caso liberem no meio suas enzimas lisossomais, podem causar dano tecidual severo, o que normalmente não ocorre. Como os neutrófilos sofrem morte celular programada (apoptose), os seus lipídeos de superfície se alteram e os macrófagos reconhecem essas alterações. Como resultado, os neutrófilos em processo de morte são fagocitados intactos pelos macrófagos, e o seu conteúdo não escapa para o interior dos tecidos. Além disso, os macrófagos que consomem esses neutrófilos não liberam citocinas ou lipídeos vasoativos. Claramente, a fagocitose das células apoptóticas é uma maneira eficiente de remoção de células indesejadas sem liberação de conteúdo celular tóxico (TIZARD, 2002).

### 2.2.3 Endotélio e Neoplasias

A observação de que o crescimento tumoral é acompanhado pela proliferação vascular foi feita há mais de 100 anos, levando à criação da hipótese de que a neovascularização facilitaria o crescimento de tumores por meio da oferta de nutrientes e oxigênio, além de remover catabólitos. Virchow, em 1865, chamou a atenção para o grande número de vasos sanguíneos em volta de uma massa tumoral (MARGI & NEWLAND, 2000; PLATE, 2001).

Em 1939, Ide e colaboradores sugeriram que os tumores liberavam fatores específicos capazes de estimular o crescimento de vasos sanguíneos. Porém, a primeira fração tumoral, responsável pela angiogênese, foi isolada apenas em 1971, por Folkman. Esta fração ativa foi chamada de fator angiogênico tumoral (TAF). A partir de então, vários fatores angiogênicos foram descritos, dentre eles o fator de crescimento dos fibroblastos (variedade básica e ácida), a angiogenina, o fator de crescimento transformante  $\alpha$ , o fator de crescimento transformante  $\beta$ , o fator de crescimento endotelial produzido pelas plaquetas e o fator de necrose tumoral  $\alpha$ . (FOLKMAN et al., 1971; RIBATTI et al., 1999).

A anatomia vascular tumoral é diferente daquela observada em tecidos normais. Os vasos sanguíneos formados em tumores são tortuosos, possuem regiões dilatadas, integridade vascular reduzida, numerosas fenestrações e membrana basal descontínua ou ausente (CARMELIET, 2000).

Estudos mostram que a indução de angiogênese pode ocorrer em diferentes estágios da progressão de tumores, dependendo da natureza da neoplasia e do microambiente tumoral. Historicamente, a angiogênese tumoral foi descrita como um processo que ocorre em duas etapas separadas, chamadas de *switch* angiogênico. A primeira etapa é avascular, na qual os tumores permanecem como lesões ocultas, de tamanho pequeno e limitado, o balanço entre proliferação e morte celular estão precisos. A fase seguinte é vascular e caracterizada pelo crescimento exponencial da massa tumoral (FOLKMAN, 1995; BERGERS, 2004).

Antes de se tornarem vascularizados, o desenvolvimento dos tumores ocorre de uma forma bastante lenta, e a difusão é o meio pelo qual o tumor é

suprido de oxigênio e nutrientes. Após a massa atingir mais de 2mm de diâmetro, a nutrição tumoral por difusão se torna insuficiente, e o tumor entra em estado de hipóxia. O fator de transcrição induzido por hipóxia (HIF-1) leva os genes a codificarem o VEGF, iniciando-se, portanto, a sua expressão. A ligação entre o VEGF com seus receptores em vasos pré-existentes estimula a proliferação de células endoteliais e conseqüente formação de novos vasos sanguíneos para os tumores. O aumento da expressão do VEGF no tumor está intimamente associado a um mau prognóstico, recorrência do câncer e aumento da densidade vascular (FERRARA, 2004; HICKLIN & ELLIS, 2005).

