

# ***I Curso de Férias em Fisiologia - UECE***

*Realização: Instituto Superior de Ciências Biomédicas  
Mestrado Acadêmico em Ciências Biológicas*

*Apoio:*



**GOVERNO DO  
ESTADO DO CEARÁ**  
*Secretaria da Ciência, Tecnologia  
e Educação Superior*

# INFLAMAÇÃO

## Laboratório de Fisi-Farmacologia da Inflamação

### 1. INFLAMAÇÃO AGUDA X INFLAMAÇÃO CRÔNICA

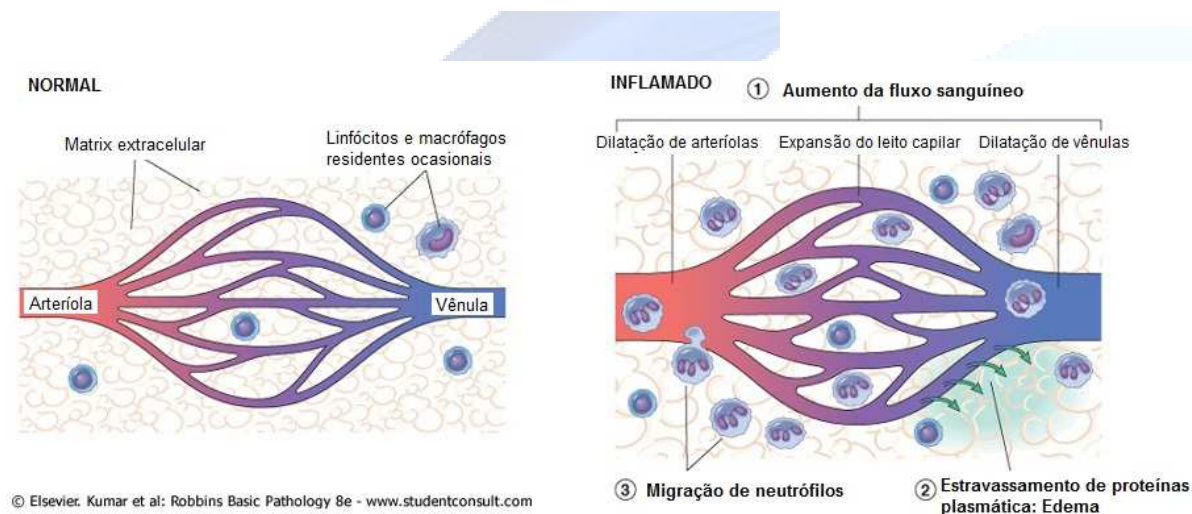
A inflamação caracteriza-se por um fenômeno complexo multimediado. Ela é uma resposta desencadeada por traumas, lesões teciduais e invasão por agentes infecciosos, com a finalidade de eliminar microorganismos ou outros agentes irritantes e potencializar o reparo tecidual (Sherwood; Toliver-Kinsky, 2004). O reconhecimento do agente/estímulo lesivo desencadeia a ativação e a amplificação do sistema imune resultando na ativação de células e na liberação de diversos mediadores responsáveis pela resposta inflamatória. No entanto, se a destruição do agente agressor e o processo de reparo não ocorrerem de maneira eficiente e sincronizada, a resposta inflamatória pode levar a uma lesão tecidual persistente induzida pelo acúmulo de leucócitos e colágeno, entre outras substâncias, que podem ser prejudiciais ao organismo (Nathan, 2002).

Os sinais clínicos da inflamação, eritema, calor, inchaço e dor, foram descritos por Cornelius Celsus no início da era cristã (Fantone; Ward, 1990). O quinto sinal da inflamação, lesão aguda dos tecidos, com perda da função dos órgãos foi mencionado mais tarde por Virchow, no século XIX (Rocha; Silva, 1978).

