

A expressão da enzima óxido nítrico sintase na doença periodontal e na dor orofacial: revisão sistemática

The expression of the nitric oxide synthase enzyme in periodontal disease and orofacial pain: systematic review

Daniel Jackson Gonçalves Carvalho¹, Isis Pereira Cardoso¹, Iasminy Soares Oliveira¹, Maria das Graças Afonso Miranda Chaves¹, Gisele Maria Campos Fabri¹

DOI 10.5935/2595-0118.20210061

RESUMO

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS: A literatura sugere que a enzima óxido nítrico sintase (NOS) desempenha um papel importante tanto na doença periodontal (DP) quanto na dor orofacial (DOF), embora poucos estudos associem estas duas condições simultaneamente. O objetivo deste estudo foi analisar a expressão da NOS em pacientes com DP e DOF em comparação a controles sem estas condições.

CONTEÚDO: Foram consultadas as bases de dados eletrônicas (Pubmed, Web of Science, Scopus, Cochrane Library, BBO, LILACS e Clinical Trial) para identificar os estudos potencialmente relevantes publicados até abril de 2021. As pesquisas resultaram em 1.960 estudos, dos quais 11 foram selecionados para serem avaliados criticamente. Os critérios definidos na questão PECO (População, Exposição, Comparação e Desfecho) foram usados para selecionar títulos e resumos por dois revisores independentes. A avaliação metodológica dos estudos selecionados foi realizada de acordo com a ferramenta *Effective Public Health Practice Project* (EPHPP).

CONCLUSÃO: As evidências científicas demonstraram que a NOS desempenha um importante papel na patogênese da DP e da DOF, já que sua expressão está aumentada em pacientes com estas condições. Porém, estudos genéticos sobre mutações dos genes do óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) em pacientes com migrânea e cefaleia em salvas não evidenciaram a esperada suscetibilidade a dor. Além disso, estudos sobre a associação da

expressão da NOS na DP e na DOF, ocorrendo simultaneamente, são escassos. Este estudo pode subsidiar futuras pesquisas sobre NOS na correlação de duas doenças muito frequentes como a DP e a DOF.

Descritores: Doença periodontal, Dor orofacial, Óxido nítrico, Óxido nítrico sintase.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVES: The literature suggests that the enzyme nitric oxide synthase (NOS) plays an important role in both periodontal disease (PD) and orofacial pain (OP), although few studies associate these two conditions simultaneously. The objective of this study was to evaluate the expression of the NOS enzyme in PD and OP, in comparison to those patients who did not present PD and/or OP.

CONTENTS: Seven electronic databases (PubMed, Web of science, Scopus, Cochrane Library, BBO, LILACS, Clinical trial) were used to identify the potentially relevant studies published until April 2021. The research resulted in 1,960 studies, of which 11 were selected to be critically evaluated. Two independent reviewers selected titles and abstracts using the criteria defined in the PECO question (Population, Exposure, Comparison, Outcome). The methodological evaluation of the selected studies was carried out according to the *Effective Public Health Practice Project* (EPHPP).

CONCLUSION: Scientific evidence demonstrated that NOS may play a key role in the pathogenesis of PD and OP, since its expression is increased in patients with these conditions. However, genetic studies on endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene mutations in patients with migraine and cluster headache did not indicate the expected susceptibility to pain. In addition, studies on the association of NOS expression in PD and OP, occurring simultaneously, are scarce. This review may support future research on NOS in two very common correlated diseases such as PD and OP.

Keywords: Orofacial pain, Nitric oxide, Nitric oxide synthase, Periodontal diseases.

INTRODUÇÃO

A doença periodontal (DP) é uma condição imunoinflamatória infecciosa com uma etiologia multifatorial na população adulta¹. A relação da DP com algumas condições sistêmicas, tais como doenças

Daniel Jackson Gonçalves Carvalho – <https://orcid.org/0000-0002-7056-3154>;
Isis Pereira Cardoso – <https://orcid.org/0000-0003-3534-8093>;
Iasminy Soares Oliveira – <https://orcid.org/0000-0002-6420-8455>;
Maria das Graças Afonso Miranda Chaves – <https://orcid.org/0000-0001-9528-4699>;
Gisele Maria Campos Fabri – <https://orcid.org/0000-0002-8396-0722>.

1. Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Odontologia, Juiz de Fora, MG, Brasil.

Apresentado em 20 de fevereiro de 2021.

Aceito para publicação em 03 de maio de 2021.

Conflito de interesses: não há – Fontes de fomento: não há.

Endereço para correspondência:

Gisele Maria Campos Fabri
Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora
Rua José Lourenço Kelmer s/n- São Pedro
36036-900 Juiz de Fora, MG, Brasil.
E-mail: gisele.fabri@ufjf.edu.br

© Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor

cardiovasculares, metabólicas e neurovasculares, já foi previamente demonstrada²⁻⁵. Fatores microbianos e fatores derivados da resposta do hospedeiro, incluindo várias enzimas, como o óxido nítrico sintase (NOS), estão associadas com a destruição do periodonto^{6,7}. Outra condição comum na população em geral é a dor orofacial (DOF)⁸. Seu controle e tratamento dependem de um diagnóstico preciso⁹. Geralmente, o termo “dor orofacial” refere-se a condições dolorosas relacionadas às estruturas da cavidade oral e da própria face, incluindo condições dolorosas associadas aos tecidos moles e duros da cabeça e do pescoço, bem como todas as estruturas que formam a cavidade bucal¹⁰.

