



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**NOVOS MEDIADORES LOCAIS DA INFLAMAÇÃO: PROCTETINAS
E RESOLVINAS**

Trabalho submetido por
João Filipe Rodrigues Figueiredo
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

novembro de 2014



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**NOVOS MEDIADORES LOCAIS DA INFLAMAÇÃO: PROCTETINAS
E RESOLVINAS**

Trabalho submetido por
João Filipe Rodrigues Figueiredo
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Fernanda Mesquita

novembro de 2014

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar aos meus pais, ao meu irmão e aos meus avós por todo o apoio e motivação que me deram ao longo de toda a minha vida pessoal e desta jornada académica, sem os quais tudo isto não teria sido possível.

Agradeço à minha namorada por me fazer acreditar que nada é impossível.

Quero agradecer a todos os meus amigos e colegas de curso, pelos momentos de amizade, diversão e cumplicidade vividos durante o meu percurso académico que jamais esquecerei.

Agradeço ao Dr. João Alves, Dra. Maria de Graça Santos e a todos os colaboradores dos serviços farmacêuticos do Hospital São José, pela disponibilidade e orientação que me proporcionaram.

Agradeço igualmente ao Dr. Gonçalo Paulino e a todos os colaboradores da Farmácia Central de Almada, pela disponibilidade e orientação que me proporcionaram.

Por fim, agradeço de forma especial à Prof. Doutora Fernanda Mesquita pelo apoio, ajuda e disponibilidade dispensada na elaboração deste trabalho.

Resumo

Diariamente o nosso corpo está sujeito a danos físicos ou infecções por microrganismos exógenos, este responde desencadeando uma resposta inflamatória, que consiste numa reação local e sistêmica onde ocorreu a alteração estrutural do tecido, sendo o principal objetivo detetar e eliminar os fatores que interferem com a homeostase do organismo.

No início da resposta inflamatória, as células inflamatórias invasivas produzem vários mediadores pró-inflamatórios aumentando o grau da inflamação e basicamente dois mecanismos de defesa: uma resposta inata e uma resposta imune adquirida.

Dependendo do momento da resposta inflamatória, os mediadores lipídicos são formados não só com o objetivo de inibir a inflamação, mas também para acelerar a resolução da inflamação.

Os mediadores lipídicos de pro-resolução como as lipoxinas, resolvinas, maresinas e proctetinas, são sintetizados a partir do ácido araquidónico e de ácidos gordos essenciais, como o ácido docosahexaenóico e o ácido eicosapentaenóico, durante a fase de resolução da inflamação aguda. Funcionalmente, estes mediadores lipídicos estimulam e aceleram a resolução através de mecanismos multifatoriais ao nível dos tecidos. Estes mediadores lipídicos pró-resolução têm sido considerados como um novo meio para o tratamento de diferentes tipos de doenças inflamatórias.

Palavras-chave: Inflamação, proctetinas, resolvinas

Abstract

Every day our body is subject to physical damage or infections by exogenous microorganisms, and it responds unleashing an inflammatory response, which consists of a local and systemic reaction where the structural alterations of the tissue occur, being the primary goal to detect and eliminate the factors that interfere with the body's homeostasis.

At the beginning of the inflammatory response, inflammatory invasive cells produce various proinflammatory mediators increasing the degree of inflammation and basically two mechanisms of defense: innate response and acquired immune response.

Depending on the time of the inflammatory response, lipid mediators are formed not only with the purpose of inhibiting inflammation, but also to accelerate the resolution of it.

The pro-resolution lipid mediators such as lipoxins, resolvins, maresinas, and protectinas are synthesized from arachidonic acid and essential fatty acids such as eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid, during the resolution of acute inflammation. Functionally, these lipid mediators stimulate and accelerate the resolution through the multifactorial mechanisms at the tissue level. These pro-resolution lipid mediators have been considered as a new way for the treatment of different types of inflammatory diseases.

Keywords: Inflammation, protectinas, resolvins.

Índice Geral

1 - Introdução.....	17
2. História da inflamação.....	18
3. Resposta Inflamatória.....	19
3.1. Resposta Inata	20
3.2. Resposta Adquirida	21
3.3 Resposta Inflamatória Aguda	22
3.4 Resposta Inflamatória Crónica	23
4. Mediadores do Processo Inflamatório	25
5. Resolução da Inflamação.....	31
6. Mediadores lípidos: resolvinas e protectinas.....	38
6.1. Origens dos mediadores lipídicos	38
6.2 Biossíntese e Funções dos Mediadores lipídicos	41
6.2.1. Resolvinas	41
6.1.3 Proctetinas	53
7. Aplicações terapêuticas	57
7.1. Asma.....	58
7.2. Alzheimer.....	59
7.3. Diabetes.....	61
8. Conclusão	65
9. Bibliografia.....	67

Índice de Figuras

Figura 1 - Componentes da via inflamatória: indutores, sensores, mediadores e tecidos-alvo.....	19
Figura 2 - Diferenças entre a resposta imunológica inata e adquirida.....	21
Figura 3 – Mediadores químicos produzidos pelas células no local da inflamação ou sintetizados pelo fígado	26
Figura 4 - Destinos da inflamação aguda	32
Figura 5 - Processo de resolução da inflamação pelos SPM.	34
Figura 6 - Duração da passagem da resposta inflamatória.	36
Figura 7 - Ação da cascata dos mediadores lipídicos derivados do ácido araquidônico e ómega-3	40
Figura 8 - Biossíntese de resolvinas da serie E	42
Figura 9 - Efeitos dos recetores na Resolvina E1	44
Figura 10 – Reações enzimáticas da biossíntese das resolvinas série D	47
Figura 11 - Reações enzimática da biossíntese de resolvinas pela aspirina	48
Figura 12 – Reações biossintéticas da protectina	53
Figura 13 - Expressão do fenótipo Th2 humano para produção de proctetinas.	55
Figura 14 - Origem da resistência á insulina	61
Figura 15 - Ação das resolvinas e proctetinas no ligado e tecido adiposo	62

Índice de tabelas

Tabela 1 - Características dos processos inflamatórios agudo e crónico	24
Tabela 2 - Locais da ação da PD1.	56

Abreviaturas

- AA - Ácido araquidónico
- Aspirina - Ácido acetilsalicílico
- AINES - Anti-inflamatórios não esteróides
- ALX/FPR2 - Receptor da lipoxina
- AT-LXA4 – Lipoxina mediada pela aspirina
- AT- RvD1 – Resolvina D1 mediada pela aspirina
- AT-RvD3 – Resolvina D3 mediada pela aspirina
- AT-NPD1/PD1 – Proctetina D1 mediada pela aspirina
- CCR5 - Proteína quimiocina recetora do tipo 5
- COX-2 - Ciclo-oxigenase-2
- cPLA2 - Enzimas fosfolipase
- CRP - Proteína C-reativa
- DHA - Ácido docosahexanóico
- E.coli - Escherichia Coli
- EPA - Ácido eicosapentaenóico
- GPCRs - Receptor acoplada á proteína G
- GPR32 – Receptor órfão
- ICAM – Adesão intracelular molecular - 1
- IL - Interleucina
- iNOS - Óxido nítrico sintase
- LO- Lipoxigenação
- LX – Lipoxinas
- MAPK – Proteínas quinases
- MCP-1 – Proteína quimotaxica de monócito
- NK – “Natural Killers”
- NO - Óxido nítrico
- PBMC - Células mononucleares sanguíneas periféricas

- PDs - Proctetinas
- PGs - Prostaglandinas
- PMN - Neutrófilos polimorfonucleares
- PUFA - Ácidos gordos poli-insaturados
- ROS - Espécies reativas de oxigénio produzidas por PMN
- RVs - Resolvinas
- SPM - mediadores especializados de pró-resolução
- TGF - Fator de crescimento transformante
- TLRs - Recetores Toll-like
- TNF - Fator de necrose tumoral
- TxB2 – Tromboxano B2
- VCAM-1 – Adesao vascular molecular-1

1 - Introdução

O funcionamento do organismo para que seja adequado, necessita que todos os tecidos realizem as suas funções de modo correto para prevenir e/ou caso seja necessário, eliminar invasores ou reconstruir lesões no organismo. Diariamente o corpo é sujeito a danos físicos ou infeções por microrganismos exógenos, que respondem localmente com o objetivo de eliminar os fatores estranhos, restabelecendo a integridade do tecido e retendo a informação sobre o agressor, com o intuito de facilitar o reconhecimento e a sua eliminação no futuro (Gerhard Bannenberg, Arita, & Serhan, 2007).

As alterações estruturais que um tecido pode ser sujeito são diversas e podem ser provocadas por diferentes origens: física (p.e.; radiação solar, calor, lesão por corte); química, vírica ou bacteriológica, provocando uma modificação da integridade do tecido, e uma rápida reação fisiológica do corpo no local da lesão ou infeção, desencadeando uma resposta inflamatória (Gerard Bannenberg & Serhan, 2010).

O processo inflamatório consiste numa dilatação dos vasos devido ao aumento do fluxo sanguíneo, bem como uma maior permeabilidade dos capilares e a intervenção de células fagocíticas e microbidas, nomeadamente os leucócitos e neutrófilos, células estas que apresentam funções crucias como primeira linha de defesa do sistema imunitário (Freire O & Van Dyke E, 2014) e a incorporação de uma série de proteínas plasmáticas que desempenham diferentes papéis na regulação do processo inflamatório (Gerard Bannenberg & Serhan, 2010).

A ação de processos inflamatórios na saúde e na doença tem grande relevância pois são mecanismos moleculares e processos biológicos que controlam a regressão e progressão da inflamação. Quando esta resposta inflamatória é descontrolada torna-se nociva para o organismo, podendo provocar doenças agudas, crónicas e sistémicas, por exemplo, doenças cardiovasculares, artrite reumatóide, doença periodontal, asma, diabetes, doenças inflamatórias intestinais (DII), perturbações neurológicas (alzheimer) ou degeneração muscular relacionada com a idade (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

2. História da inflamação

A inflamação é conhecida pela humanidade desde há milhares de anos (Medzhitov, 2010) durante mais de 2000 anos, a importância da inflamação na defesa do organismo tem sido um foco de atenção, isto porque, a batalha entre a resposta inflamatória do hospedeiro e o invasor pode provocar lesão dos tecidos ou órgãos, sendo que as diferenças nas resposta inflamatória entre os indivíduos depende da predisposição genética, e/ou do meio ambiente envolvente. Por consequência, o resultado fenótipo e/ou genótipo “hiper-inflamatório” também tem sido um dos alvos de estudo e o polimorfismo na variação dos genes pro e anti-inflamatórios que influenciam a dimensão da inflamação têm sido caracterizados (Novak, 2011).