Hemangiomas e hemangiossarcomas são neoplasias de origem mesenquimal, provenientes de células endoteliais vasculares. Embora os hemangiomas sejam considerados neoplasias benignas, acredita-se que transformação maligna possa ocorrer em alguns casos multicêntricos e nos tumores induzidos pela irradiação solar. Esses tumores podem se desenvolver em qualquer região corpórea; entretanto, são mais comuns na pele. Podem ser classificados em capilares ou cavernosos, dependendo do tamanho dos espaços vasculares. Microscopicamente, os hemangiomas originam-se de células endoteliais e consistem de espaços vasculares cheios de sangue, arranjados em fileiras ou camadas simples de células endoteliais achatadas bem diferenciadas. As margens são bem demarcadas, mas não encapsuladas (SCHULTHEISS, 2004; WARREN & SUMMERS, 2007; SILVA JUNIOR, et al., 2008).

O hemangiossarcoma é uma neoplasia maligna que pode atingir um único órgão, desenvolver metástases regionais ou distantes, ou ainda, apresentar-se sob a forma multicêntrica, cujo principal sítio primário é o baço, mas pode atingir o átrio direito, o tecido subcutâneo e o fígado. O hemangiossarcoma acomete principalmente animais idosos e os sinais clínicos são inespecíficos, variando de acordo com a localização do tumor. Por ser altamente vascularizado, disseminam-se rapidamente pelos vasos sanguíneos e linfáticos causando metástases em quase todos os tecidos, principalmente no pulmão. A manifestação mais grave do hemangiossarcoma é a morte súbita decorrente de hemorragias severas na cavidade torácica ou abdominal provindas da ruptura do tumor (WARREN & SUMMERS, 2007; BORTOLUZZI, et al., 2008; FERRAZ, et al., 2008).

Histologicamente, o hemangiossarcoma apresenta áreas difusas de hemorragia e necrose. O tecido é composto por células endoteliais imaturas formando espaços vasculares. Esses espaços podem ser compostos de uma ou mais camadas de células endoteliais pleomórficas com núcleos hiper cromáticos e citoplasma abundante (GÜLBAHAR, et al., 1998).

O hemangioendotelioma epitelióide (HEE) é outro tipo de tumor com origem nas células endoteliais vasculares, sendo considerado raro. Surge mais frequentemente no pulmão, no fígado, nos tecidos moles e no osso, sendo também descrito em muitos outros locais. Apresenta morfologia de baixo grau de malignidade. Incidência pulmonar e mediastínica são conhecidas e a origem pleural foi descrita pela primeira vez em 1988, e foram onze os casos conhecidos, descritos na literatura. Apesar das características histológicas serem semelhantes às referidas em outras localizações, o HEE da pleura apresenta comportamento bastante agressivo. Geralmente é diagnosticado em fase sintomática, sendo mais habituais as queixas de toracoalgia e/ou dispnéia. Na maioria dos casos, existe derrame pleural e os exames imaginológicos revelam espessamento ou formações nodulares da pleura. A sobrevida dos doentes é na quase totalidade dos casos, de alguns meses, após o diagnóstico (LAUFFER et al., 1996; CROTTY et al., 2000; ENDO et al., 2004; MASSERA et al., 2004; TRAVIS et al., 2004).

O sarcoma de Kaposi (SK) também é uma neoplasia proveniente de células endoteliais e foi descrito pela primeira vez em 1872 por Moritz Kaposi como "sarcoma hiperpigmentado múltiplo idiopático". Trata-se de uma neoplasia angioproliferativa maligna multicêntrica, caracterizada sob o ponto de vista macroscópico pelo desenvolvimento de tumores circunvizinhos frequentemente elevados. Na maioria das vezes, esses tumores restringem-se à pele e ao tecido subcutâneo, mas podem cursar comprometimento visceral amplamente disseminado. A análise microscópica caracteriza-se pela presença de canais revestidos por endotélio e espaços vasculares associados a agregados de células fusiformes de variados tamanhos. Existem quatro variantes clínico-epidemiológicas conhecidas que possuem as mesmas características histológicas: clássico ou esporádico, africano/endêmico, iatrogênico/imunossupressão e epidêmico/associado à infecção pelo vírus da



imunodeficiência humana adquirida (FRIEDMAN-KIEN & SALTZMAN, 1990; STEBBING et al., 2003; PATRIKIDOU et al., 2009).

A partir das evidências mencionadas anteriormente, observa-se hoje uma grande atividade de pesquisa buscando relacionar a presença de fatores angiogênicos no tecido tumoral e seu prognóstico.