Há vários mediadores inflamatórios relacionados tanto à dor quanto à DP, tais como interleucinas, prostaglandinas e alguns neurotransmissores não adrenérgicos e não colinérgicos (NANC)¹¹. O óxido nítrico (NO) é uma molécula gasosa que é gerada durante a conversão do aminoácido L-arginina em L-citrulina por NOS, que consiste em duas isoformas constitutivas, incluindo tanto a NOS endotelial (eNOS) quanto a NOS neuronal (nNOS), assim como uma isoforma gerada por diferentes estímulos: a NOS induzível (iNOS). NO é uma molécula reativa lábil que se oxida rapidamente em produtos finais de nitrato e nitrito. As evidências científicas apontam para sua participação nos mecanismos fisiopatológicos da dor e da DP¹⁻⁸.

A isoforma induzível (iNOS) produz quantidades substanciais de NO quando estimulada por muitas citocinas pró-inflamatórias e é expressa em vários tipos de células inflamatórias¹². A isoforma da eNOS libera NO do endotélio, causando relaxamento muscular suave¹³, e a nNOS é expressa por neurônios e está envolvida em neurotransmissão e funções neuroendócrinas¹⁴.

Apesar de muitas evidências da participação desta enzima e seus produtos na dor e na DP, existem poucos estudos de associação que investigam sua expressão em ambas as condições e que permitem desenvolver um raciocínio crítico sobre a plausibilidade biológica da inter-relação entre eles.

CONTEÚDO

Esta revisão sistemática abordou a seguinte questão: “Qual é a relação da enzima óxido nítrico sintase com a Doença Periodontal e a Dor Orofacial”? A pergunta PECO (P = População, E = Exposição, C = Comparação e O = *Outcome/Desfecho*) foi: pacientes com DP e/ou DOF, expressão do óxido nítrico sintase em pacientes com DP e DOF, pacientes sem DP e DOF e expressão mais elevada da enzima óxido nítrico sintase na DP e DOF respectivamente.

Os critérios de inclusão foram estudos clínicos, com controle de caso, de coorte, ou estudos transversais; população adulta; correlação entre a NOS em pacientes com DP e/ou DOF.

Os critérios de exclusão foram relatos de casos, revisões de literatura, estudos sem análises estatísticas, estudos com crianças, estudos com outras doenças e carta ao leitor. A pesquisa foi realizada em sete bancos de dados eletrônicos (Pubmed, Web of Science, Scopus, Cochrane Library, BBO, LILACS e Clinical Trial) até abril de 2021, usando as palavras-chave: *periodontal disease, nitric oxide synthase, nitric oxide and orofacial pain*. Uma pesquisa na literatura cinzenta foi realizada por meio do mecanismo de busca *Google*

Scholar. Não foram colocadas restrições quanto ao ano de publicação e idiomas.

Além disso, foi realizada uma pesquisa manual na lista de referência dos estudos incluídos. No total, foram obtidos 1.960 artigos. Após remoção dos duplicados, 991 títulos e resumos foram submetidos à primeira calibração, completada por dois revisores independentes que leram uma amostra de 10% dos estudos.

Após obter um nível de concordância substancial (Kappa) de 1, os revisores independentes leram todos os estudos restantes. Após esta primeira seleção, 74 estudos foram selecionados para serem lidos na íntegra. Destes, 63 foram excluídos por não atenderem aos critérios de inclusão. Discordâncias foram resolvidas por consenso e discussão com um terceiro revisor.

O estudo foi registrado no Registro Prospectivo Internacional para Revisão Sistemática (PROSPERO) sob o número de registro CRD42018093246. Este relatório está de acordo com as diretrizes do *Preferred Report Items for Systematic Reviews and Meta-analyses* (PRISMA).

Avaliação da qualidade

Dois revisores independentes avaliaram os artigos selecionados por meio da ferramenta *Effective Public Health Practice Project* (EPHPP), instrumento criado para avaliar a qualidade de artigos em uma ampla gama de tópicos relacionados à saúde e incluir parâmetros que poderiam ser abordados com propósito científico e universalmente aplicáveis a qualquer tópico de saúde¹⁵. Foram avaliados os seguintes parâmetros: viés de seleção, desenho do estudo, fatores de confusão, cegamento, métodos de coleta de dados e retirada de dados. Cada item pode ser avaliado nos seguintes índices: forte, moderado, fraco e não aplicável a alguns casos.