A inflamação pode ser classificada como aguda e crônica, de acordo com o tempo de duração e características patológicas. A inflamação aguda apresenta curta duração (horas a meses). Durante o processo inflamatório agudo, muitos mediadores como o óxido nítrico (NO) e prostaglandinas como a  $PGI_2$ ,  $PGD_2$ ,  $PGE_2$  e  $PGF_{2\alpha}$  promovem principalmente vasodilatação, um dos sinais clássicos do processo inflamatório agudo, representado pelo calor e rubor característicos da reação inflamatória (Sherwood; Toliver-Kinsky, 2004).

Outro sinal precoce da inflamação aguda é a formação de edema, que ocorre devido ao fluxo transvascular de fluido rico em proteínas plasmáticas dos compartimentos intravasculares para o interstício devido ao aumento de permeabilidade vascular de capilares e vênulas, como resultado da liberação de substâncias vasoativas como histamina, bradicinina, leucotrienos, produtos da ativação do complemento e da coagulação, substância P e fator de agregação plaquetária (PAF) no sítio inflamado (Figura 1). O aumento da permeabilidade vascular pode ocorrer por diferentes mecanismos, dependendo dos receptores ativados na célula endotelial ou da lesão provocada no vaso sanguíneo. Propõe-se que a histamina e leucotrienos causam contração endotelial; interleucina-1 (IL-1) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) participam da reorganização citoesquelética endotelial; leucócitos e agentes invasores provocam lesão vascular direta e

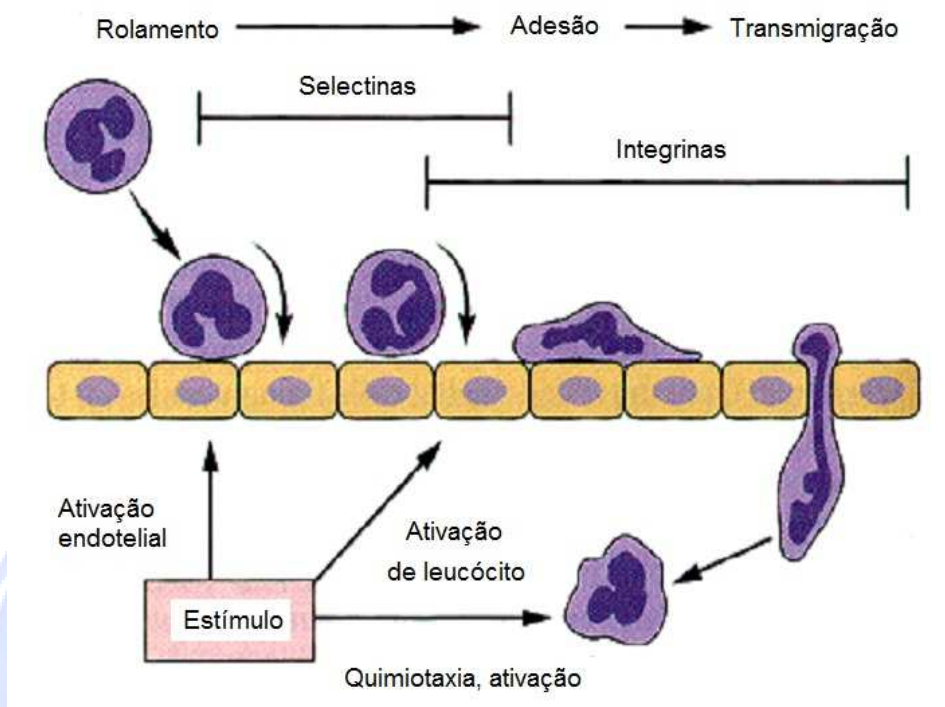
extravasamento de fluidos; fator de crescimento endotelial vascular gera aumento da transcitose e neovascularização, que também provoca extravasamento de fluidos (Sherwood; Toliver-Kinsky, 2004).