No século I, Cornélio Celsus, identificou pela primeira vez os sintomas da doença inflamatória como o rubor, calor, edema e dor, sendo que o desenvolvimento desta doença foi definido como um desequilíbrio destes quatro sinais primordiais. Mais tarde, em 1858, as investigações de Rudolph Virchow com base na patologia celular, conduziu à inclusão de outro sinal essencial, a perda de função. Estudos posteriores desenvolvidos por Robert Koch e Louis Pasteur no final do século XVIII definiram a teoria do verme, onde identificaram os microrganismos como principais indutores da resposta inflamatória aguda e mais recentemente foram reconhecidos, avanços nos mecanismos celulares e moleculares que regulam o destino da inflamação (Freire O & Van Dyke E, 2014).

A inflamação é, assim um mecanismo de defesa do hospedeiro, é uma resposta imediata do corpo a uma lesão dos tecidos, provocada por uma infeção microbiana ou outros estímulos nocivos (Kundu & Surh, 2012).

3. Resposta Inflamatória

A resposta inflamatória consiste numa reação local quando ocorre uma alteração estrutural do tecido em que o principal objetivo é detetar e eliminar os fatores que interferem com a homeostase (Gerard Bannenberg & Serhan, 2010). Esta resposta pode ser controlada a vários níveis, contudo os princípios que a regulam ainda não estão completamente compreendidos, em parte, devido à complexidade da resposta inflamatória e dos inúmeros componentes envolvidos (Medzhitov, 2010).

Uma resposta inflamatória típica é constituída por quatro componentes como esquematizado na figura 1 (Freire O & Van Dyke E, 2014),(Medzhitov, 2010).

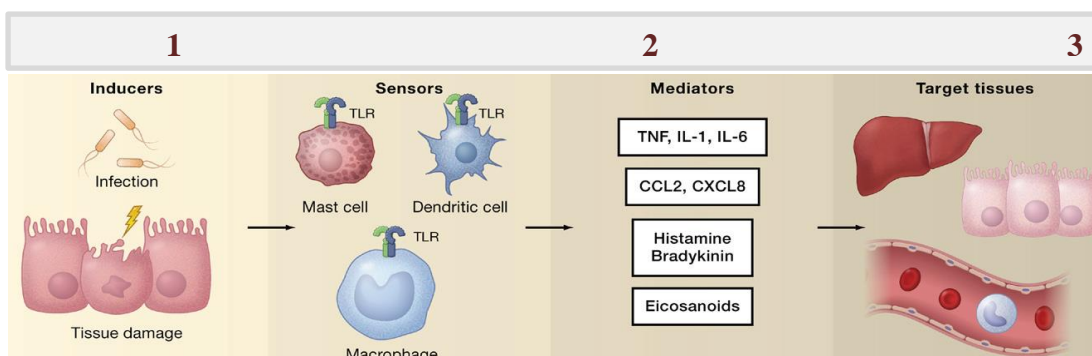


Figura 1 - Componentes da via inflamatória: indutores, sensores, mediadores e tecidos-alvo. Adaptado de (Medzhitov, 2010).

Nesta figura anterior verifica-se os quatro componentes do tecido e da inflamação, estes são:

- 1- Indutores inflamatórios: iniciam a resposta inflamatória e são detetados pelos sensores.
- 2- Sensores de deteção: como os recetores Toll-like (TLRs) são expressos por células sentinela especializadas, tais como os macrófagos, células dendríticas ou mastócitos e induzem a produção de mediadores.
- 3- Mediadores da inflamação induzidos pelos sensores: os mediadores como as citocinas, quimiocinas, aminas, eicosanóides bioativos e produtos de cascatas proteolíticas como a bradicinina, agem em vários tecido-alvo com o objetivo de

- 4- Provocar alterações nos seus estados funcionais otimizando a adaptação ao estado nocivo associados aos indutores específicos despertando a resposta inflamatória.
- 5- Tecidos-alvo infetados pela inflamação: tecido lesado, por exemplo por uma infecção. Os mediadores inflamatórios atuam sobre os tecidos-alvo, incluindo vasos sanguíneos induzindo a vasodilatação e a produção e neutrófilos.

No início da resposta inflamatória devido a uma agressão do tecido, as células inflamatórias invasivas produzem vários mediadores pró-inflamatórios que aumentam o grau da inflamação local e sistêmica (Melo, Yugar-toledo, Coca, & Júnior, 2007) que vai depender do tipo de infecção (bacterial, viral ou parasitária) (Medzhitov, 2010).

A reação inflamatória compreende basicamente dois mecanismos de defesa: uma resposta inespecífica (resposta inata) e uma resposta imune específica (resposta adquirida) (Coutinho, Muzitano, & Costa, 2009).

3.1. Resposta Inata

A resposta inata é responsável pela característica da região inflamada: vermelhão, edema, calor, dor e perda de função). Esta resposta inflamatória inicial é inespecífica, independente da lesão, contudo os fatores associados ao agente agressor e ao próprio tecido agredido levam a processos diferentes (Carvalho, 2012)(Coutinho et al., 2009)

Numa primeira resposta, a resposta inata, mediadores inflamatórios atuam dependendo da inflamação, sendo os recetores do sistema inato, como os TLRs expressos pelos macrófagos que detetam o organismo patogénico. Estes recetores induzem a produção de citocinas inflamatórias como o TNF (fator de necrose tumoral), IL-1 (interleucina 1) e IL- 6 (interleucina 6), as quimocinas, como a CCL2 e CXCL8, assim como as prostaglandinas, atuando assim de forma a induzir a vasodilatação (Ruslan, 2010). Os

neutrófilos, macrófagos e mastócitos entretanto solicitados procuram destruir os patogénicos invasores (Medzhitov, 2010).

Contudo, nem sempre a resposta inflamatória inicial é suficiente e o processo pode evoluir para um estado de inflamação crônica (Coutinho et al., 2009).

3.2. Resposta Adquirida

Numa resposta imunológica há produção de anticorpos específicos contra determinado agente agressor (Coutinho et al., 2009). No caso de infeções virais as células infetadas induzem a produção de interferões do tipo I (INF- α e INF- β) e linfócitos citotóxicos, enquanto que, no caso de infeções parasitárias conduzem à produção de histamina, IL-4, IL-5 e IL-13 pelos mastócitos e basófilos (Medzhitov, 2010).

Na figura 2 encontra-se esquematizado as diferenças entre a resposta inata e adquirida.

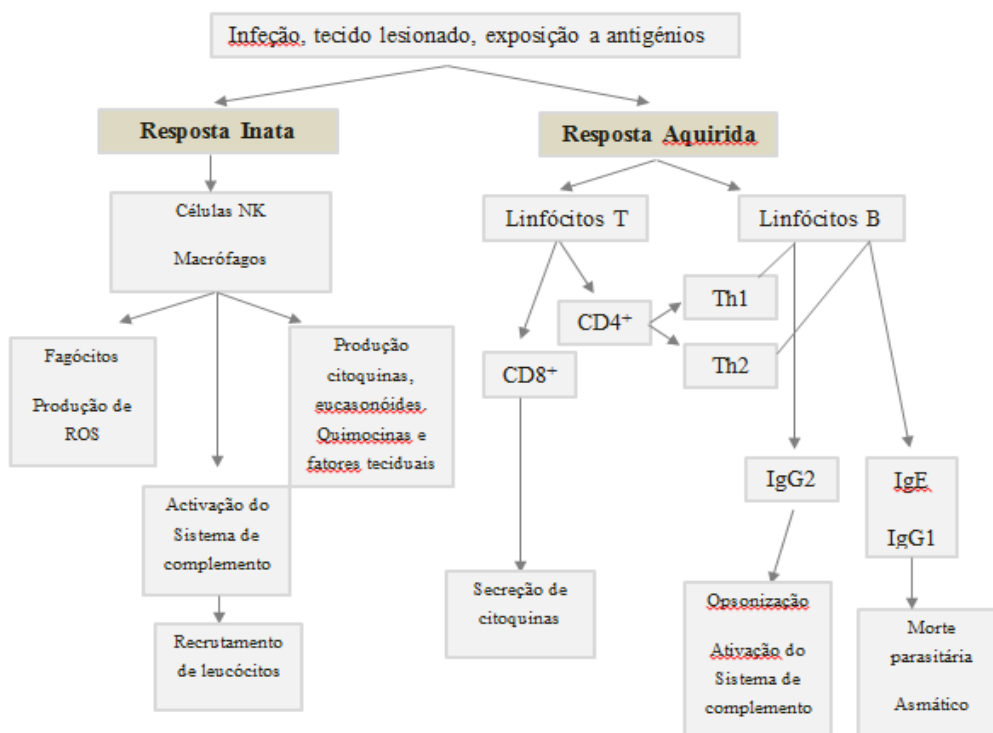


Figura 2- Diferenças entre a resposta imunológica inata e adquirida. Adaptado de (Sherwood & Toliver-Kinsky, 2004)

Como explicado anteriormente, a figura 2 resume sucintamente e de forma muito clara as grandes diferenças entre a resposta inata e a resposta adquirida. Assim, a resposta inata é a primeira linha de defesa do organismo, constituída por células NK, neutrófilos, macrófagos e células endoteliais, não apresentando esta memória imunológica, sendo essencial para infeções mais comuns. Na resposta adquirida, esta entra em ação quando a resposta inata não foi suficiente para eliminar microrganismos, é constituída por linfócitos e anticorpos e garante memória para um reconhecimento rápido para uma possível ataque futuro de um mesmo agressor.

3.3 Resposta Inflamatória Aguda

A inflamação aguda foi definida por ser uma resposta fisiológica que ocorre em tecidos vascularizados para defender o hospedeiro e manter a homeostase (Freire O & Van Dyke E, 2014). É um processo multicelular que visa proteger o hospedeiro contra infeções e lesões, sendo que evidências recentes indicaram que este mecanismo de proteção funciona como uma resposta temporal programada permitindo ao organismo atingir novamente a homeostase (Pillai et al., 2013).

A resposta inflamatória aguda, normalmente, termina quando o tecido danificado está completamente reparado (Medzhitov, 2010), sendo caracterizada pela vasodilatação, danos na vasculatura, infiltração de leucócitos para o local da infeção de forma a destruir os agentes patogénicos invasores, seguida por uma fase de resolução rápida e reparação do tecido danificado. Assim a inflamação aguda desempenha um papel benéfico contra infeções e lesões (Kundu & Surh, 2012).

Contudo as respostas inflamatórias em excesso podem surgir a partir da perda de programas de resolução endógenos e levar ao desenvolvimento de inúmeras doenças inflamatórias crónicas (Pillai et al., 2013).