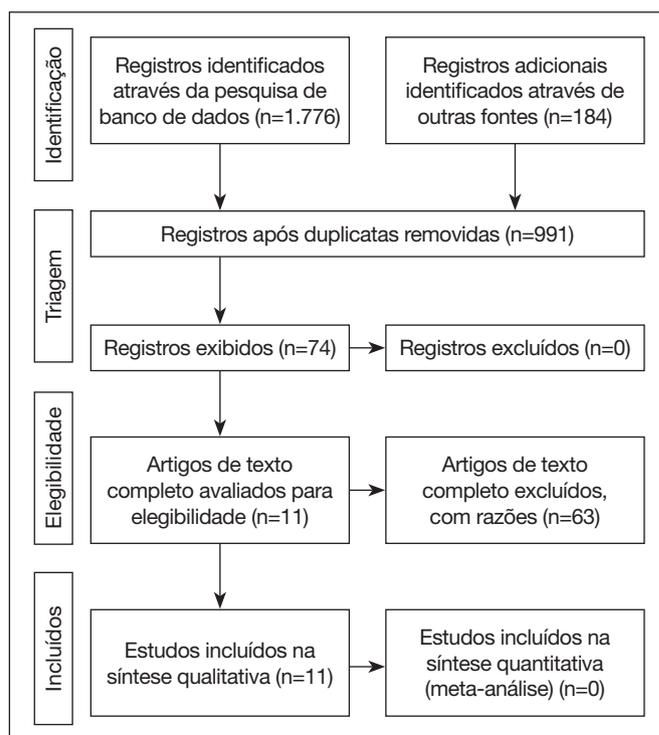


Figura 1. Dados de estudo relacionados com o padrão do PRISMA 2009.

RESULTADOS

Ao final do processo de seleção, 11 artigos foram obtidos. Nove estudos observaram a expressão de NOS e/ou NO por meio de estudos clínicos e laboratoriais^{7,14,16-22}.

Os parâmetros metodológicos utilizados para avaliar a condição periodontal foram os seguintes: PI = índice de placa (%), CEJ = junção cimentoesmalte, GI = índice gengival, BP = sangramento na sondagem (%), CAL = nível de fixação clínica (mm), PCS = profundidade clínica de sondagem (mm). Quanto a estudos de laboratório, foram descritas as biópsias gengivais incisoriais e testes de laboratório por imuno-histoquímica. Desta forma, foi analisada a presença de alguma isoforma de NOS na DP.

Por outro lado, os parâmetros para avaliar DOF seguiram os critérios da *International Headache Society* (IHS), da *Visual Analog Scale* (VAS) e da MIDAS (avaliação de incapacidade por migrânea). Além disso, os estudos incluíram uma análise do óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e óxido nítrico sintase neuronal (nNOS) no soro de pacientes com DOF.

Dos 11 artigos incluídos nesta revisão sistemática, 5 estudos analisaram a expressão de NOS e/ou NO e seus metabólitos na DP^{3,7,19-21} e outros 5 estudos quantificaram a expressão de NOS, NO e metabólitos na DOF^{14,17,18,22,24}. Apenas um artigo revelou a expressão de NOS simultaneamente em pacientes com DP e DOF¹⁶.

Resultados sobre a expressão da NOS na doença periodontal

Os dados revelaram uma maior expressão de iNOS^{19,21}, eNOS⁷ na gengiva e NOS solúvel no soro²⁰ de pacientes com DP quando comparados aos pacientes saudáveis.

Ademais, os pacientes com periodontite tinham uma expressão mais alta de iNOS antes do tratamento periodontal. Além disso, a expressão da iNOS é maior em locais submetidos a procedimentos de escalonamento e planejamento radicular do que naqueles submetidos a procedimentos cirúrgicos periodontais (retalho de Widman modificado)²³. Arginase, que reduz a produção de NO pela diminuição da concentração intracelular de arginina, aumentou após o tratamento periodontal²³. A tabela 1 mostra os estudos sobre a expressão da enzima NOS relacionada à DP.

Descobertas sobre óxido nítrico em dor orofacial

As descobertas revelaram uma participação potencial do NO em processos orofaciais dolorosos. Estudos sobre o estresse oxidativo associado à migrânea mostraram que houve um aumento do estresse de óxido nítrico quando comparado ao grupo controle¹⁷. Além disso, há evidências sobre disfunção da eNOS, um vasodilatador derivado do endotélio que causa alterações no fluxo sanguíneo em pacientes com migrânea²².

Por outro lado, por meio de análise genética em um estudo com 337 pacientes com migrânea e 341 indivíduos saudáveis, a distribuição dos genes promotores do eNOS não foi diferente entre os grupos clínicos¹⁸. Além disso, outro experimento genético com alelos de NOS mostrou que as variações genéticas dos três genes da NOS não contribuem para a suscetibilidade à cefaleia¹⁴. No entanto, adverte sobre a complexidade dos fatores envolvidos entre a expressão dos genes e a presença do metabólito final, uma vez que existe uma gama de doadores de NO que poderiam constituir uma característica