Além dos tratamentos anti-neoplásicos convencionais, a elevada consistência dos conhecimentos acumulados até o momento sobre a importância da angiogênese como fator primordial no desenvolvimento tumoral levou à consequente proposição de uma estratégia terapêutica baseada no desenvolvimento de medicamentos capazes de inibi-la, proporcionando uma redução do crescimento tumoral (FERRARA, 2004).

#### **2.2.4 Endotélio e Estresse Oxidativo**

O endotélio desempenha importante efeito regulador ou modelador do tônus vascular, inclusive das artérias coronárias e, conseqüentemente da perfusão tissular, funcionando como sensor das alterações hemodinâmicas e sinais humorais ou estímulos químicos da corrente sangüínea, transmitindo-os às células musculares lisas subjacentes. Para tal, o endotélio intacto modula a ação de substâncias vasoativas produzidas localmente ou circulantes, metaboliza e inativa substâncias vasopressoras e secreta substâncias vasodilatadoras e vasoconstrictoras (ALMEIDA & VASQUEZ, 1993).

A vasodilatação ocorre principalmente pela ação do óxido nítrico, considerado o mais importante fator endotelial, ou fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF), ao lado da prostaciclina e do fator hiperpolarizante derivado do endotélio. As substâncias vasoconstritoras secretadas pelas células endoteliais, designadas fatores de contração derivados do endotélio (EDCFs), incluem as endotelinas e os fatores produzidos pela via da ciclooxigenase, como prostaglandina H<sub>2</sub>, tromboxane A<sub>2</sub> e ânions superóxido (VANE et al., 1990; BASSENGE et al., 1991).

Em condições fisiológicas, existe um equilíbrio preciso entre a liberação desses fatores, sendo a produção dos fatores relaxantes mais importantes,

sobressaindo o efeito dos agentes contráteis. No entanto, em diversas condições patológicas, esse equilíbrio é alterado com uma conseqüente atenuação dos efeitos vasodilatadores, sendo portanto o endotélio de suma importância na gênese de doenças vasculares (VANE et. al., 1990).

O óxido nítrico (NO) é uma molécula gasosa simples, habitualmente encontrada no ar atmosférico em pequenas quantidades, altamente tóxica devido à presença de radical livre (elétron extra) que a torna um agente químico altamente reativo. O endotélio íntegro tem função protetora contra o desenvolvimento de lesões vasculares mantendo a vasodilatação, inibindo a agregação plaquetária, a adesão leucocitária e a proliferação das células musculares lisas. Essas ações são exercidas principalmente liberação continuada de óxido nítrico, considerado o mais importante fator endotelial (SNYDER & BREDET, 1992).

Na membrana das células endoteliais estão presentes as enzimas óxido-nítrico-sintase (e-NOS) que, ao serem estimuladas, sintetizam NO cuja ação nas células musculares ou no lúmen vascular promove o relaxamento do vaso. Ao penetrar na célula muscular, o NO desencadeia uma série de alterações que resultam na formação de guanosina monofosfato cíclica (GMPc), essencial para sua ação. Com o aumento do GMPc há uma diminuição da entrada de  $Ca^{++}$  na célula e aumento da captura de  $Ca^{++}$  pelo retículo endoplasmático, promovendo a vasodilatação (AMODEO & HEIMANN, 2003; DUSSE et. al., 2003).

Caso haja inibição da síntese, liberação ou atividade do NO derivado do endotélio, pode ocorrer vasoconstrição e conseqüente elevação da pressão arterial. Esta age aumentando a produção de peróxido de hidrogênio e radicais livres, e estas substâncias, por sua vez, reduzem a produção do NO endotelial, aumentando a aderência leucocitária e a resistência periférica (MORIEL, 2001).

A produção excessiva ou não-compensada de espécies reativas de oxigênio caracteriza o estresse oxidativo e favorece os eventos inflamatórios. O estresse oxidativo reduz a biodisponibilidade de NO, aumenta a adesão de neutrófilos na parede dos vasos, participa da oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL), e é um segundo mensageiro intracelular de fatores de crescimento indutores de proliferação, secreção de matriz extracelular, diferenciação e senescência (SOUZA & LAURINDO, 2002).