3.4 Resposta Inflamatória Crônica

Se o agente que provocou a infecção não é completamente eliminado pela resposta inflamatória aguda, ou persiste por alguma razão, talvez a fase de resolução não tenha sido devidamente induzida, podendo resultar um estado de inflamação crônica. Este estado pode ser causado por infecções crônicas, alergénios persistentes, partículas estranhas ou cristais endógenos (Medzhitov, 2010).

As inflamações crônicas têm particular interesse, uma vez que são constantes nos países industrializados (Medzhitov, 2010), sendo que nas últimas décadas, o espectro de estados inflamatórios prevaescentes, passou de reações inflamatórias agudas a estados inflamatórios crônicos, como por exemplo o diabetes tipo 2, aterosclerose, asma, doenças neurodegenerativas e doenças cancerígenas, artrite, doenças periodontais, doenças cardiovasculares, cancro entre outras (Charles N Serhan, Chiang, & Van Dyke E, 2008), (Medzhitov, 2010). Estudos sugerem que aproximadamente 25% dos cancros têm origem etiológica na inflamação e/ou infecção crônica (Kundu & Surh, 2012).

A progressão de uma doença inflamatória aguda a crônica, são normalmente vistas como resultado de um excesso de mediadores pró-inflamatórios (Charles N Serhan et al., 2008), (Medzhitov, 2010).

Os mecanismos pelos quais a inflamação contribuiu para a carcinogénese são inúmeros, e para além destes processos bioquímicos que se encontram alterados, poderá existir uma expressão elevada, superprodução ou ativação anormal de diversos mediadores inflamatórios, com as citoquinas, quimiocinas, ciclo-oxigenase-2, prostaglandinas (PGs), óxido nítrico sintase (iNOS), óxido nítrico (NO) e produtos de glicosilação avançada (Kundu & Surh, 2012).

Em suma a inflamação pode ser aguda ou crônica, diferenciando-se apenas no tempo de exposição ao agente agressor, no tipo de agente e na resposta imune, ou seja, às células envolvidas e mediadores primários. Na tabela 1, resume as principais diferenças entre estes dois tipos de inflamação. Na inflamação aguda o agente físico ou químico provoca uma resposta rápida dos neutrófilos, monócitos, macrófagos e mastócitos e os mediadores inflamatórios atuam com o objetivo da reestruturação da lesão. No caso da

Novos Mediadores da Inflamação: Proctetinas e Resolvinas

inflamação crónica existe uma persistência do agente agressor, e as células envolvidas e os mediadores inflamatórios num processo, podem durar anos.

Tabela 1 - Características dos processos inflamatórios agudo e crónico. Adaptado de (Mesquita Jr. et al., 2010)

	Inflamação Aguda	Inflamação Crónica
Agente	Patogénicos orgânicos, radiação ionizante, agentes químicos, trauma mecânico.	Persistência do estímulo inflamatório inicial, auto-imunidade
Células envolvidas	Neutrófilos, macrófagos, mastócitos	Monócitos, Macrófagos, linfócitos, fibroblastos
Mediadores primários	Catecolaminas, eicosanoides, quimiocinas, espécies reativas de oxigénio	IFN-g, citocinas, fatores de crescimento, enzimas hidrolíticas
Início	Imediato	Tardio
Duração	Poucos dias	Meses ou anos
Evolução	Cicatrização com restituição, formação de abscesso ou evolução para estado crónico	Destruição tecidual e fibrose

4. Mediadores do Processo Inflamatório

Após uma agressão ao organismo em que ocorra eliminação do corpo agressor, é produzido um sinal pró-inflamatório local, podendo desencadear diversos acontecimentos e processos como: regulação local de citocinas, proteínas de fase aguda e produção de outros mediadores pró-inflamatórios (Anderson, Mullins, Hageman, & Johnson, 2002).

No final do século 20, Charles N Serhan, (2010), fez uma descoberta importante ao descobrir as moléculas que medeiam a resolução da inflamação (Freire O & Van Dyke E, 2014). No grupo de mediadores da inflamação, encontram-se: histamina, metabólitos do ácido araquidónico (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos), fator de ativação plaquetária, bradicinina, óxido nítrico, neuropeptídeos e citocinas (Coutinho et al., 2009).

Os mediadores lipídicos pro-inflamatórios, tais como as prostaglandinas e os leucotrienos, são conhecidos por dar início à resposta inflamatória (Pillai et al., 2013). Estes mediadores lipídicos ao produzirem a resposta inflamatória, podem tornar-se prejudiciais para a saúde humana (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

Na figura 3 encontram-se ilustrados, os mediadores químicos que podem ser produzidos pelas células no local da inflamação, ou circular pelo plasma (sintetizados pelo fígado), como precursores inativos que são ativados no local da inflamação.

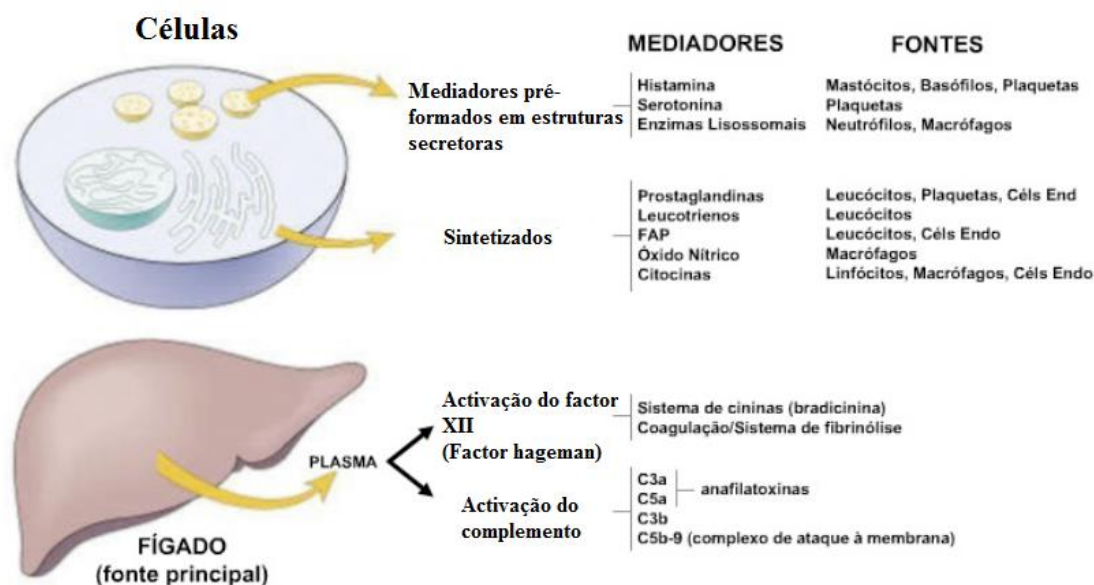


Figura 2 – Mediadores químicos produzidos pelas células no local da inflamação ou sintetizados pelo fígado. Adaptado de (Olteanu et al., 2014)

Relativamente aos mediadores químicos produzidos pelas células no local da inflamação, estes modulam o destino de inflamação. Os neutrófilos, macrófagos, células dendríticas e mastócitos produzem as citocinas, que visam controlar o início da inflamação, a sua manutenção e regulam a sua amplitude e a duração da resposta (Anderson et al., 2002).

As citocinas são proteínas de baixo peso molecular que regulam diversos processos fisiológicos, como o crescimento, o desenvolvimento, diferenciação e cicatrização de lesões e o sistema imunológico. Em resposta à inflamação as citocinas são segregadas a partir de células do sistema imunitário, algumas citocinas estimulam ou até agravam a inflamação, outras atenuam a resposta inflamatória (Kundu & Surh, 2012).

Processo inflamatório

A expressão das citocinas determina assim a natureza e a persistência da resposta inflamatória, sendo os factores de transcrição os responsáveis pela prolongação da produção de citocinas (Blanco & Neto, 2003).

O processo de transcrição é complexo e envolve diversas vias e tradução de sinais intracelulares, incluindo diversas proteínas quinases estimuladas por recetores da superfície celular. Os factores de transcrição ativados por estas proteínas quinases expõem assim os sinais de localização nuclear, deslocando-se para o núcleo (Blanco & Neto, 2003).

Citocinas como o TNF – α e as IL-1B, IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, atuam por meio de recetores específicos (Blanco e Neto, 2003) e têm sido relacionadas às inflamações associadas ao cancro. Interagindo com recetores específicos da superfície celular, estas citocinas ativam as quinases e os seus factores de transcrição que compreendem circuitos de sinalização celular traduzindo em respostas celulares.

As quimiocinas são citocinas com funções quimiotóxicas, que induzem a migração de células para o local da infeção. Os leucócitos presentes no sangue saem deste pela atração do gradiente funcional de factores quimiotácticos para o local da infeção. As quimiocinas são sintetizadas por uma variedade de células, incluindo células endoteliais, células epiteliais e do estroma, bem como por leucócitos (Kundu & Surh, 2012).

Com aumento da exsudação de proteínas, os defensores primários, os neutrófilos, migram em grande número de tecidos próximos para o local dos tecidos inflamados com o objetivo de neutralizar patogénicos e promover a eliminação de detritos celulares por fagocitose. A concentração de neutrófilos segue uma resposta rápida a partir de células sentinela (macrófagos e mastócitos) nos tecidos no momento da lesão. Após a acumulação local de neutrófilos é dado um segundo fluxo de células fagocíticas, os fagócitos mononucleares (monócitos), que promovem a apoptose (morte celular programada). A diferenciação de monócitos em macrófagos promove a remoção de neutrófilos apópticos e detritos celulares locais por fagocitose resultantes da inflamação, bem como pelas células mononucleares sem prolongar a inflamação (Freire O & Van Dyke E, 2014).

As células dendríticas têm como função primordial a captação de antígenos invasores presentes no organismo e apresentá-los a células fagocíticas, como os linfócitos T (Anderson et al., 2002). As células B e T são células especializadas que apresentam diversos receptores específicos que permitem a identificação e eliminação de agentes patogênicos, originando uma memória imunológica específica reduzindo uma nova infecção provocada pelo mesmo agente patogênico (Dunkelberger & Song, 2011).

O fator de necrose tumoral (TNF - Tumor Necrosis Factor) conhecido pela sua citotoxicidade tumoral, é um relevante mediador de inflamação e apresenta inúmeras funções fisiológicas. Este fator está presente no tratamento de inúmeras doenças inflamatórias humanas, sendo uma citocina envolvida em inflamações sistêmicas e estimulam a reação de fase aguda (Sedger & McDermott, 2014).