Tabela 1. Expressão de óxido nítrico sintase em doença periodontal

Autores	País	Estudo	Investigação	Amostra	Resultados
Güllu et al. ²³	Turquia	Clínico e laboratorial	Comparação da expressão da iNOS antes e depois das duas modalidades terapêuticas (cirurgia x raspagem) e avaliação da arginase antes e depois do tratamento periodontal.	Locais com perda de inserção clínica ≥ 7 mm de 13 pacientes ($p < 0,05$)	Os pacientes com DP tinham uma expressão maior de iNOS e uma menor concentração de arginase antes do tratamento ($p < 0,05$).
Batista et al. ¹⁹	Brasil	Laboratorial	Quantificação de iNOS positivo.	19 casos de gengivite. 19 casos de periodontite. 13 casos saudáveis.	Aumento da rotulagem de iNOS em pacientes com gengivite e DP em comparação com grupo controle ($p < 0,05$).
Shibata et al. ²⁰	Inglaterra	Laboratorial	A atividade do NOS foi classificada pelo ensaio de conversão de L-arginina para L-citrulina, rotulado por radioligação. NOS associada à membrana (MA-NOS) e NOS solúvel (S-NOS) foram extraídos de células.	Neutrófilos isolados de 10 pacientes com DP.	Maior número de NOS em periodontite comparada à inibição da quimioterapia neutrofílica ($p < 0,05$).
Kendall et al. ⁷	Austrália	Laboratorial	O compartilhamento de eNOS foi analisado em amostras inflamadas e não inflamadas de gengiva humana usando um anticorpo monoclonal contra eNOS.	6 amostras gengivais de pacientes com DP e 3 amostras de controles saudáveis.	Maior expressão de eNOS em tecidos gengivais inflamados em comparação com não inflamados. As células dentro do tecido conjuntivo inflamado expressaram eNOS.
Lappin et al. ²¹	Escócia	Clínico e laboratorial	Expressão iNOS em gengivas de pacientes com DP x controle	16 pacientes com DP e 5 pacientes controle	Aumento da expressão do iNOS nos pacientes de DP.

iNOS = óxido nítrico sintase induzível; DP = doença periodontal; NOS = óxido nítrico sintase; eNOS = óxido nítrico sintase endotelial; p = valor de significância.

fisiopatológica comum para várias formas de dores de cabeça primárias¹⁴.

Há resultados que sugerem que a dor, que pode ser uma manifestação orofacial, pode estar associada a mudanças nas concentrações de NO em pacientes com esta síndrome²⁵.

A expressão da NOS também tem sido investigada na disfunção temporomandibular (DTM). A iNOS investigada usando imuno-histoquímica, e comparada com achados clínicos, artroscópicos e histológicos de espécimes de DTM, obtidos por artroscopia de articulação temporomandibular, foi correlacionada significa-

tivamente com evidência artroscópica de sinovite ($r=0,406$, $p<0,05$)²⁴. A tabela 2 destaca as particularidades destas investigações.

Analizando simultaneamente a expressão de NOS na doença periodontal e dor orofacial

Ao longo da pesquisa bibliográfica, apenas um estudo investigou simultaneamente a expressão imuno-histoquímica da NOS na DP e DOF. Os resultados mostraram maior expressão da enzima em pacientes com as duas condições associadas em comparação com pacientes que apresentavam apenas DP¹⁶ (Tabela 3).

Tabela 2. Expressão do óxido nítrico sintase na dor orofacial

Autores	País	Estudo	Investigação	Total da amostra	Resultados
Aguilar et al. ²⁵	Espanha	Clínico e laboratorial	Foram avaliadas as relações entre os níveis de NO sérico (ensaio baseado em quimioluminescência), a atividade de oxitocinase e a atividade de aminopeptidase degradante da encefalina (EDA), determinada por fluorometria, e as manifestações clínicas relacionadas à dor em mulheres com fibromialgia.	58 mulheres foram diagnosticadas com fibromialgia.	Foram observadas relações significativas entre níveis de NO e limiares dominantes de dor por pressão occipital, limiares não dominantes de dor por pressão occipital e efeitos de fibromialgia.
Van der Schueren et al. ²²	Bélgica	Clínico e laboratorial	Cada indivíduo recebeu infusão de L-arginina ou placebo e foram avaliados os metabólitos de NO e NO nasais e exalados.	20 pacientes com migrânea e 20 indivíduos saudáveis.	Aumento do NO nasal e exalado de pacientes com migrânea na avaliação inicial em comparação com controles e menor produção de metabólitos após a infusão de L-arginina em pacientes com migrânea, indicando disfunção de eNOS ($p = 0,81$).
Gruber et al. ¹⁷	Áustria	Clínico e laboratorial	Vários parâmetros do caminho do NO, tais como nitrato, nitrito, arginina, citrulina, proteínas nitrosiladas, dimetilarginina assimétrica, dimetilarginina simétrica, expressão da eNOS e iNOS e dois polimorfismos de eNOS foram investigados.	130 pacientes com migrânea e 76 indivíduos controle.	Os pacientes com migrânea sofrem com o aumento sustentado do estresse nitrosativo no período sem dor de cabeça, o que está associado a um risco 3,6 vezes maior de migrânea.
Toriello et al. ¹⁸	Espanha	Laboratorial	Estudo genético dos alelos de eNOS.	337 pacientes com migrânea e 341 indivíduos controle.	A distribuição dos alelos não foi diferente entre os grupos ($p < 0,01$).
Takahashi et al. ²⁴	Japão	Clínico e laboratorial	Análise da expressão de iNOS em biópsias sinoviais de pacientes com DTM.	15 pacientes com desarranjo interno sintomático (DI) ou osteoartrose (OA) e 8 pacientes controle (3 com luxação habitual da mandíbula, 1 com DI, e 4 com fraturas do côndilo mandibular).	A imunorreatividade intensa do iNOS tanto nas células do revestimento sinovial quanto nas células endoteliais da ATM com desarranjo interno e osteoartrite e correlação do iNOS com sinovite e não com degeneração da cartilagem.
Sjöstrand et al. ¹⁴	Suécia	Laboratorial	Estudo da variação genética dos genes da NOS em pacientes com migrânea.	91 pacientes com migrânea e 111 indivíduos controle.	As frequências de fenótipo e de alelo foram distribuídas de forma semelhante em pacientes com migrânea e nos controles, exceto pelo alelo da iNOS, que era significativamente mais comum em controles. É improvável que a variação na genética da NOS esteja associada à suscetibilidade à dor de cabeça em terapia de resgate ($p < 0,05$).

iNOS = óxido nítrico sintase induzível; NO = óxido nítrico; eNOS = óxido nítrico sintase endotelial; DI = desarranjo interno sintomático; DTM = disfunção temporomandibular; p = valor de significância.