Portanto, a disfunção endotelial provoca alterações no relaxamento vascular devido à redução da biodisponibilidade do NO, acarretando no desenvolvimento de importantes enfermidades cérebro e cardiovasculares que vêm acometendo cada vez mais pessoas no mundo e, à medida que a população envelhece a morbimortalidade por essas doenças aumenta. Diante disso inúmeros estudos estão sendo desenvolvidos na tentativa de prevenir e tratar tais distúrbios (BONETTI et al., 2003).

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A descoberta e a evolução dos conhecimentos, sobre o papel do endotélio, contribuíram de forma significativa para a compreensão de várias alterações fisiológicas do organismo. A importância dos pesquisadores, que constituíram a história das células endoteliais, é fundamental e deve ser sempre lembrada tanto como um marco na evolução, como um estímulo para novas descobertas.

A estrutura celular relativamente simples e as complexas funções fazem do endotélio um tecido extremamente importante para a manutenção da vida. Desde o revestimento dos vasos às funções endócrinas, o desempenho equilibrado do endotélio é indispensável para a homeostasia.

Disfunções endoteliais ocasionam importantes afecções tanto em animais como em seres humanos e devido a isso o endotélio, atualmente, tem sido foco de discussões na clínica médica, sendo também temas de muitas pesquisas.

Portanto a busca por novos conhecimentos sobre o assunto, a tentativa de elucidar todas as ações das células endoteliais e a melhor maneira de prevenir doenças deve ser incessante.

## REFERENCIAS

1. ACKERMANN, M. R. Inflamação crônica e cicatrização de feridas. In: McGAVIN, D.; ZACHARY, J. **Bases da Patologia em Veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009, p.186-88.
2. ALBERTS, B. **Biologia molecular da célula**. São Paulo: Artmed, 2004. p. 1584.
3. ALMEIDA, P. J.; CABRAL, A. M.; VASQUEZ, E. C. O endotélio como modulador de respostas vasomotoras. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 60, p. 347-56, 1993.
4. AMODEO, C.; HEIMANN, J. C. Endotélio e hipertensão arterial sistêmica: mecanismos de lesão/novo alvo terapêutico? **Revista da sociedade de cardiologia do estado de São Paulo**. São Paulo, v. 13, n. 1, p. 121-129, 2003.
5. BAHIA, L. Endotélio e aterosclerose. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, v. 17, n. 1, p. 26-32, jan-mar. 2004.
6. BANKS, W. J. Histologia veterinária aplicada. 2. ed. São Paulo: Manole, p. 61-63, 1991.
7. BASSENGE E., HUCKSTORF C. H. Endothelium-mediated control of coronary circulation. **Acta Cardiologica**. v. 46, p. 419-24, 1991
8. BECKER, W. M., KLEINSMITH, L.J. & HARDIN, J., 2000 - "The World of the Cell", 4ª ed. The Benjamin / Cummings Publishing Company, Inc. (ed.), San Francisco.
9. BERGERS, G.; BENJAMIN, L. E. Tumorigenesis and the angiogenic switch. **Nature Reviews Cancer**, v. 3, n. 6, p. 401-10, 2003.
10. BERNARDINI G., RIBATTI D., SPINETTI G., MORBIDELLI L., ZICHE M., SANTONI A., CAPOGROSSI M.C., Napolitano M. 2003 Analysis of the role of chemokine in angiogenesis. **Journal of Immunological Methods**, v. 273, p. 83-101, 2003.
11. BONETTI, P. O.; LERMAN, L. O.; LERMAN, A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 23, p. 168-75.