A regulação genética que leva à secreção de citocinas pró-inflamatórias a partir de uma variedade de células é geralmente dependente da ativação transcricional da proteína nuclear, o fator nuclear-kappa B (NF- κ B) (Freire O & Van Dyke E, 2014). O factor kB controla a transcrição da forma induzível da NOS, citocinas, moléculas de aderência, TNF- α e outros mediadores (Miranda et al., 2004).

Além da libertação de citocinas, o NF- κ B está envolvido em respostas celulares a estímulos como o stress, radicais livres, radiação ultravioleta e a múltiplos antígenos bacterianos e virais. Caso haja uma regulação incorreta do NF- κ B, pode originar cancro, doenças inflamatórias e auto-imunes, choque séptico e alterações da imunidade.

Estudos recentes provam que NF- κ B controla os processos iniciais da inflamação vascular, nomeadamente a adesão leucocitária e a quimiotaxia, bem como a atividade monocitária pela via da IL-6 (Carvalho, 2012).

O kappaB é activado por receptores de reconhecimento de padrões, como o lipopolissacarídeo, através do receptor Toll-like. A ligação dos receptores Toll-like induz a produção de citocinas inflamatórias, quimiocinas e mediadores lipídicos pró-inflamatória, tais como prostaglandinas (Freire O & Van Dyke E, 2014).

Ainda relativamente à figura 3, os mediadores químicos derivados do plasma sanguíneo levam à ativação do sistema do complemento. Este sistema integra o sistema imunitário inato e contribui para a primeira linha de defesa do organismo, estando também

Processo inflamatório

envolvido em diversos processos inflamatórios que tem atraído interesse como um potencial alvo terapêutico. Entender o sistema complemento e os seus mecanismos de ação é imperativo para o desenvolvimento de tratamentos de doenças infecciosas e auto-imunes (Dunkelberger & Song, 2011).

Os níveis proteicos plasmáticos podem variar drasticamente consoante a intensidade do evento inflamatório agudo. A concentração excessiva de ácidos nucleicos, mitocôndrias, lípidos e proteínas membranares para o meio extracelular, é sinónimo de um evento inflamatório clássico. A grande maioria das proteínas plasmáticas de fase aguda são sintetizadas e segregadas pelos hepatócitos do fígado, que as lançam para o meio extracelular (Anderson et al., 2002).

A CRP (proteína C-reativa) é produzida pelo fígado e só é libertada para o meio extracelular por estímulo da Interleucina-6 (IL-6). Esta proteína tem como função estimular a interação entre leucócito-endotélio e leucócito-citoquina, reduzir a síntese da eNOS (síntese de óxido nítrico pelo endotélio), bem como a sua atividade, promove a apoptose e induz o estado pro-trombótico pela estimulação do fator tecidual das células mononucleares endoteliais e musculares lisas. A Proteína C-reativa promove, ainda a expressão e síntese de pró-inflamatórios como a IL-1, IL-6, TNF- α , ICAM-1 e VCAM-1 (Carvalho, 2012).

5. Resolução da Inflamação

A resolução da inflamação aguda, por mediadores especializados de pró-resolução (SPM) era um processo desconhecido, até há pouco tempo atrás (Freire O & Van Dyke E, 2014). O termo da resposta inflamatória aguda por citocinas e quimiocinas a um estímulo, é definida por alguns autores como sendo um processo passivo ditado pela decomposição e cessação destes indutores.

Recentemente, com a investigação de Serhan & Chiang, (2008), a caracterização do isolamento endógeno de mediadores anti-inflamatórios e de pró-resolução tornou-se clara. A resolução é um processo ativo que envolve circuitos bioquímicos que biosintetizam mediadores lipídicos dentro da fase de resolução, tais como as resolvinas (C N Serhan & Chiang, 2008).

Os processos de inflamação aguda, crónica e de resolução em que a resposta auto-limitada apareceu por um mecanismo endógeno, controlando a magnitude e a duração da resposta aguda bem como os sinais cardinais da inflamação, foram considerados de forma a entender este processo. Na figura 4 está representado o processo de resolução da inflamação, em que um tecido danificado apresenta os quatro sinais cardinais da inflamação, podendo esta evoluir para inflamação aguda ou crónica, traduzindo-se numa fase final, na sua resolução.

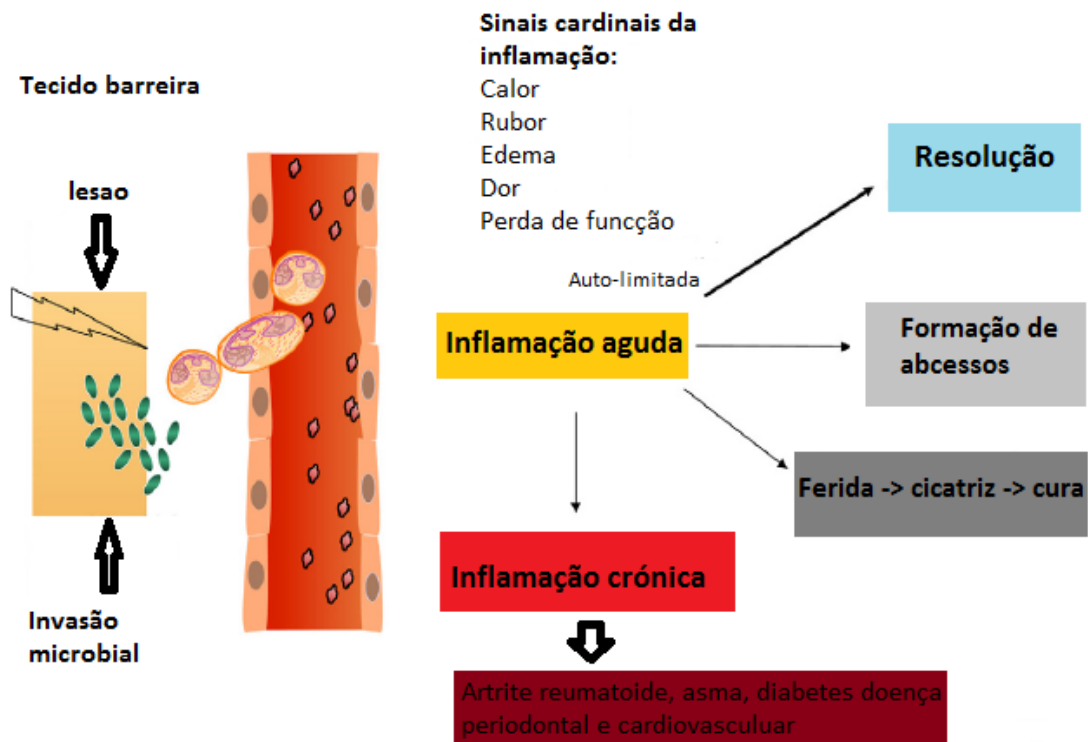


Figura 3 - Destinos da inflamação aguda. Adaptado de (Charles N Serhan, 2010)

A resolução é não apenas uma diluição passiva da inflamação, mas sim um recurso à ativação de eventos moleculares que contribuem para a remoção de células inflamatórias e de restauração da integridade do tecido (Gerhard Bannenberg et al., 2007).

A resolução da inflamação é iniciada por uma troca ativa da classe de mediadores, tais como as prostaglandinas e leucotrienos clássicos, para a produção de mediadores lipídicos pro-resolução. Estes mediadores lipídicos endógenos, incluindo lipoxinas (LXs), resolvinas (RVs), proctetinas (PDs), e maresinas, são biossintetizadas, durante a fase de resolução da inflamação aguda. Funcionalmente, estes mediadores lipídicos estimulam e aceleram a resolução através de mecanismos multifatoriais ao nível dos tecidos (Freire O & Van Dyke E, 2014).

Vários mecanismos conduzem ao desaparecimento dos leucócitos inflamatórios, funcionando conjuntamente ou em alternativa em diferentes tecidos do organismo. A

Processo de resolução da inflamação

apoptose de leucócitos é uma via importante para suprimir a inflamação aguda. As células fagocíticas depois de concluir a sua função sofrem morte programada em resposta a mediadores locais que regulam positivamente e negativamente a taxa de apoptose (Gerhard Bannenberg et al., 2007).

Os mediadores de pró-resolução exercem ações especializadas de acordo com a sua família, nomeadamente o bloqueio do fluxo de neutrófilos para o local e a ativação e recrutamento de monócitos para exercerem a fagocitose dos neutrófilos (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012). Estes mediadores lipídicos são especializados na estimulação de macrófagos para exercerem a sua ação na remoção de citocinas e quimiocinas e nos detritos celulares, bem como na apoptose de neutrófilos polimorfonucleares (PMN). Os PMN, por sua vez, ao serem fagocitados libertam resolvina E1 (RvE1), resolvina E2 (RvE2), proctetina 1 (PD1) e lipoxina A4 (LXA4). O processo de edema é bloqueado provisoriamente pelas LXA4, pois é um inibidor potente do edema.

A concentração circulante de ácido eicosapentanoico (EPA) e ácido docosahexanoico (DHA), provenientes de ómega-3, não precisam de locais específicos para armazenamento e posterior libertação, tornando o controlo da inflamação e resolução mais simples (Charles N Serhan, 2010).

Os macrófagos ao eliminarem totalmente os neutrófilos por apoptose abandonam o tecido inflamado através do sistema linfático. Os leucócitos polimorfonucleares ao morrerem, automaticamente é reduzido os níveis de citocinas pró-inflamatórias no local da inflamação, ou seja, provocam uma inibição da formação de mediadores pró-inflamatórios e estimulam a formação dos mediadores anti-inflamatórios como o factor de crescimento transformante (TGF- β), lipoxina (LXA4), e IL -10 (Gerhard Bannenberg et al., 2007).

Este processo explicado encontra-se esquematizado na figura 5.