Tabela 3. Expressão do óxido nítrico sintetase em doença periodontal e dor orofacial

Autores	País	Tipo de estudo	Investigação	Total da amostra	Resultados da NOS em DP
Fabri et al ¹⁶	Brasil	Clínico e laboratorial	Avaliação da expressão de iNOS e eNOS nas amostras de gengiva de pacientes com DOF e DP em comparação com pacientes com DP sem dor crônica.	38 (20 pacientes com DP e DOF e 18 pacientes com DP).	Alta expressão de iNOS e eNOS em pacientes com DP e DOF em comparação com pacientes com DP sem DOF (p<0,001).

DP = doença periodontal; DOF = dor orofacial; p = valor de significância; iNOS = óxido nítrico sintase induzível; eNOS = óxido nítrico sintase endotelial.

DISCUSSÃO

Esta revisão compilou as descobertas da literatura científica sobre a relação entre a expressão superior de NOS e seus metabólitos em DOF e DP. A relevância desta revisão está na observação de aspectos ainda não claramente compreendidos sobre a participação desta enzima e seus produtos em duas condições prevalentes na população mundial^{2,26-28} e sua correlação⁵.

Ambas têm importantes impactos na qualidade de vida e repercussões sistêmicas^{4,28-31}. Estudos experimentais com animais mostraram que a periodontite induzida por ligaduras aumentou a produção local de NO e que o tratamento com mercaptoethylguanidine (MEG), um inibidor seletivo de iNOS e um purificador de peroxinitrito, protegeu contra a destruição óssea. Estas descobertas já sugeriam que o NO e o peroxinitrito desempenhavam um papel significativo na patogênese da periodontite³².

Estudos clínicos que investigaram a expressão da NOS na periodontite reforçaram fortemente este mecanismo patológico do NO. Foram observados números maiores de NOS, principalmente iNOS, em pacientes em comparação com pacientes saudáveis e houve uma redução da NOS em locais tratados^{7,19,20,21,23}.

Macrófagos e células endoteliais produzem iNOS²¹⁻³³ e as citocinas interleucina-1beta (IL-1), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interferon gama (IFN- γ) estimulam a produção de iNOS em células inflamatórias e uma combinação das três citocinas tem um efeito sinérgico na indução de iNOS³⁴. Como estas citocinas são aumentadas na DP³⁵, a expressão de iNOS também foi aumentada, como esperado.

A participação do NO na periodontite é notável. O aumento dos níveis de produção de NO através da enzima iNOS nos tecidos periodontais pode levar à ativação de metaloproteinasas de matriz, a uma diminuição do nível de seus inibidores e à destruição de tecidos²³. No entanto, o NO é necessário para a morte bacteriana, o principal fator de iniciação da DP³⁶.

Por outro lado, a hipótese de que a NOS está relacionada à DOF³⁷ foi testada investigando a expressão da enzima, seus metabólitos e os genes que a codificam^{14,17,18,22,24}. Esta suposição surgiu da observação de que a administração de doadores exógenos de NO, como a estimulação da produção endógena de NO pela histamina, induziu dores de cabeça tardias em indivíduos com migrânea. Além disso, um inibidor de NOS e NG-monometil-L-arginina (L-NMMA) proporcionou alívio da dor em pacientes que sofriam de migrânea³⁷.

Os genes envolvidos na produção de NO foram sugeridos como fatores genéticos para a migrânea porque o NO desempenha um papel importante na neurotransmissão, na resposta inflamatória e na vasodilatação³⁸. A eNOS libera NO do endo-

télio causando relaxamento muscular suave¹³. A administração de NO exógeno piora a dor de cabeça³⁹ e aumenta a atividade do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP)⁴⁰. Uma mutação do gene eNOS foi associada a uma redução na produção de NO^{41,42} basal.

Nesta revisão, estudos clínicos sobre a NOS na migrânea indicam o envolvimento da NOS na dor^{17,22,24}. No entanto, estudos genéticos sobre genes alelos de eNOS não encontraram evidências de sua participação na suscetibilidade à migrânea e cefaleia^{14,18}.

Enquanto geneticamente não houve distribuição diferente nos genes codificadores de NO em pacientes com DOF, houve um aumento na produção de nitrato (associado ao estresse oxidativo) e uma redução na produção de nitrito (relacionado à interação de NO com nitrogênio livre) em pacientes com migrânea quando comparados ao grupo de controle¹⁷. O nitrato é gerado a partir do NO pela interação com espécies de radicais livres de oxigênio e o nitrito é construído a partir do NO pela interação com espécies livres de nitrogênio.