**Figura 1. Evolução da inflamação aguda.** Alterações vasculares e celulares induzidas pelo processo inflamatório.

Após a quebra do fluxo laminar sanguíneo provocado pelos eventos vasculares do processo inflamatório, os leucócitos, principalmente neutrófilos, começam a migrar para a região vascular periférica, fenômeno chamado de marginação. Posteriormente, essas células interagem com moléculas de adesão (selectinas, integrinas e imunoglobulinas), de natureza protéica, extremamente importantes na modulação da migração, pois possibilitam a adesão do leucócito ao endotélio (Mcever, 1991) (Figura 2). Nesta fase, ocorre a liberação de vários mediadores, em especial componentes do complemento como os fragmentos C3a e C5a, leucotrienos, quimiocinas e ainda bioprodutos bacterianos, que promovem a quimiotaxia de leucócitos e outras células fagocíticas para o sítio inflamado (Sherwood; Toliver-Kinsky, 2004; Aderem; Smith, 2004, Ribeiro et al., 1991; 1996).

As selectinas são lectinas endógenas que interagem com açúcares e/ou glicoproteínas e são responsáveis pela marginação e rolamento de leucócitos ao endotélio vascular passo inicial na seqüência dos eventos que resultará no extravasamento destas células nos sítios de lesão. Estruturalmente, as selectinas apresentam um domínio N-terminal semelhante ao domínio lectínico (responsável pela sua propriedade adesiva), um domínio semelhante ao fator de crescimento epidérmico, um número variável de repetições de consenso de uma seqüência encontrada nas proteínas reguladoras do sistema complemento, um domínio transmembrana e uma curta cauda citoplasmática (Tenaglia et al., 1997; Cronstein; Weissman, 1993; Rossiter et al., 1997).



**Figura 2. Emigração de leucócitos.** Etapas de rolamento, adesão e transmigração

Os três tipos de selectinas conhecidos foram denominados de acordo com o tecido no qual foram identificados: as L-selectinas são encontradas constitutivamente na superfície de leucócitos, sendo responsáveis pelo endereçamento (i.e., *homing*) durante a interação com ligantes endoteliais (Kansas, 1996); as E-selectinas são expressas nas células endoteliais após ativação por citocinas inflamatórias e se ligam a resíduos siálicos de oligossacarídeos presentes na superfície de leucócitos de maneira dependente de  $\text{Ca}^{++}$ ; e as P-selectinas, que são armazenadas em alfa-grânulos das plaquetas e corpos de Weibel-Palade (i.e., vesículas intracitoplasmáticas) das células endoteliais, e são prontamente expressas na membrana plasmática quando ativadas por citocinas, trombina, histamina e outros e se liga a resíduos siálicos de oligossacarídeos presentes na superfície de leucócitos de maneira dependente de  $\text{Ca}^{++}$  (Mcever, 1991; Varki, 1992; Eppihimer et al., 1996).

A interação das selectinas com seus ligantes resulta em um declínio dramático da velocidade de rolamento dos neutrófilos, o que permite que as integrinas promovam ligamentos firmes dos neutrófilos com o endotélio. As integrinas são ativadas por pelo menos uma variedade de citocinas quimiotáticas associadas à superfície endotelial. Após o rolamento, segue-se a adesão firme mediada por imunoglobulinas e  $\beta$ -2 integrinas. Essas últimas são proteínas presentes na membrana dos leucócitos e que podem ter sua expressão aumentada após a ativação destas células por mediadores inflamatórios como o PAF ou outras citocinas (Aderem; Smith, 2004).

As moléculas de adesão conferem à célula um “endereçamento”. Elas podem ancorar células em tecidos específicos ou direcionar células migrantes a determinadas regiões do corpo. As

ICAMs são moléculas de adesão que estão presentes no endotélio, sendo que as mais ligadas ao processo de migração são: ICAM-1 (Moléculas de adesão intercelular-1), ICAM-2 (Moléculas de adesão intercelular-2), VCAM-1 (molécula de adesão vascular) e PCAM-1 (molécula de adesão de célula endotelial e plaqueta). Mediadores inflamatórios liberados por células residentes ativadas podem agir aumentando a avidéz de ligação entre as moléculas de integrinas e os leucócitos, favorecendo a adesão firme (Cronstein; Weissman, 1993; Panés, 1999).