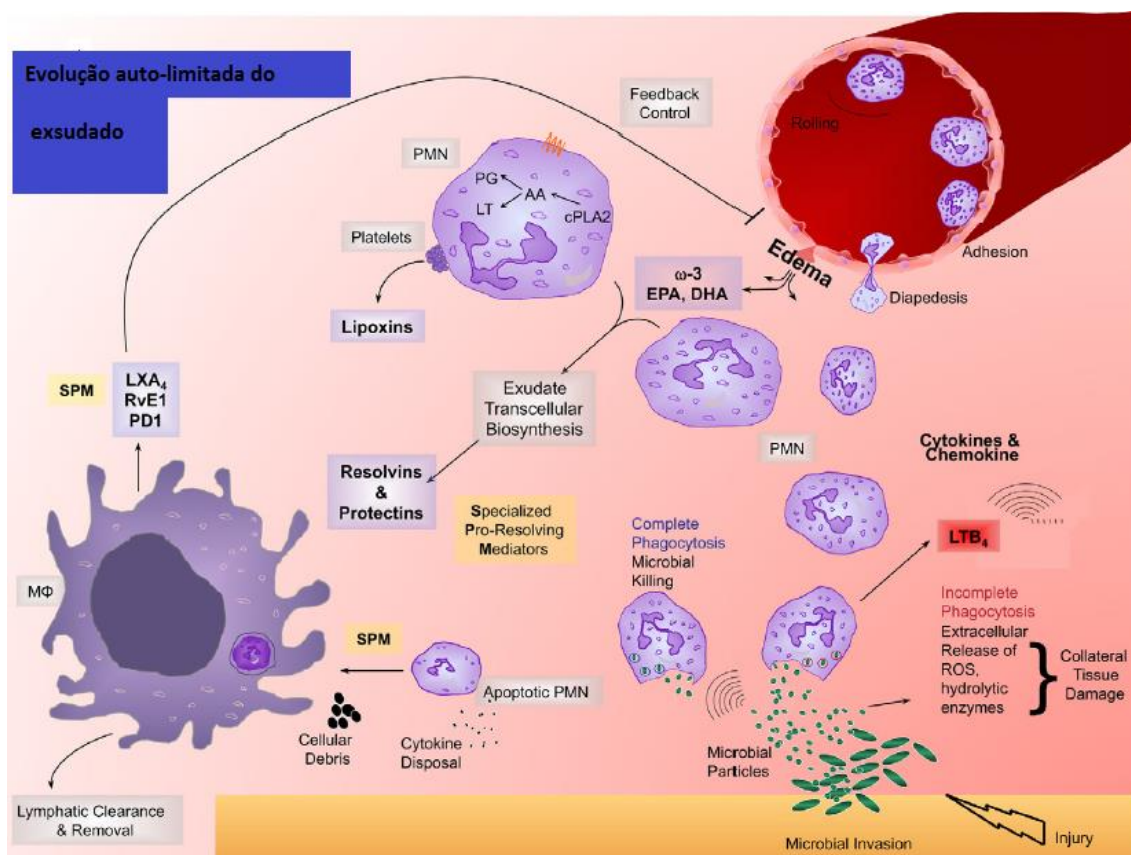


Figura 4 - Processo de resolução da inflamação pelos SPM. Adaptado de (Charles N Serhan, 2010)

Estas acções não podem ser consideradas anti-inflamatórias, uma vez que, os que reduzem a biossíntese de prostaglandinas por inibição das vias enzimáticas são os anti-inflamatórios não esteróides (AINES) (Charles N Serhan, 2010).

Dependendo do momento da resposta inflamatória os mediadores lipídicos são formados não só com o objetivo de inibir a inflamação, mas também para acelerar a resolução da inflamação. Existem mediadores químicos que funcionam como agonistas dos recetores endógenos estimulando a resolução da inflamação (Gerhard Bannenberg et al., 2007).

A fagocitose não é estimulada pelos compostos anti-inflamatórios, contudo, os SPM são agonistas que estimulam o citoesqueleto proporcionando assim alterações nas acções dos

Processo de resolução da inflamação

PMN que limitam a sua diapedese e acumulação no tecido, sem modificar a sua atividade antimicrobiana.

As diferentes ações dos SPM produzem uma nova ideia de resolução ativa como resposta programada do tecido que envolve um regulamento esperado de atividades de PMN e macrófagos (Charles N Serhan, 2010). Para que o organismo não seja prejudicado pelo processo inflamatório, este deve ser regulado para evitar a acumulação de leucócitos na inflamação e assim atenuar a magnitude da inflamação. O fluxo de leucócitos para o local da lesão, nestes casos produz uma quantidade de espécies reativas de oxigénio (ROS) e nitrogénio, que libertam protéases que provocam a perda de funcionamento e dano do tecido, impedindo de se reestruturar (Gerhard Bannenberg et al., 2007). Este fluxo de neutrófilos para o tecido lesado, fica comprometido caso haja uma inibição da produção epitelial de ROS. Sendo os sinais dados das ROS e cálcio, fundamentais para a aproximação de leucócitos ao tecido lesado (LeBert & Huttenlocher, 2014).

O aumento da ROS tem um papel importante na inativação do óxido nítrico (NO), além de aumentar a expressão de agentes pró-inflamatórios (Melo et al., 2007).

Os mediadores lipídicos pro-resolução não são produzidos ou estão com problemas ou defeitos, quando o processo inflamatório agudo continua por se resolver, transformando-se num processo de inflamação crónica, originando a fibrose e muitas patogénese de várias doenças (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

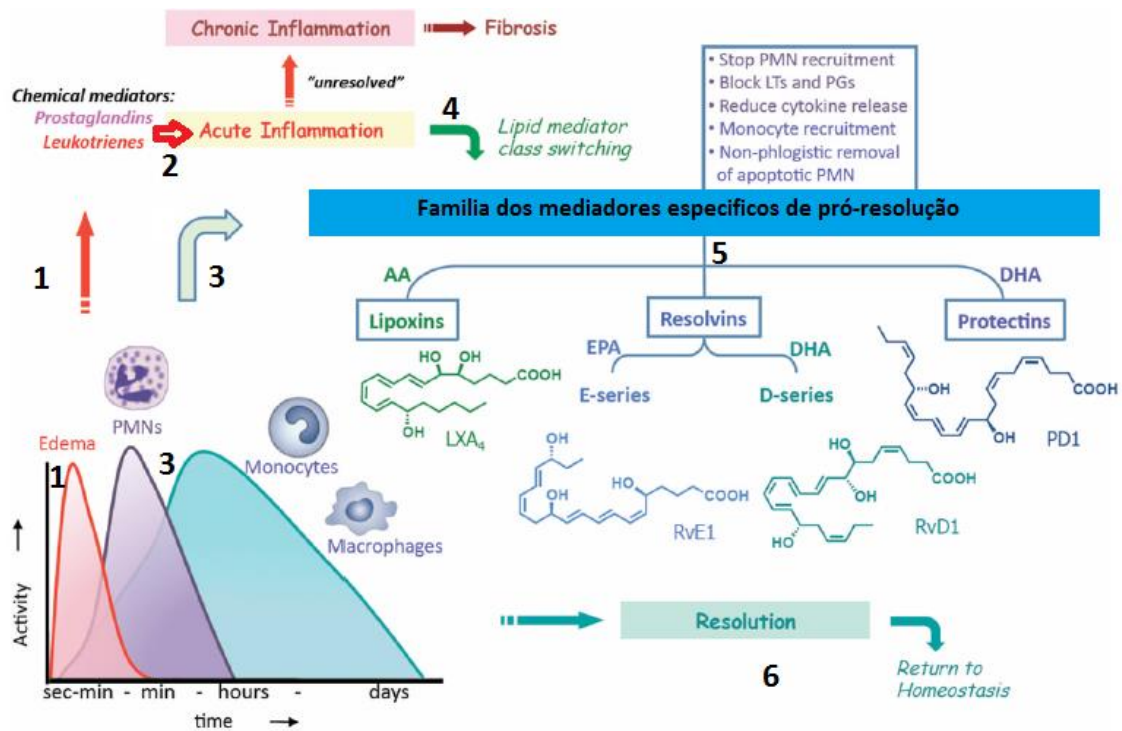


Figura 5 - Duração da passagem da resposta inflamatória Adaptado de (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

O processo de resposta inflamatória até à resolução decorre por seis etapas ilustradas na figura anterior:

- 1- As prostaglandinas e os leucotrienos são produzidos no início da resposta inflamatória em segundos ou minutos após uma lesão e regulam o edema e o fluxo de neutrófilos.
- 2- As prostaglandinas e leucotrienos promovem a inflamação aguda
- 3- Com o decorrer do tempo, de horas até dias, há uma redução de neutrófilos e por conseguinte um aumento do fluxo de monócitos e macrófagos, que leva a uma crescente produção de mediadores lípidos pró-resolução.
- 4- Num primeiro momento a maioria dos mediadores são os pró-inflamatórios, LTs, PGs, e num momento posterior, com a mudança de classe de mediadores lipídicos, os mediadores lipídicos pró-resolução Lipoxinas (LXs), Resolvinas (RVs), Proctetinas (PDs), tornam-se em maior número.

Processo de resolução da inflamação

- 5- Mediadores especializados pró-resolução: resolvinas, lipoxinas e proctetinas
- 6- Por ações combinadas destes mediadores a resolução da inflamação é terminada e a homeostase é atingida.

Grande parte dos fármacos que atualmente se utiliza para inibir a inflamação, afetam o processo de resolução, bem como o bloqueio dos principais passos da resolução prolongando a inflamação. Este processo pode ser invertido pela administração de LXA4, RvE1 ou PD1. Os resultados atingidos são animadores, tornando a farmacologia baseada na resolução, como uma das novas abordagens terapêuticas (Charles N Serhan, 2010). Esta nova abordagem terapêutica assenta numa plataforma sustentada num ácido gordo, o ómega-3, que é a base de todos os mediadores lipídicos, descritos no capítulo 6.

6. Mediadores lípidos: resolvinas e protectinas

6.1. Origens dos mediadores lipídicos

O Omega-3 e o omega-6 são ácidos gordos essenciais (FAS), que têm um papel estrutural e funcional muito importante em diferentes aspetos da biologia do corpo. Os FAS não são produzidos pelo corpo humano, sendo necessário o seu fornecimento ao organismo pelo consumo de certos alimentos (Rahimi, Farahani, Saeidpour, Jalaie, & Mahdi, 2014).

Os alimentos ricos em ácidos gordos essenciais provêm de várias fontes, como por exemplo de peixes gordos, como o arenque, cavala, sardinha e salmão. A qualidade do óleo de peixe está dependente do tipo de peixe, da altura e local de pesca. Este óleo tem várias aplicações, tanto em alimentos, como em produtos farmacêuticos (Vadivelan & Venkateswaran, 2014).

Inúmeros estudos referem os benefícios que estes ácidos gordos essenciais têm sobre a saúde humana e na prevenção de várias doenças, como a inflamação, imunomodulação, doenças auto-imunes, artrite reumatóide, doenças cardiovasculares, doença de Alzheimer e outras doenças neuro-degenerativas, diabetes tipo 2 e cancro.

Atualmente o ómega-3 é comumente utilizado como suplemento alimentar (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012). De acordo com outros estudos, o uso de suplementos alimentares ricos em ómega-3 durante a gravidez e na lactação pode ter impacto sobre o desenvolvimento fetal e infantil (Rahimi et al., 2014).