Portanto, o estudo indica estresse oxidativo adicional em indivíduos com migrânea, corroborando outros estudos que afirmam que o estresse oxidativo está envolvido na fisiopatologia da migrânea⁴³. Neste sentido, a evidência da participação do NO na migrânea motiva estudos sobre o uso de inibidores de NOS e outras moléculas dentro do caminho de sinalização do NO para o tratamento promissor desta desordem⁴⁴.

Além disso, não houve aumento generalizado da atividade de NOS em pacientes com migrânea devido à crise de dor. Entretanto, após a infusão de L-arginina (gerador de NO da NOS), houve um pequeno aumento nos níveis plasmáticos de L-citrulina e excreção urinária de nitrito/nitrato e cGMP (metabólitos e produtos finais de NO) em pacientes com migrânea em comparação com voluntários saudáveis. Parece haver uma diminuição na atividade de NOS nesses pacientes em comparação com os voluntários saudáveis. O nível plasmático de L-citrulina e a excreção urinária de nitrito/nitrato dependem em grande parte da extremidade vascular do eNOS^{45,46}. Portanto, os autores concluem que o modesto aumento na excreção plasmática de L-citrulina e nitrito/nitrato urinário e cGMP após o tratamento com L-arginina pode indicar disfunção da eNOS em pacientes com migrânea²².

Curiosamente, o NO é produzido localmente no revestimento sinovial da ATM nos processos de desarranjo interno e osteoartrite²⁴. O NO é produzido pela iNOS, que é ativado por citocinas pró-inflamatórias⁴⁷ detectáveis na DTM⁴⁸. Portanto, o NO produzido localmente pode desempenhar um papel significativo na fisiopatologia da DTM. Tem sido demonstrado que o NO é um potente vasodilatador⁴⁹ e angiogênico⁵⁰. Ele também inibe a síntese de colágeno⁵¹ e está envolvido em lesão aos tecidos⁵². Além disso, os estudos anteriores indicaram que a modulação do

caminho do NO poderia ser uma estratégia terapêutica baseada em mecanismos de sinalização periférica do NO que promovem a analgesia periférica⁵³.

Com todas essas evidências demonstrando a participação da NOS na patogênese da DP e DOF, há uma escassez de estudos sobre a associação destas duas condições. Um estudo anterior da presente equipe demonstrou que pacientes com DOF crônica e DP tinham maior expressão de iNOS e eNOS quando comparados a pacientes que tinham apenas DP¹⁶. O mecanismo exato ainda não foi totalmente compreendido. Pode-se supor que os pacientes têm uma maior suscetibilidade à dor porque têm uma maior expressão de NOS ou têm uma maior expressão de NOS já que são pacientes com dor crônica, ou então apresentam uma dor mais difusa porque têm uma maior expressão de NOS. Além disso, pode ser uma associação de todos estes aspectos.

É importante observar que pacientes com dor crônica refratária e DP quando sob tratamento periodontal reclamaram significativamente menos sobre DOF⁵. Pensando na redução da NOS em locais de periodontite tratada²³, é possível sugerir que a redução local da NOS com menor produção de NO poderia explicar este alívio da dor, entretanto, estudos experimentais adicionais com este propósito são necessários para compreender esta ideia.

CONCLUSÃO

Embora haja evidências suficientes de que a NOS desempenhe um papel significativo na patogênese da DP e DOF, estudos genéticos sobre as mutações do gene de NOS em pacientes com migrânea e cefaleia não demonstraram a suscetibilidade esperada à dor. A associação entre a expressão da NOS na DP e na DOF ocorrendo simultaneamente é escassa. Porém, há evidências de envolvimento da DP agravando a DOF. Esta revisão destacou novos alvos e estratégias para futuras pesquisas sobre a NOS em duas doenças correlatas muito comuns, como a DP e a DOF.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao professor José Tadeu Tesseroli de Siqueira pelo apoio a esta revisão.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Daniel Jackson Gonçalves Carvalho

Análise Estatística, Aquisição de Financiamento, Coleta de Dados, Conceitualização, Gerenciamento de Recursos, Gerenciamento do Projeto, Investigação, Metodologia, Redação - Preparação do original, Redação - Revisão e Edição, Software, Supervisão, Validação, Visualização

Isis Pereira Cardoso

Coleta de Dados, Conceitualização, Metodologia, Redação - Preparação do original, Supervisão, Validação, Visualização

Iasmyn Soares Oliveira

Coleta de Dados, Conceitualização, Redação - Preparação do original, Redação - Revisão e Edição, Supervisão, Visualização

Maria das Graças Afonso Miranda Chaves

Investigação, Redação - Preparação do original, Redação - Revisão e Edição, Supervisão, Validação, Visualização

Gisele Maria Campos Fabri

Análise Estatística, Aquisição de Financiamento, Coleta de Dados, Conceitualização, Gerenciamento de Recursos, Gerenciamento do Projeto, Investigação, Metodologia, Redação - Preparação do original, Redação - Revisão e Edição, Software, Supervisão, Validação, Visualização