Após a firme fixação ocorre o achatamento da célula, reduzindo a exposição às forças decorrentes do fluxo sangüíneo vascular, aumentando-se desta forma a área de contato com a superfície endotelial vascular. Finalmente o leucócito migra entre as células endoteliais da região apical para a superfície basolateral (diapedese) em direção ao espaço extravascular. Assim, após o extravasamento, os leucócitos emigram nos tecidos em direção à região de agressão por um processo denominado de quimiotaxia ou locomoção através de um gradiente químico (Gilroy et al., 2004; Aderem; Smith, 2004).

A inflamação aguda pode finalizar-se com a resolução de todos eventos característicos da reação inflamatória e retorno do tecido lesionado à normalidade ou sua substituição por tecido conjuntivo (Gilroy et al., 2004; Aderem; Smith, 2004).

A progressão da resposta tecidual para inflamação crônica caracteriza-se por infiltração de células mononucleares, que incluem macrófagos, linfócitos e plasmócitos. Os processos inflamatórios crônicos são de duração prolongada estendendo-se de semanas a meses. Durante a inflamação crônica ocorrem simultaneamente: a presença de processo inflamatório ativo, tentativas de reparo tecidual com conseqüente destruição do tecido e formação de fibrose. Entre as doenças crônicas inflamatórias incluem-se artrite reumatóide, aterosclerose e lupus eritematoso sistêmico (Gilroy et al., 2004; Sherwood; Toliver-Kinsky, 2004).

A liberação de mediadores em tecidos inflamados pode sensibilizar fibras nociceptivas periféricas, promovendo a facilitação central da transmissão nociceptiva (Syriátowicz et al., 1999; Vanegas, 2004), levando a uma resposta dolorosa aumentada a um estímulo nocivo, chamado de hiperalgesia (Tjølsen; Hole 1997; Vanegas, 2004; Sommer; Kress, 2004; Coutaux et al., 2005). Alterações na percepção sensorial, envolvendo sensibilização central, pode levar a alodínia, que está relacionada à dor evocada por um estímulo normalmente não nocivo (Millan, 1999).

Como já referido, o processo inflamatório resulta da liberação de vários mediadores, alguns podendo ativar ou sensibilizar os nociceptores locais das fibras aferentes periféricas (C e Aδ). Desse modo, contribuem em grande parte para o desenvolvimento da dor de origem inflamatória, bem como para o aumento e/ou expressão de neurotransmissores, enzimas, canais iônicos e receptores (Levine et al., 1993; Dray et al., 1994; Besson; Dickenson, 1997; Coutaux et al., 2005).

## **2. MEDIADORES QUÍMICOS DA INFLAMAÇÃO**

Os mediadores inflamatórios são substâncias liberadas após agressão ou invasão tecidual e são responsáveis pela deflagração, condução e ampliação dos eventos inflamatórios. Podem ter origem plasmática ou tecidual (pré-formados ou sintetizados *de novo*) e agir tanto nas fases inicial e tardia do processo inflamatório agudo.

Os mediadores químicos envolvidos na inflamação, em geral, exercem suas funções biológicas por meio de ligação a receptores específicos sobre as células-alvo. E uma vez ativadas e liberadas, a maioria destas moléculas tem um ciclo de atividade curto, podendo haver diminuição de suas concentrações, inativação, neutralização e remoção e ainda, inibição (Rang et al., 2007; Siqueira Jr; Dantas, 2000).

A seguir são apresentados alguns mediadores inflamatórios importantes envolvidos no desenvolvimento da resposta inflamatória aguda.

### **2.1. Aminas vasoativas**

No grupo das aminas vasoativas pode-se destacar a histamina e a serotonina.

A histamina é o mediador químico mais importante das fases iniciais da resposta inflamatória aguda. Isto se deve em grande parte, pelo fato de ser um mediador pré-formado, que se encontra estocado nos grânulos dos mastócitos e basófilos, ligado a um complexo heparina-proteína. Plaquetas após agregação, também podem liberá-la. Os estímulos que geralmente causam sua liberação são agentes físicos, reação imune mediada por Imunglobulina E (IgE), C3a e C5a, LPS e Interleucina 1 (IL-1). A histamina causa dilatação de pequenos vasos e aumento da permeabilidade vascular, principalmente agindo sobre os receptores  $H_1$  e  $H_2$  (Rang et al, 2007; Siqueira Jr; Dantas, 2000).