12. BORTOLUZZI, M.; MOTTA, A. C.; SECCHI, P.; RAUSCH, S.; BERTOLETTI, B.; BORTOLINI, C. E.; CARNEVALI, T.; VALLE, S. F.; BONDAN, C. Ultra-sonografia, citologia e histopatologia como meios auxiliares para o diagnóstico de neoplasmas abdominais de origem vascular em cães- relato de dois casos. In: 35° CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, Gramado, 2008. Anais Eletrônicos. Gramado: 35°CONBRAVET, 2008.
13. BRITTEN, M. B.; ZEIHNER, A. M.; SCHACHINGER, V. Clinical importance of coronary endothelial vasodilator dysfunction and therapeutic options. **Journal of Internal Medicine**. v. 245, p. 315-27, 1999.
14. CARDOSO, F. L., BRITES, D. AND BRITO, M. A., Looking at the blood-brain barrier: Molecular anatomy possible investigation approaches. **Brain Research Review**. v. 64, p. 328-63, 2010.
15. CARMELIET, P.; Jain, R. K. Angiogenesis in cancer and other diseases. **Nature**, v. 407, p. 249-57, 2000.
16. CEREIJIDO, M.; CONTRERAS, R. G.; SHOSHANI, L.; FLOREZ-BENITEZ, D.; LARRE, I. Tight junction and polarity interaction in the transporting epithelial phenotype. **Biochimica et Biophysica Acta**, México, v. 1778, p. 770-93, 2008.
17. CORNHILL, J. F.; LEVESQUE, M. J.; HERDERICK, E. E.; NEREM, R. M.; KILMAN, J. W.; VASKO, J. S. Quantitative study of the rabbit aortic endothelium using vascular casts. **Atherosclerosis**. v. 35, p. 321-337.
18. CROTTY E, MCADAMS H, ERASMUS J, SPORN T, ROGGLI V. Epithelioid hemangioendothelioma of the pleura – clinical and radiological features. **American Journal Roentgenology**. Durham, v. 175, p. 1545-49, 2000.
19. DUSSE, L. M. S. A et al. Revisão sobre o oxido nítrico, **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Mai/jun 2003, vol. 39, n. 4, p. 343.
20. ENDO T, SU CC, NUMAGAMI Y, SHIRANE R. Malignant intracranial epithelioid hemangioendothelioma presumably originating from the lung – case report. **Journal of Neuro Oncology**. Califórnia, v. 67, p. 337-43, 2004.
21. EVANS, W. H.; MARTIN, P. E. M. Gap junctions: structure and function (Review). **Molecular Membrane Biology**, v. 19, p. 121-136, 2002.

22. ÉVORA, P. R. B. Laços históricos entre circulação sanguínea, endotélio e hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**. Rio de Janeiro, v. 6, n. 3, jul./set. 1999.
23. FALLAVENA, P. R.; BORGES, T. J.; PASKULIN, D. D.; PALUDO, F. J.; GOETZE, T. B.; OLIVEIRA, J. R.; NÓBREGA, O. T.; DIAS, F. S.; ALHO, C. S. The influences of CD14 -260C>T polymorphism on survival in ICU critically ill patients. **Immunology Investigation**, v. 38, p. 797-811, 2009.
24. FERRARA, N.; CHEN, H.; DAVIS SMYTH, T.; GERBER, H. P.; NGYEN, T. N.; PEERS, D.; CHISHOLM, V.; HILLAN, K. J. & SCHWALL, R. H. Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis. **Nature Medicine**. v. 4, 336-340, 1998.
25. FELDMAN, M.; BRENNAN, F. M.; MAINI, R. N. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. **Annual Review of Immunology** 14, 397-440, 1996.
26. FERRAZ, J. R. S.; ROZA, M. R.; JÚNIOR, J. C.; COSTA, A. C.. Canine hemangiosarcoma: literature review. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, v. 1, n. 1, p. 35-48, 2008.
27. FOLKMAN, J. Angiogenesis inhibitors generated by tumors. **Molecular Medicine**, v. 1, n. 2, p. 120-2, 1995.
28. FRIEDMAN-KIEN AE, SALTZMAN BR. Clinical manifestations of classical, endemic African, and epidemic AIDS-associated Kaposi's sarcoma. **Journal of the American Academy of Dermatology**. St. Louis, v. 22, p. 1237-50, 1990.
29. GLÜCK, T.; SILVER, J.; EPSTEIN, M.; CAO, P.; FARBER, B.; GOYERT, S. M. Parameters influencing membrane CD14 expression and soluble CD14 levels in sepsis. **European Journal of Medical Research**. v. 6, p. 351–358, 2001.
30. GOODENOUGH, D. A.; GOLIGER, J. A.; PAUL D. L. Connexins, connexons, and intercellular communication. **Annual Review Biochemical**, v. 65, p.475-502, 1996.
31. GRAIER, W. F., SIMECEK, S., KUKOVETZ, W. R. & KOSTNER, G. M. High-D-glucose-induced changes in endothelial Ca<sup>2+</sup>/EDRF signaling is due to generation of superoxide anions. **Diabetes**. Áustria, v. 45, 1386-95, 1996.