REFERÊNCIAS

1. Albandar MJ, Rams ET. Risk factors for periodontitis in children and young persons. *Periodontology* 2000;2002;(29):207-22.
2. Kinane DF, Stathopoulos PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17038.
3. Cestari JA, Fabri GM, Kalil J, Nitrini R, Jacob-Filho W, de Siqueira JT, et al. Oral infections and cytokine levels in patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment compared with controls. *J Alzheimers Dis*. 2016;19;52(4):1479-85.
4. Fabri GM, Pereira RM, Savioli C, Saad CG, de Moraes JC, Siqueira JT, et al. Periodontitis response to anti-TNF therapy in ankylosing spondylitis. *J Clin Rheumatol*. 2015;21(7):341-5.
5. Fabri GM, Siqueira SR, Simione C, Nasri C, Teixeira MJ, Siqueira JTT. Refractory craniofacial pain: is there a role of periodontal disease as a comorbidity? *Arq Neuropsiquiatr*. 2009;67(2B):474-9.
6. Ozmeric N, Elgu NS, Uraz A. Salivary arginase in patients with adult periodontitis. *Clin Oral Invest*. 2000;(4):21-4.
7. Kendall HK, Haase HR, Li H, Xiao Y, Bartold PM. Nitric oxide synthase type-II is synthesized by human gingival tissue and cultured human gingival fibroblasts. *J Periodont Res*. 2000;(35):194-200.
8. Teixeira MJ, Marconi RM, Rocha RO, Figueiró JB. *Epidemiologia clínica da dor*. Rev Med. 1999;(78):36-54.
9. The International Classification of Headache Disorders. *J Int Headache*. 2004;(24):Suppl 1.
10. Siqueira JTT, Teixeira MJ. *Dor orofacial: diagnóstico, terapêutica e qualidade de vida*. 1ª ed. Curitiba: Editora Maio. 2001. 656p.
11. Anbar M, Gratt BM. Role of nitric oxide in the physiopathology of pain. *J Pain Symptom Manage*. 1997;14(4):225-54.
12. Ricciardolo FL, Sterk PJ, Gaston B, Folkerts L. Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiol Rev*. 2004;84(3):731-65.
13. Akerman S, Williamson DJ, Kaube H, Goadsby PJ. Nitric oxide synthase inhibitors can antagonize neurogenic, and calcitonin gene-related peptide induced dilation of dural meningeal vessels. *Br J Pharmacol*. 2002;(137):62-8.
14. Sjöstrand C, Modin H, Masterman T, Ekblom K, Waldenlind E, Hillert J. Analysis of nitric oxide synthase genes in cluster headache. *Cephalalgia*. 2002;22(9):758-64.
15. Armijo OS, Stiles CR, Hagen NA, Biondo PD, Cummings GC. Assessment of study quality for systematic reviews: a comparison of the Cochrane Collaboration Risk of Bias Tool and the Effective Public Health Practice Project Quality Assessment tool: methodological research. *J Eval Clin Pract*. 2012;18(1):12-8.
16. Fabri GMC, Sannomiya P, Prado CM, Leick-Maldonado EA, De Siqueira SRDT, Tibério IFC, et al. The expression of nitric oxide in the gingival tissue in subjects with periodontitis and chronic pain. *Int J Odontostomat*. 2014;8(2):279-87.
17. Gruber HJ, Bernecker C, Lechner A, Weiss S, Wallner BA, Meinitzer A, et al. Increased nitric oxide stress is associated with migraine. *Cephalalgia*. 2010;30(4):486-92.
18. Toriello M, Oterino A, Pascual J, Castillo J, Colás R, Alonso-Arranz A, et al. Lack of Association of endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and migraine. *Headache*. 2008;48(7):1115-9.
19. Batista AC, Silva TA, Chun JH, Lara VS. Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. *Oral Dis*. 2002;8(5):254-60.
20. Shibata K, Warbington ML, Gordon BJ, Kurihara H, Van Dyke TE. Nitric oxide synthase activity in neutrophils from patients with localized aggressive periodontitis. *J Periodontol*. 2001;72(8):1052-8.
21. Lappin DF, Kjeldsen M, Sander L, Kinane DF. Inducible nitric oxide synthase expression in periodontitis. *J Periodont Res*. 2000;35(6):369-73.
22. Van der Schueren BJ, Verbrugge FH, Verbesselt R, Van Hecken U, Depré M, de Hoon JN. No arguments for increased endothelial nitric oxide synthase activity in migraine based on peripheral biomarkers. *Cephalalgia*. 2010;30(11):1354-65.
23. Güllu C, Ozmeric N, Tokman B, Elgun S, Balos K. Effectiveness of scaling and root planing versus modified Widman flap on nitric oxide synthase and arginase activity in patients with chronic periodontitis. *J Periodont Res*. 2005;40(2):168-75.
24. Takahashi T, Homma H, Nagai H, Seki H, Kondoh T, Yamazaki Y, et al. Specific expression of inducible nitric oxide synthase in the synovium of the diseased temporomandibular joint. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003;95(2):174-81.
25. Aguilar FME, Casas BA, Rus A, Haro RMT, Martos JMM, Molina F et al. Among nitric oxide and enkephalins with fibromyalgia symptoms. *Nurs Res*. 2020;70(2):11-20.
26. Baad-Hansen L, Benoliel R. Neuropathic orofacial pain: facts and fiction. *Cephalalgia*. 2017;37(7):670-9.