A serotonina (5-HT) é liberada pela degranulação de mastócitos e por plaquetas, quando estas são ativadas, em casos de lesão tecidual. Nos vasos, podem atuar sobre o endotélio induzindo a liberação de óxido nítrico (NO) e inibição da liberação de noradrenalina das terminações nervosas. Promove agregação plaquetária e sobre os vasos apresenta ação ambígua: vasoconstrição quando o endotélio está intacto e vasodilatação quando há dano endotelial. A sua ação sobre os vasos se deve principalmente à ação sobre o receptor do tipo 5-HT<sub>2</sub> (Rang et al, 2007).

### **2.2. Derivados do ácido araquidônico (eicosanóides)**

Após a ativação celular por uma variedade de estímulos, os lipídios da membrana citoplasmática são rapidamente remodelados para gerar mediadores lipídicos biologicamente ativos. O ácido araquidônico (AA) é a principal fonte formadora de eicosanóides da inflamação; é um ácido graxo de 20 átomos de carbono liberado por meio da enzima fosfolipase A<sub>2</sub> após estímulos mecânicos, físicos ou químicos. Uma vez liberado, o AA pode ser oxidado por duas vias: da ciclooxigenase (gerando prostaglandinas e tromboxanos) e da lipoxigenase (gerando

leucotrienos e lipoxinas) (Rang, et al., 2007; Siqueira Jr; Dantas, 2000).

As prostaglandinas se apresentam subdivididas em vários tipos, sendo os mais relevantes para o processo inflamatório a  $\text{PGI}_2$  (prostaciclina),  $\text{PGE}_2$  e  $\text{PGD}_2$ . Todas as prostaglandinas citadas causam vasodilatação, sendo que a  $\text{PGI}_2$  e a  $\text{PGE}_2$  são produzidas por tecidos e vasos sanguíneos locais e promovem aumento da permeabilidade vascular potencializando o efeito da histamina e bradicinina sobre as vênulas pós-capilares, além de inibição da agregação plaquetária. A  $\text{PGD}_2$  é liberada por mastócitos e potencializa formação de edema. Já o tromboxano  $\text{A}_2$  é um ativador da agregação plaquetária e potente vasoconstritor, sendo importante no processo de hemostasia (Kulinsky, 2007; Rang et al., 2007).

Os leucotrienos se apresentam no processo inflamatório basicamente nos subtipos  $\text{C}_4$ ,  $\text{D}_4$  e  $\text{E}_4$ , que causam vasoconstrição, broncoespasmo e aumento da permeabilidade celular e  $\text{LTB}_4$ , um potente agente quimiotático para neutrófilos polimorfonucleares, eosinófilos e monócitos. O papel das lipoxinas é incerto, tendo em vista que podem apresentar efeitos pró e anti-inflamatórios: lipoxina A (LXA) induz vasodilatação e lipoxina B (LXB) pode bloquear a atividade de células *Natural Killer* (NK) (Siqueira Jr.; Dantas, 2000).

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

O PAF pode ser rapidamente produzido após um estímulo, tal como formação de complexo imune, presença de trombina, colágeno ou outros mediadores químicos, sendo as principais células envolvidas na sua produção mastócitos, basófilos, neutrófilos, monócitos, células endoteliais, plaquetas e eosinófilos. O PAF libera de seus grânulos histamina e serotonina, ativa a degranulação de leucócitos e induz quimiotaxia, promove vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular. A sua ação sobre as plaquetas consiste na indução da agregação, favorecendo a obtenção da hemostasia após lesão vascular (Kulinsky, 2007; Siqueira Jr; Dantas, 2000).