32. GÜLBAHAR, M. Y.; GUVENC, T.; BESALTI, O. Splenic hemangiosarcoma with abdominal dissemination in a dog. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 22, n. 5, p. 459-463, 1998.
33. GUSTAFSSON, F.; MIKKELSEN, H. B.; ARENSBAK, B.; THUNEBERG, L.; NEVE, T. S.; JENSEN, L. J.; HOLSTEIN-RATHLOU, N. H. Expression of connexin 37, 40 and 43 in rat mesenteric arterioles and resistance arteries. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 148, p. 119-139, 2003.
34. GUTSTEIN, D. E.; LIU, F. Y.; MEYERS, M. B.; CHOO, A.; FISHMAN, G. I. The organization of adherens junctions and desmosomes at the cardiac intercalated disc is independent of gap junctions. **Journal of Cell Science**. London, v. 116, n. 5, p. 875-885, 2003.
35. GUTSTEIN D. E.; MORLEY G. E.; TAMADDON H.; VAIDYA D.; SCHNEIDER M. D.; CHEN J.; CHIEN K. R.; STUHLMANN H.; FISHMAN G.I. Conduction slowing and sudden arrhythmic death in mice with cardiac-restricted inactivation of connexin43. **Circulation Research**. Dallas, v. 88, p.333-39, 2001.
36. HICKLIN, D. J.; ELLIS, L. M. J. Role of the Vascular Endothelial Growth Factor Pathway in Tumor Growth and Angiogenesis. **Clinical Oncology**. Londres, v. 23, p. 1011-1027, 2005.
37. HIRSCHI, K. K.; D'AMORE, P. A. Control of angiogenesis by the pericyte: molecular mechanisms and significance. **EXS**. v. 79, p. 419-28, 1997.
38. HOEBEN, A.; LANDUYT, B.; HIGHLEY, M. S.; WILDIERS, H.; VAN OOSTEROM, A.T.; BRUIJN, E. A. *Pharmacol. Rev.* v. 56, p. 549, 2004.
39. ISHIBASHI, T.; INOMATA, H. Ultrastructure of retinal vessels in diabetic patients. **British Journal of Ophthalmol.** London, v. 77, p. 574-8, 1993.
40. JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. In: **Órgãos dos sentidos**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. p. 433.
41. KARP, G. **Biologia celular e molecular: conceitos e experimentos**. 3.ed. São Paulo: Manole, 2005.
42. KRUGER, O.; BENY, J. L.; CHABAUD, F.; TRAUB, O.; THEIS, M.; BRIX, K.; KIRCHHOFF, S.; WILLECKE, K. Altered dye diffusion and upregulation of connexin37 in mouse aortic endothelium deficient in connexin40. **Journal of Vascular Research**, v. 39, p. 160-172, 2002.