27. Woldeamanuel YW, Cowan RP. Migraine affects 1 in 10 people worldwide featuring recent rise: a systematic review and meta-analysis of community-based studies involving 6 million participants. *J Neurol Sci.* 2017;372:307-15.
28. Kassebaum NJ, Smith AGC, Bernabé E, Fleming TD, Reynolds AE, Vos T, et al. Global, regional and national prevalence, incidence, and disability-adjusted life years for oral conditions for 195 countries, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries and Risk Factors. *J Dent Res.* 2017;96(4):380-7.
29. Haviv Y, Zini A, Etzioni Y, Klitinich V, Dobriyan A, Sharavet Y, et al. The impact of chronic orofacial pain on daily life: the vulnerable patient and disruptive pain. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2017;123(1):58-66.
30. Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *Int J Health Sci (Qassim).* 2017;11(2):72-80.
31. de-Pedro-Herráez M, Mesa Jiménez J, Fernández-de-Las-Penás C, de-la-Hos-Aizpuru JL. Myogenic temporomandibular disorders: Clinical systemic comorbidities in a female population sample. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2016;21(6):e784-92.
32. Lohinai Z, Benedek P, Fehér E, A Györfi, L Rosivall, A Fazekas et al. Protective effects of mercaptoethylguanidine, a selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase, in ligature-induced periodontitis in the rat. *Br J Pharmacol.* 1998;123(3):353-60.
33. Hirose M, Ishihara K, Saito A, Nakagawa T, Yamada S, Okuda K. Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. *J Periodontol.* 2001;72(5):590-7.
34. Daghigh F, Borghaei RC, Thornton RD, Bee JH. Human gingival fibroblasts produce nitric oxide in response to proinflammatory cytokines. *J Periodontol.* 2002;73(4):392-400.
35. Roberts FA, McCaffery KA, Michalak SM. Profile of cytokine mRNA expression in chronic adult periodontitis. *J Dent Res.* 1997;76(12):1833-44.
36. Spiller F, Oliveira Formiga R, Fernandes da Silva Coimbra J, Alves-Filho JC, Cunha TM, et al. Targeting nitric oxide as a key modulator of sepsis, arthritis and pain. *Nitric Oxide.* 2019;1:89:32-40.
37. Ashina M, Lassen LH, Bendtsen L, Jensen R, Olesen J. Effect of inhibition of nitric oxide synthase on chronic tension-type headache: a randomised crossover trial. *Lancet.* 1999;353(9149):287-9.
38. Cutrer FM. Pathophysiology of migraine. *Semin Neurol.* 2006;26(2):171-80.
39. Neeb L, Reuter U. Nitric oxide in migraine. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2007;6(4):258-64.
40. Bellamy J, Bowen EJ, Russo AF, Durham PL. Nitric oxide regulation of calcitonin gene-related peptide gene expression in trigeminal ganglia neurons. *Eur J Neurosci.* 2006;23(8):2057-66.
41. Veldman BA, Spiering W, Doevendans PA, Vervoort G, Kroon AA, de Leeuw PW, et al. The Glu298Asp polymorphism of the NOS3 gene as a determinant of the baseline production of nitric oxide. *J Hypertens.* 2002;20(10):2023-7.
42. Yoshihiro M, Yoshihiko S, Masafumi N, Yukio S, Toshihiro Y, Yoshimura M, et al. T-786C mutation in the 5'-flanking regions of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm. *Circulation.* 1999;99:2864-70.
43. Taffi R, Vignini A, Lanciotti C, Luconi R, Nanetti L, Mazzanti L et al. Platelet membrane fluidity and peroxynitrite levels in migraine patients during headache-free periods. *Cephalalgia.* 2005;25(5):353-8.
44. Pradhan AA, Bertels Z, Akerman S. Targeted nitric oxide synthase inhibitors for migraine. *Neurotherapeutics.* 2018;15(2):391-401.
45. Myles PS, Leslie K, Chan MT, Forbes A, Paech MJ, Peyton P et al. Avoidance of nitrous oxide for patients undergoing major surgery: a randomized controlled trial. *Anesthesiology.* 2007;107(2):221-31.
46. Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, Junker W, Alexander K, Frölich JC. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation.* 1997;95(8):2068-74.
47. Michel T, Feron O. Nitric oxide synthases: which, where, how, and why? *J Clin Invest.* 1997;100(9):2146-52.
48. Takahashi T, Kondoh T, Fukuda H, Yamazaki Y, Toyosaki T, Suzuki R. Proinflammatory cytokines detectable in synovial fluids from patients with temporomandibular disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85(2):135-41.
49. Palmer RM, Ferrige AR, Moncada S. Nitric oxide accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature.* 1987;327(6122):524-6.
50. Leibovich SJ, Polverini PJ, Fong TW, Harlow LA, Koch AE. Production of angiogenic activity by human monocytes requires an L-arginine/nitric oxide-synthase-dependent effector mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91(10):4190-4.
51. Amin AR, Abramson SB. The role of nitric oxide in articular cartilage breakdown in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol.* 1998;10(3):263-8.
52. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990;87(4):1620-4.
53. Gomes FIF, Cunha FQ, Cunha TM. Peripheral nitric oxide signaling directly blocks inflammatory pain. *Biochem Pharmacol.* 2020;176:113862.