### **2.4. Óxido nítrico (NO)**

O NO é produzido por células endoteliais, macrófagos e alguns neurônios específicos no cérebro. Nos processos inflamatórios, o NO produzido é devido à expressão da isoforma induzida da enzima óxido nítrico sintase (iNOS), principalmente pela estimulação de citocinas (Nathan, 1997; Thiemerman, 1997). É um radical livre que, dependendo da sua quantidade pode ter efeitos benéficos ou maléficos sobre o organismo. O NO tem participação no controle do fluxo sanguíneo (Fortes; Hyslop; Dennuci Apud Brain; Page, 1994) e do aumento da permeabilidade vascular induzida por PAF e pela própria bradicinina (Mayhan, 1992).

### **2.5. Citocinas**

As citocinas desempenham um importante papel na inflamação, estando envolvidas no controle de quase todas as substâncias reguladoras e efetoras das reações inflamatórias. Geralmente, a ação de citocinas é para- e/ou autócrina, mas também circulam no plasma sanguíneo. São representadas pelo fator de crescimento transformador- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) e o fator estimulador de colônias de macrófagos (M-CSF), e na inflamação também estão incluídos TNF- $\alpha$ , as interleucinas 1 e 6 (IL-1 e IL-6) e M-CSF (Kulinsky, 2007).

TNF- $\alpha$  e IL-1 são secretadas principalmente por macrófagos e ativam células sanguíneas (neutrófilos, eosinófilos, basófilos e plaquetas), mastócitos do tecido conjuntivo, e endotélio, enquanto que a IL-6 estimula a síntese de proteínas inflamatórias de fase aguda nos hepatócitos e inibe a apoptose (Hodge; Hurt; Farrar, 2005). Já o TGF- $\beta$ , IL-4, 10 e 13 são consideradas citocinas antiinflamatórias, podendo inibir a produção de outras citocinas (Marques; Cizza; Sternberg, 2007).

As quimiocinas são citocinas envolvidas na quimiotaxia de células inflamatórias. São produzidas principalmente nos leucócitos e células endoteliais, sendo as mais importantes IL-8, MCP-1, TNF- $\alpha$  e TNF- $\beta$ , proteína inflamatória de macrófagos (MIP), etc. Além de quimioatrativas para alguns tipos de leucócitos, as quimiocinas estimulam a maturação e ativação de células, diferenciação de células imunes, angiogênese e auxiliam nos processos de regeneração (Kulinsky, 2007).

## Cininas

A bradicinina é sintetizada a partir do fator de Hageman, fator XII da cascata de coagulação e apresenta ação potente sobre a permeabilidade vascular, além de promover vasodilatação arteriolar e causar quimiotaxia para células inflamatórias. A bradicinina também pode induzir dor por ação direta sobre as fibras nervosas. Sua atuação se dá através do receptor B1, cuja expressão é induzida na presença de inflamação e lesão tecidual, principalmente por ação da IL-1 (Rang et al., 2007).

## REFERÊNCIAS

- ADEREM, A.; SMITH, K.D. A. Systems approach to dissecting immunity and Inflammation. **Semin. Immunol.**, Seattle, v.16, p.55-67, 2004.
- BESSON, M. J.; DICKENSON, A. The pharmacology of pain. **Berlin: Springer- Verlag**, Baltimore, v.130, p.21-41, 1997.
- COUTAUX, A.; ADAM, F.; WILLER, J.C.; LE BARS, D. Hyperalgesia and allodynia: peripheral mechanisms. **Joint Bone Spine**, Paris, v.72, p.359-371, 2005.
- CRONSTEIN, B.N.; WEISSMAN, G. The adhesion molecules of inflammation. **Arthritis Rheum.**, New York, v. 136, p. 147-157, 1993.