43. LAMPUGNANI, M. G.; DEJANA, E. Interendothelial junctions, structure, signalling and functional roles. **Current Opinion in Cell Biology**. v. 9, p. 674-682, 1997.
44. LARSON, D. M.; WROBLESK, M. J.; AGARWAL, S.; SAGAR, G. D. V.; LALL, B.; WESTPHALE, E. M.; BEYER, E. C. Differential expression of connexin 37 and connexin 43 in vascular endothelial-cell is modulated by growth. **Molecular Biology of the cell**. v. 6, p. 1736, 1995.
45. LAUFFER, J.; ZIMMERMANN, A.; KRAHENBUHL, L.; TRILLER, J.; BAER, H. Epithelioid hemangioendothelioma of the liver: a rare hepatic tumor. **Cancer**. v. 78, p. 2318-2327, 1996.
46. LICHTENBERG, P.A., ROSS, T., & CHRISTENSEN, B. Preliminary normative data on the Boston Naming Test for an older urban population. **Clinical Neuropsychologist**. v. 8, p. 109–111, 1994.
47. LITTLE, T. L.; BEYER, E. C.; DULING, B. R. Connexin 43 and connexin 40 gap junction proteins are present in arteriolar smooth muscle and endothelium in vivo. **American Journal Physiological**, v. 268, p. 729-739, 1995.
48. LOEWENSTEIN, D. A., ARGUELLES, T., ARGUELLES, S.; LINN-FUENTES; P. POTENTIAL cultural bias in the neuropsychological assessment of the older adult. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*. v. 16, p. 623– 629, 1994.
49. MARGI, M. H.; NEWLAND, A. C. Angiogenesis and angiogenic mediators in haematologic malignancies. **British Journal of Haematology**, v. 111, n. 1, p. 43-51, 2000.
50. MASSERA F, DELFANI R, ROCCO G, ANTONELLI P, DONGHI M, ROBUSTELLINI M. Pulmonary epithelioid haemangioendothelioma mimicking bronchogenic carcinoma. **Journal of Cardiovascular Surgery**. v. 45, p. 397-98, 2004.
51. MORIEL, P. Possíveis conexões entre hipertensão e hipercolesterolemia, em relação à aterosclerose: vias de inativação do óxido nítrico e oxidação das lipoproteínas. São Paulo, p. 126, 2001.
52. MURRAY, M. R.; KOPECH, G. A. Bibliography of the Research in Tissue Culture 1884 to 1950, New York and London: Academic Press, vol. 5, 1953.

53. OGASAWARA, E., OLIVEIRA, D., CHIRIGATI, F., BARBOSA, C. E., ELIAS, R., BRAGANHOLO, V., COUTINHO, A., MATTOSO, M. "Exploring many task computing in scientific workflows". In: *\_MTAGS 09*, p. 1-10, Portland, Oregon, 2009.
54. OVIEDO-ORTA, E.; ERRINGTON, R. J; EVANS, W. H. Gap junction intercellular communication during lymphocyte transendothelial migration. **Cell Biology International**, v. 26, n. 3, p. 253-263, 2002.
55. PEPPER, M. S.; MONTESANO, R.; AOUMARI, A. E.; GROS, D.; ORCI, L.; MEDA, P. Coupling and connexin 43 expression in microvascular and large vessel endothelial cells. **American Journal Physiological**, v. 262, p. 1246-1257, 1992.
56. PLATE, K. H. From angiogenesis to lymphoangiogenesis. **Nature Medicine**, v. 7, n. 2, p. 151-52, 2001.
57. PATRIKIDOU A, VAHTSEVANOS K, CHARALAMBIDOU M, VALERI RM, XIROU P, ANTONIADES K. Non-AIDS Kaposi's sarcoma in the head and neck area. **Head Neck**. v. 31, p. 260-68, 2009.
58. POLACEK, D., BECH, F., MCKINSEY, J.F., DAVIES, P.F. Connexin43 Gene Expression in the rabbit arterial wall: Effects of hypercholesterolemia, balloon injury, and their combination. *Journal of Vascular Research* 34:19-30, 1997.
59. RESCHE-RIGON, M.; AZOULAY, E.; CHEVRET, S. Evaluating mortality in intensive care units: contribution of competing risks analyses. **Critical Care**, v. 10, p.103, 2006.
60. RHODIN, J. A. G. Ultrastructure of mammalian venous capillaries, venules, and small collecting veins. **Journal of Ultrastructure Research**. New Haven, v. 25, p. 452-485, 1968.
61. RIBATTI, D.; VACCA, A.; DAMMACCO, F. The role of the vascular phase in solid tumor growth: a historical review. **Neoplasia**, v. 1, p. 293-302, 1999.
62. RISAU, W. Mechanisms of angiogenesis. **Nature**. v. 386, p. 671-4, 1997.
63. SCHUTHEISS H.P.; RUBENS C.; EWERT R.; HALANK M.; WENSEL R.; ORZECOWSKI H. D. Big endothelin-1 and endothelin-1 plasma levels re correlated with the severity of primary pulmonary hypertension. **Chest Journal**. Park Ridge, v.120, p1562–1569, 2001.