Evidências recentes, sugerem que o omega-3 pode ter efeitos benéficos sobre perturbações do humor, incluindo a depressão, distúrbio bipolar, esquizofrenia e demência, além de reduzir os triglicéridos (Vadivelan & Venkateswaran, 2014).

São vários os efeitos biológicos de omega-3 e omega-6, na funcionalidade do corpo humano. O omega-3 é constituído por ácido DHA e EPA, sendo estes responsáveis por

Processo de resolução da inflamação

várias funções vitais do corpo, incluindo o desenvolvimento do sistema nervoso (Rahimi et al., 2014).

Os mediadores lipídicos que são produzidos a partir de ácidos gordos poli-insaturados (PUFA), como o ácido araquidónico (AA) e o omega-3, nomeadamente o EPA e o DHA, desempenham um papel importante na ativação dos mecanismos anti-inflamatórios e de pro-resolução. Estudos recentes explicam que os mediadores lipídicos provenientes do AA e do ómega-3, tem ação agonista nos recetores endógenos de modo finalizar a inflamação e a estimular a resolução, (Gerhard Bannenberg et al., 2007), por acção de citoprotecção (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

Na figura 7, Charles N Serhan, (2010) ilustra as famílias dos mediadores lipídicos EPA e DHA. Na família EPA, existem as resolvinas da série E (RvE1 e RvE2), e na família de DHA, existem as resolvinas da serie D (RvD1, RvD2, RVD3, RvD4, RvD5, RvD6), as neuroprotectinas/ protectinas (NPD1/PD1) e as maresinas (Mar1). Para além desta descoberta, Charles N Serhan, (2010) afirma que novas séries de resolvinas D e protectinas são formadas na presença de aspirina e pela acetilação desta com COX-2 a partir de ácidos gordos poli-insaturados, por uma di-oxigenase, que insere uma molécula de oxigénio com estereoquímica oposta. A descoberta dos mediadores lipídicos: resolvinas, protectinas e maresins é de extrema importância desde a sua primeira base molecular até aos muitos benefícios do ómega-3 na saúde (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

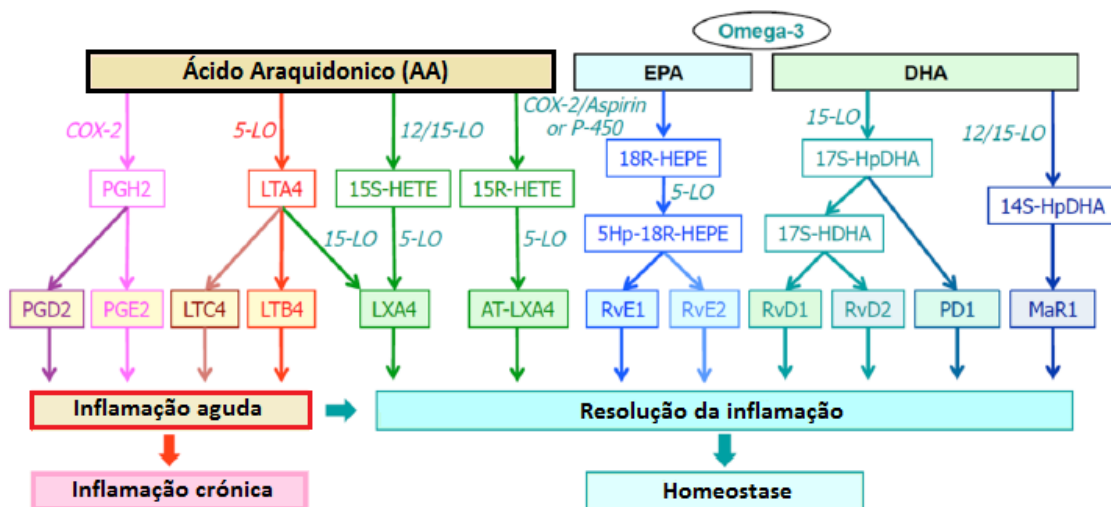


Figura 6 - Ação da cascata dos mediadores lipídicos derivados do ácido araquidônico e ômega-3. Adaptado de (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012)

As enzimas fosfolipases como as (cPLA2), têm ação na resposta inflamatória sobre os fosfolípidos para que estes libertem PUFA, como o AA, o EPA e o DHA. Estes ácidos gordos sofrem várias reações bio-sintéticas como as lipoxigenases (5-LO, 12-LO e 15-LO) e ciclo-oxigenases, principalmente nas inflamações induzidas pela COX-2.

A disponibilidade de AA, EPA e DHA em circulação no organismo e a formação dos mediadores lipídicos de pró-resolução por estes substratos, favorece a resposta inflamatória inicial, a defesa do organismo e por fim a resolução que leva ao retorno da homeostase.

Quando EPA e DHA são ingeridos, são rapidamente distribuídos pelo organismo, sendo que o DHA acumula-se mais em diferentes órgãos, como: a retina, esperma, córtex cerebral, baço e hemácias e o EPA acumula-se mais nos músculos, fígado, baço e hemácias. A albumina sendo um transportador de lípidos, transporta também ácidos gordos, DHA, como as resolvinas são um produto lipídico formado a partir de EPA e DHA, também são transportados pela albumina para o local da inflamação (Charles N Serhan, 2010).

Processo de resolução da inflamação

Os metabolitos hidroxilados derivados de PUFA são mediadores lipídicos potentes, que têm ação especializada sobre a inflamação, atuando sobre recetores específicos acoplados à proteína G (GPCRs). Uma vez ativados, estes recetores afetam os níveis de vários fatores enzimáticos, quimiocinas e citocinas, que desempenham um papel dominante na inflamação e expressão da resolução.

Os estudos de Serhan e Petasis acerca da conversão de DHA a resolvinas da série D e proctetinas/neuroproctetinas, bem como pelas novas maresinas, demonstraram que podem ser um bom alicerce para novas terapêuticas e benéficas para a saúde (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

6.2 Biossíntese e Funções dos Mediadores lipídicos

6.2.1. Resolvinas

6.2.1.1 Resolvinas série E

As resolvinas E1 (RvE1) e as resolvinas E2 (RvE2), são biosintetizadas por uma oxigenação de EPA, catalisada pela acetilação da COX-2, que é formada ou na presença de aspirina ou pela via do citocromo P450, que forma um ácido 18R-hidroperoxi-eicosapentaenóico (18R-HpEPE) e que se reduz por uma peroxidase a 18R-H. Esta peroxidase sofre uma segunda lipoxigenação catalisada pela 5-LO, produzindo assim um epóxido que ao sofrer hidrólise enzimática pela enzima hidrólase produz RvE1. Sendo a RvE2 formada por uma peroxidase da 5Hp-18R-HEPE. Todo este processo encontra-se ilustrado na figura 8.

Diversos voluntários humanos saudáveis foram monitorizados para RvE1, com administração de EPA e aspirina de modo a fundamentar todo este processo bioquímico. Estudos recentes demonstraram que um isomérico 18S - RvE1 também pode ser produzido *in vivo* em indivíduos humanos saudáveis. Charles e Nicos demonstrou o isolamento, elucidação da sua estrutura química e estereoquímica completa de RvE1

bem como as suas ações. Foi produzido um isómero 18S, da RvE1 18R, que revela atividade anti-inflamatória e de pró-resolução (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012)

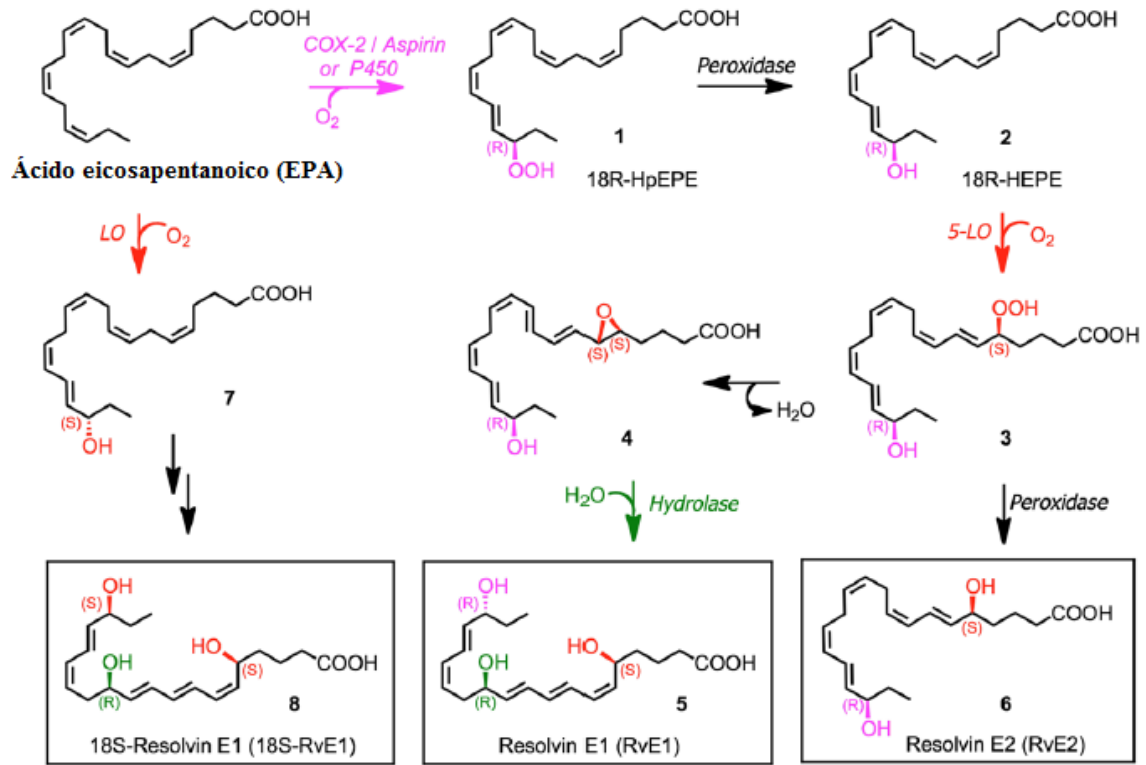


Figura 7 - Biossíntese de resolvinas da serie E. adaptado de (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012)

6.2.1.1 Resolvina E1

A resolvina E1 é formada no processo de inflamação quando as células endoteliais interagem com os leucócitos, regulando os níveis de mediadores pro-inflamatórios pela inibição da migração de células dendríticas, assim como pela libertação de citocinas e pela regulação de leucócitos pela expressão da proteína receptora do tipo 5 (CCR5). Este complexo produz ação tanto anti-inflamatória como de pró-resolução.