- DRAY, A.; BESSON, M. J.; DICKENSON, A. Peripheral mediators of pain In: *The pharmacology of pain*. **Springer-Verlag**, Berlin, v.130, p.21-41,1997.
- EPPIHIMER, M.J.; WOLITZKY, B.; ANDERSON, D.C.; LABOW, M.A.; GRANGER, D.N. Heterogeneity of expression of E- and P-selectins in vivo. **Circ Res.**, Shreveport, v. 79, n. 3, p. 560-9, 1996.
- FANTONE, J. C.; WARD, P. A.; RUBIN, E.; FARBER, J. L. **Inflamação:Patologia**. Rio de Janeiro, Brasil: Guanabara Koogan,1990, p.34-58.
- GILROY, D. W.; LAWRENCE, T.; PERRETTI, M.; ROSSI, A. G. Inflammatory resolution: new opportunities for drug discovery. **Nat. Rev.**, London,v.3, p.104-416, 2004.
- KANSAS, G.S. Selectins and their ligands: Current concepts and controversies. **Blood.** ,Chicago, v. 88, p. 3259-3287, 1996.
- LEVINE, J.D.; REICHLING, D.B. Peripheral mechanisms of inflammatory pain. In: WALL PD, MELZACK R, editor, **Textbook of pain**. 4 ed., Londres: Churchill Livingstone, p.59-84, 1999.
- MILLAN, M.J. The induction of pain: an integrative review. **Prog. Neuobiol.**, Paris, v. 57, p. 1-164,1999.
- NATHAN, C. Points of control in inflammation. **Nature**, New York, v. 420, p. 846-852, 2002.
- PANÉS, J.; PERRY, M.; GRANGER, D.N. Leukocyte-endothelial cell adhesion: avenues for therapeutic intervention. **Br. J. Pharmacol.**, Barcelona, v. 126, p. 537-550, 1999.
- RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; MOORE, P.K. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: 5 ed., Elsevier, 2007.
- RIBEIRO, R.A.; FLORES, C.A.; CUNHA, F.Q.; FERREIRA, S.H. IL-8 cause in vivo neutrophil migration by a cell dependent mechanism. **Immunology**, Ribeirão Preto, v. 73, p. 472-477, 1991.
- RIBEIRO, R.A.; SOUZA-FILHO, M.V.P.; SOUZA, M.H.L.P.; OLIVEIRA, S.H.P.; COSTA, C.H.S.; CUNHA, F.Q.; FERREIRA, S.H.P. Role of resident mast cells and macrophages in the neutrophil migration induced by LTB<sub>4</sub>, fMLP and C5a des arg. **Int. Arch. Allergy. Immunol.**, Ribeirão Preto, v. 112, p. 27-35, 1996.
- ROCHA E SILVA, M.O. Brief history of inflammation. In: VANE, J.R.; FERREIRA, S.H., **Handbook of Experimental Pharmacology**. New York: Springer-Verlag, p.6-5, 1978.
- ROSSITER, H.; ALON, R.; KUPPER, T.S. Selectins, T-cell rolling and inflammation. **Molecular Med Today**, USA, p. 214-222, 1997.
- SHERWOOD, E.R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammation response. **Best Pract. Res.Clin. Anaesthesiol.**, v.18, n.3, p. 385-405, 2004.
- SYRIÁTOWICZ J.P.; HU, D.; WALKER J.S.; TRACEY, D.J. Hyperalgesia due to nerve injury: role of prostaglandins. **Neurosci.**, Sydney, v.94, n.2, p.587-594, 1999.
- TENAGLIA, A.N.; BUDA, A.J.; WILKINS, R.G.; BARRON, M.K.; JEFFORDS, P.R.; VO, K. Levels of expression of P-selectin, E-selectin, and intercellular adhesion molecule-1 in coronary atherectomy specimens from patients with stable and unstable angina pectoris. **Am J Cardiol.**, Louisiana, v. 79, p. 742-47, 1997.
- TJØLSEN, A.; HOLE, K. Animal models of analgesia. In: **The pharmacology of pain.**, BESSON, M. J.; DECKESON, A. Berlin: Springer-Verlag, p. 21-41, 1997.
- VANEGAS, H.; SCHAIBLE, H. G. Descending control of persistent pain: inhibitory or facilitatory? **Brain Res Brain Res Rev**, Caracas, v. 46, n. 3, p. 295-309. 2004.
- VARKI, A. Selectins and other mammalian sialic acid-binding lectins. **Current Opinion in Cell Biology**. v. 4 (2), p. 257-266, 1992.