64. SILVA JÚNIOR, V. A.; MAIA, F. C. L.; BRITO, L. C. Hemangioma Hepático Primário Em Gata Persa Com Doença Renal Policística. **Ciência Animal Brasileira**. Goiás, v. 9, n. 2, p. 529-534, 2008.
65. SIMIONESCU, N. & SIMIONESCU, M. Histology. In: WEISS, L. & GREEP, R. O. **The cardiovascular system**. New York, McGraw-Hill. p. 418, 1977.
66. SNYDER S.H., BRETT D.S. Biological role of nitric oxide. **Scientific American**. New York, v. 266, p. 68-77, 1992.
67. SOUZA, H. P.; LAURINDO, F. R. M. Estresse oxidativo e ruptura da placa aterosclerótica. **Revista da sociedade de cardiologia do Estado de São Paulo**. São Paulo, v. 12, n. 4, p. 584-594, jul./ago. 2002.
68. SPANEL-BOROWSKI K.; FENYVES A. The heteromorphology of cultured microvascular endothelial cells. **Drug Research**. v. 44, p. 385-91, 1994.
69. STEBBING J.; PORTSMOUTH S.; BOWER M. Insights into the molecular biology and sero-epidemiology of Kaposi's sarcoma. **Current Opinions in Infectious Diseases**. Filadelfia, v. 16 p. 25-31, 2001.
70. STEED, E.; BALDA, M. S.; MATTER K. Identification of MarvelD3 as a tight junction-associated transmembrane protein of the occluding family. **BMC Cell Biology**. V. 10, p. 95, 2009.
71. STEINBERG H. O.; TARSHOBY M.; MONESTEL R.; HOOK G.; CRONIN J.; JOHNSON A.; BAYAZEED B.; BARON A. D. Elevated circulating free fatty acid levels impair endothelium-dependent vasodilation. **Journal of Clinical Investigation**. New York, v100, p 1230-1239, 1997.
72. THORIN, E.; SHREEVE S. M. Heterogeneity of Vascular Endothelial Cells in Normal and Disease States. **Pharmacology & Therapeutics**. Oxford, v. 78, n. 3, p. 155–166, 1998.
73. TIZARD, I. R. Imunidade Inata: Inflamação. In: **Imunologia Veterinária - uma introdução**. 6.ed. São Paulo: ROCCA, 2002. cap. 5, p. 39-45.
74. TRACEY, K. J. The inflammatory reflex. **Nature**, n. 420, p. 853-859, 2002.
75. TRAVIS, W.; BRAMBILLA, E.; MULLER-HERMELINK, H.; HARRIS, C. Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart Pathology & Genetics. **International Agency for Research on Cancer**, Lyon 2004.

76. VANE J. R. ; ANGARD E. E. ; BOTTING R. M. Regulatory functions of the vascular endothelium. **The New England Journal of Medicine**. Boston, v. 323, p. 27-36, 1990.
77. VORBRODT A. W.; DOBROGOWSKA DH Molecular anatomy of intercellular junctions in brain endothelial and epithelial barriers: electron microscopist's view. **Brain Research Reviews**. Amsterdã, v. 42, p. 221–242, 2003.
78. WANNMACHER, L. E.; FERREIRA, M. B. C. Febre: mitos que determinam condutas. Uso racional de medicamentos. Temas selecionados. Brasília, v. 1, n 9, 2004.
79. WARREN, A. L.; SUMMERS, B. A. Epithelioid Variant of Hemangioma and Hemangiosarcoma in the Dog, Horse, and Cow. **Veterinary Pathology**, v. 44, p. 15–24, 2007.
80. YAMASAKI, H. Gap junction intercellular communication and carcinogenesis. **Carcinogenesis**, v. 11, p. 1051-1058, 1990.
81. YAMASHITA, J.; ITOH, H.; HIRASHIMA M.; OGAWA, M.; NISHIKAWA, S.; YURUGI, T.; NAITO, M.; NAKAO, K.; NISHIKAWA, S. Flk positive cells derived from embryonic stem cells serve as vascular progenitors. **Nature**. v. 408, p. 92-96, 2000.
82. YUAN S. Y.; RIGOR R. R. Regulation of Endothelial Barrier Function. **Morgan & Claypool Life Sciences**. San Rafael, 2010.