Foi identificada a ação da resolvina E1 na mucosa do trato digestivo, nomeadamente na regulação da inflamação, assim como a sua ação na reestruturação de vários tecidos, incluindo o do osso.

Todas as consequências da inflamação podem ser prevenidas por esta resolvina. Esta RvE1 prova ser mais eficaz que certos medicamentos, como a dexametasona ou a aspirina em vários modelos inflamatórios, sendo que a RvE1 demonstra ter ação em baixas concentrações, nanogramas, enquanto a dexametsona e a aspirina necessitam de concentrações de microgramas ou até de miligramas para produzir o mesmo efeito.

Esta resolvina possui ainda uma importante ação na resposta das estruturas celulares e na rápida e simplificada cicatrização de lesões nas células epiteliais (Levy, 2010).

Num exsudado a RvE1 reduz vários níveis de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, nomeadamente, IL-6, TNF- α , KC, JE, MIP-1 α , MIP-2, e RANTES, durante a resolução (Gerhard Bannenberg et al., 2007).

Contudo, a RvE1 para controlar a inflamação celular necessita de interagir com recetores específicos.

A resolvina E1 para executar a sua função e controlar a inflamação celular, necessita de ligar-se a mais de um recetor, que na maioria das situações são receptores específicos das células. A ação biológica ficou provada pela presença de dois recetores acoplados à proteína G (GPCRs) em leucócitos, que compõem a superfície da RvD1 (Charles N Serhan, 2010). Esta ação biológica exercida pela interação com GPCRs, é justificada

Novos Mediadores da Inflamação: Proctetinas e Resolvinas

por dois recetores, o receptor ChemR2344 (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012) e o receptor do leucotrieno B4, o BLT1 (C N Serhan & Chiang, 2008).

A ligação de RvE1 a estes recetores é igual, tanto para ChemR23 como para BLT1. O ChemR23 é expresso em macrófagos e células dendríticas, levando RvE1 a estimular a pró-resolução, contudo, ao ligar-se a BLT1 a sua ação bloqueia os PMN (Charles N Serhan, 2010).

Estudos revelam que RvE1 interage seletivamente com BLT1, ativando-a, com o objetivo de regular os sinais intracelulares. Assim, esta interação induz uma modulação de LTB4, traduzindo-se numa redução dos sinais pró-inflamatórios (Charles N Serhan, Krishnamoorthy, Recchiuti, & Chiang, 2011).

O ChemR23 é o recetor acoplado à proteína G, em que a RvE1 atua como agonista para moderar a produção de citocinas, ativadas pelo NF- κ B e para estimular quinases específicas, MAPK (Levy, 2010).

O recetor ChemR23 é regulado pela citocina anti-inflamatória TGF- β . No entanto a ativação deste recetor que medeia a RvE1, provoca nesta resolvina ação inibitória do fluxo de células dendríticas, bem como a redução de IL-12 por estas células dendríticas, vindas do baço (Gerhard Bannenberg et al., 2007).

Na figura 9, encontra-se esquematizado a ação dos receptores da RvE1 e todas as células em que os receptores atuam.

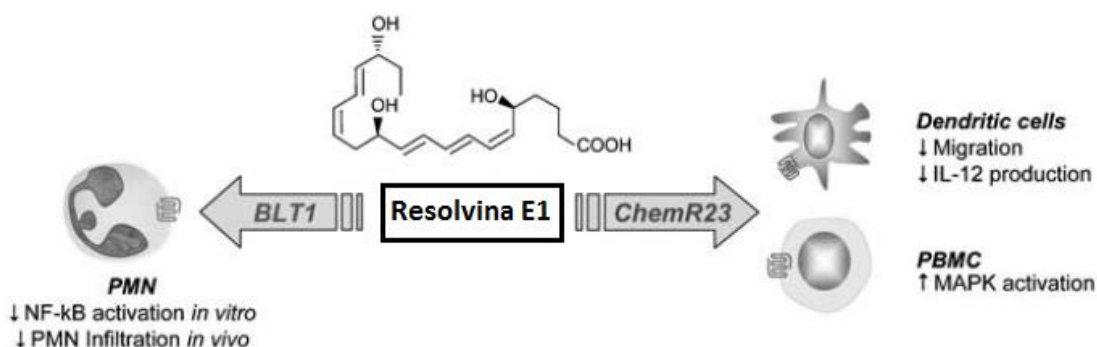


Figura 8 - Efeitos dos recetores na Resolvinina E1. Adaptado de (C N Serhan & Chiang, 2008)

Processo de resolução da inflamação

Segundo alguns investigadores, as RvE1 ou LTB4, induzem em células mononucleares sanguíneas periféricas (PBMC) humanas, um aumento da concentração de cálcio intracelular. Sendo que em RvE1 induz um terço do de LTB4, no entanto, uma exposição prévia de RvE1 traduz-se numa modulação de LTB4, nos sinais de cálcio em leucócitos.

O ChemR23, torna a resolvina RvE1 um agonista seletivo para a não expressão de TNF- α , que é estimulada pela ativação do NF-kB. A ligação entre RvE1 e ChemR23 produz uma ação anti-inflamatória (Charles N Serhan et al., 2011).

Resumidamente a RvE1 é descrita como tendo ação anti-inflamatória e de pró-resolução sobre a redução da expressão dos genes pró-inflamatórios, promovendo a apoptose de PMNs por macrófagos, regulando seletivamente as plaquetas e leucócitos, reduzindo também a dor inflamatória.

Longa é a investigação, no entanto, a RvE1 demonstra possuir potencial para controlar e regular a dor, o que a torna um mediador interessante para terapia analgésica de muitas doenças (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

Vários são os resultados dos efeitos com RvE1, no entanto, a investigação realizada por Charles N Serhan, (2010) com o fungo *Candida albicans*, demonstra que este fungo consegue produzir RvE1 usando como fonte os nutrientes do hospedeiro, aumentando assim a fagocitose e espécies reativas de oxigénio (ROS), que provocam a sua morte e o bloqueio da produção de IL-8 a partir de células epiteliais que reduzem o fluxo de PMN.

A inflamação do tecido ocular é reduzida pela RvE1, bem como o número de macrófagos, proporcionando assim, redução dos sintomas de olho seco (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

Numa inflamação ocular induzida por Herpes vírus simplex, (HSV), a RvE1 diminuiu significativamente as lesões da córnea e da angiogénese, assim como, as células T e PMN. Conclui-se assim que RvE1 representa uma nova abordagem terapêutica para o controlo de doenças virais (Charles N Serhan & Chiang, 2013).

6.2.1.1.2 Resolvina E2

A resolvina E2 tem uma estrutura química, 5S,18(R/S)-dihidroxi-ácido eicosapentaenóico, que é diferente de todas as resolvinas da mesma série, sendo esta sintetizada a partir de EPA por PMNs humanos (Levy, 2010).

Nos PMNs humanos, a RvE2 é produzida em maior quantidade do que RvE1, no entanto, (Stables & Gilroy, 2011), estudos recentes revelam que RvE2 é mais eficiente que RvE1 (Gerhard Bannenberg et al., 2007), e tanto como RvE3, no bloqueio e redução do fluxo de PMN ao local inflamado (Charles N Serhan & Chiang, 2013).

As ações de proteção são semelhantes às da RvE1, no entanto esta resolvina E2 requer outros recetores que continuam a ser alvo de investigação (Levy, 2010).

Esta resolvina da série E, ainda não está completamente estudada, pois os seus recetores ainda não estão definidos o que a torna motivo de investigação (Stables & Gilroy, 2011).

6.2.1.2 Resolvinas série D

As resolvinas da série D (RvD1 a RvD6), são fruto de uma conversão bio-sintética de DHA por duas reações de lipoxigenação. A primeira resulta num substrato 17S-HpDHA e a segunda num 17S-HDHA, que são catalisadas pela enzima 15-lipoxigenase (15-LO), originando um complexo 7S, 8S-epóxido, por remoção de uma molécula de água. Este ao sofrer hidrólise enzimática, forma a RvD1 e RvD2, ao passo a RvD5 é formada após uma peroxidase do complexo formado pela dupla lipoxigenação. As RVD3, RvD4 e RvD6, são formadas após a dupla lipoxigenação.

Todo este processo bio-sintético encontra-se esquematizado na figura 10, que torna possível verificar os substratos formados pelas reacções enzimáticas referidas.

Processo de resolução da inflamação

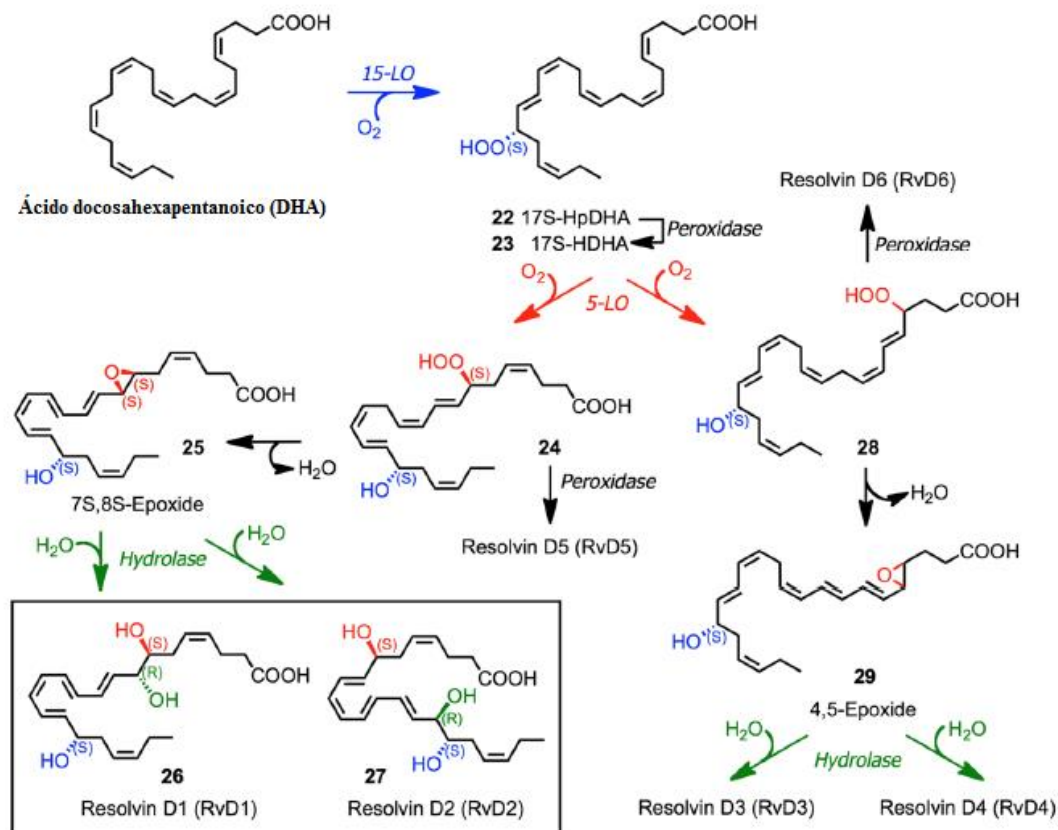


Figura 9 – Reações enzimáticas da biossíntese das resolvinas série D. Adaptado de (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012)

Tal como nas resolvinas da serie E, as resolvinas da serie D, também formam análogos pela presença da aspirina, via acetilação da COX-2 ou por meio de um P450, formando respetivamente AT-RvD1, AT-RvD2, AT-RvD3 e AT-RvD4, que estão representados na figura 10 (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

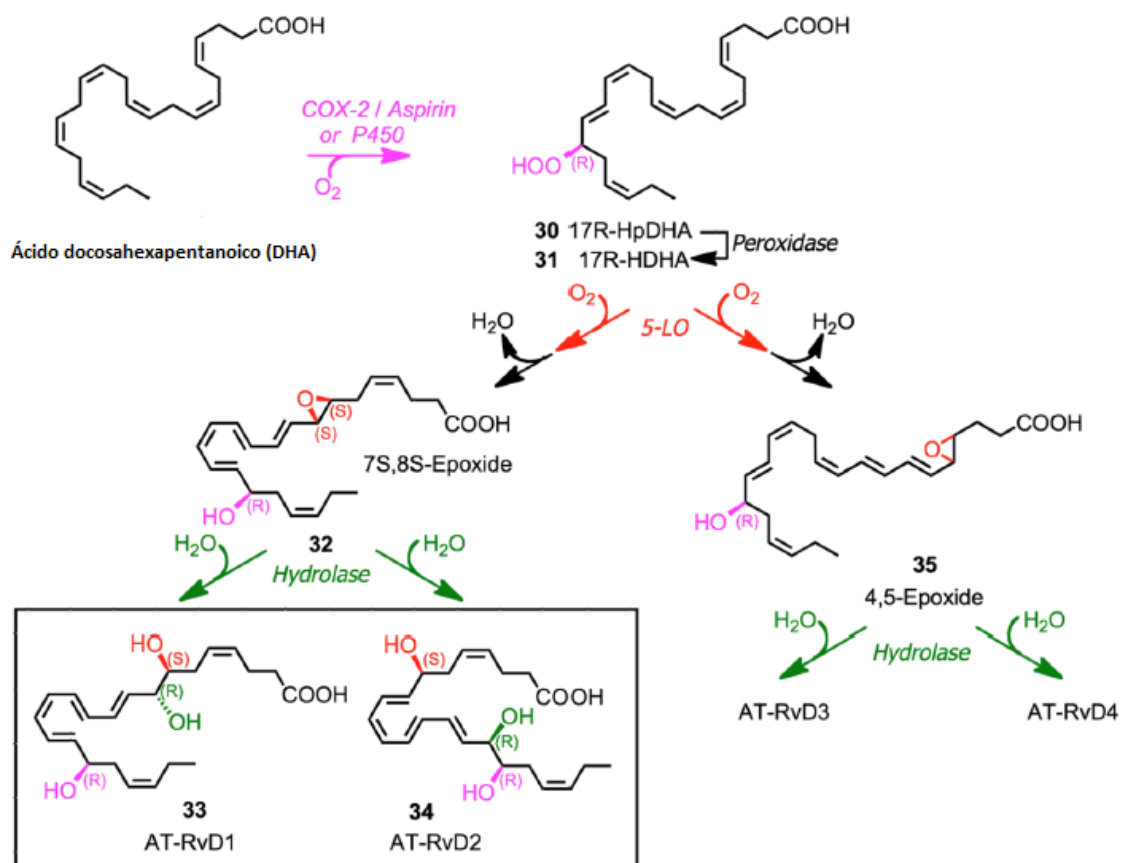


Figura 10 - Reações enzimática da biossíntese de resolvinas pela aspirina. Adaptado de (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012)

6.2.1.2.1 Resolvinas D1

A produção da resolvina D1 (RvD1) é efetuada por diversos órgãos e células, como os neutrófilos, órgãos hematopoiéticos e cérebro de peixes (Dalli et al., 2013).

A RvD1 é bio-sintetizada por duas oxigenações sequenciais na posição do carbono 7 e 17 a partir do DHA. Estudos demonstram que a RvD1 e AT-RvD1, reduzem significativamente o fluxo de leucócitos no local da inflamação em testes *in vivo*, em doses semelhantes a certos fármacos, indicando ação muito intensa destes mediadores derivados de DHA (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

Processo de resolução da inflamação

Num estudo realizado por outros investigadores, sobre a concentração de PMN no tecido pulmonar, RvD1 revelou ser mais eficiente que RvE1 no fluxo de PMN para o local lesado.

Tal como RvE1, a resolvina D1 é sujeita a inativação metabólica local (Charles N Serhan et al., 2011). Além disto a RvD1 bloqueia o LTB₄, que regula o funcionamento das moléculas de adesão e ativa o recetor da lipoxina (ALX/FPR2) e um recetor órfão, GPR32.

Outros estudos demonstram que a RvD1 é produzida para actuar em resposta a uma isquemia/ reperfusão bilateral de uma lesão no rim (C N Serhan & Chiang, 2008).

A RvD1 possui grande conexão e ligação específica com células fagocíticas, tornando assim a ligação desta resolvina com os recetores ALX e GPR32, num aumento da atividade fagocítica.

Nas células que são expressos os recetores ALX e GPR32, a RvD1 induz uma redução na concentração de TNF- α , cuja atividade está relacionada com o complexo proteico NF-kB. Nos restantes recetores como BLT1, BLT2, GPR-1, FPR, e ChemR23, esta resolvina não tem qualquer tipo de ação (Charles N Serhan et al., 2011).

O recetor GPR32 é ativado pela RvD1 e pela RvD5 (Dalli et al., 2013).

Em análise, a RvD1 demonstra possuir potencial para controlar e regular a dor, o que a torna um mediador interessante para terapia analgésica de muitas doenças (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

Em suma a ação de RvD1 estende-se desde o controlo da dor pela redução da inflamação das vias aéreas á estimulação o processo de resolução (Dalli et al., 2013).

6.2.1.2.2 Resolvinas D2

A resolvina D2 (RvD2), é formada através da dupla lipoxigenação e hidrólise do epóxido a partir do ácido docosahexaenóico (DHA). Esta resolvina foi identificada e esclarecida a sua estereoquímica após algumas investigações recentes, que demonstraram também a sua interferência na função imunitária do organismo e a sua eficácia na resolução inflamatória. A RvD2 tem a capacidade de regular a adesão de leucócitos e substâncias vasoativas endoteliais.

No caso de uma infecção no peritoneu, RvD2 reduziu significativamente a quantidade de bactérias aeróbias, derivado da redução do número de leucócitos totais no local, bem como a concentração de prostaglandina E2 (PGE2) e LTB4.

Novos estudos indicam que RvD2 diminuiu drasticamente os níveis de citocinas pró – inflamatórias, derivadas de uma sepsis, nomeadamente, IL-6, IL - 1 β , IL-23 e TNF- α .

Assim conclui-se que RvD2 ao reduzir os níveis de citocinas pró-inflamatórias, promove uma melhoria na eliminação bacteriana pela resposta dos macrófagos. Além disto, RvD2 previne os sinais de amplificação dados pelos recetores originando diminuição da resposta pelos macrófagos.

Em sepsis, RvD2 diminuiu a IL - 17, bem como a IL – 10 que é produzida pela lipoxina A4. A redução destas citocinas são benéficas para a evolução do estado de sepsis humana. Por outro lado a fagocitose de Escherichia Coli (E.coli) por PMN foi aumentada, bem como o nível de ROS intracelular por RvD2, apesar de não possuir atividade antibacteriana direta (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

Assim, RvD2 melhora tanto a fagocitose como a produção de ROS, produzindo assim uma maior fagocitose de bactérias (Charles N Serhan, 2010).

Esta resolvina demonstra ter forte ação na proteção contra o elevado nível de leucócitos, produção de citocinas e promoção do aumento da eliminação de invasores, o que faz desta resolvina um bom mediador endógeno na promoção da resolução inflamatória.

Processo de resolução da inflamação

Muitas terapias falham no tratamento de sepsis devido à imunossupressão, que no caso da RvD2 não existe, pois esta resolvina não é imunossupressora (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

Vários estudos demonstram a eficácia de RvD2 na colite, na redução da dor como protetor e pela ação de pró-resolução.

Concluiu-se assim que esta resolvina aumenta a resposta imunitária inata sem eliminar a imunidade do próprio indivíduo (Dalli et al., 2013).

6.2.2.3 Resolvina D3

A resolvina D3 (RvD3), à semelhança das outras resolvinas, foi descoberta nos exsudados pela presença de leucócitos humanos. Numa lesão isquêmica do rim, observou-se um aumento da produção de RvD3 a partir de DHA (Dalli et al., 2013).

Charles N Serhan & Chiang, (2013) confirmaram nos seus estudos que RvD3 apresenta uma forte ação na regulação da migração de PMN, bem como, no apoio da fagocitose por macrófagos, conduzindo assim a uma específica e eficaz resposta anti-inflamatória e ação pró-resolução.

Nestes estudos Charles N Serhan & Chiang, (2013) estabeleceram por completo a estereometria deste terceiro membro da série D. Para além disso, descreveram uma resolvina sintética desencadeada pela aspirina, a AT-RvD3.

A resolvina sintética (AT)-RvD3, produzida a partir da aspirina demonstra ter tanta ação anti-inflamatória como de pró-resolução como a resolvina endógena.

Estudos observacionais demonstraram que na resolução, as resolvinas D1 e D2 são produzidas inicialmente e que rapidamente a sua concentração reduz-se enquanto a resolvina D3 mantém-se persistente durante 3 dias.

Novos Mediadores da Inflamação: Proctetinas e Resolvinas

A RvD3 regula a expressão das citocinas, aumenta o nível da IL-10 e reduz a concentração da IL-6, como promove uma redução significativa das proteínas de monócitos, MCP-1.

Um estudo realizado, avaliou a eficácia de RvD3 e comprovou a diminuição da migração de neutrófilos ao local, em resposta ao TNF- α , conduzindo assim a uma redução da inflamação inicial aguda para cerca de metade. Assim, conclui-se que RvD3 produz uma eficaz ação anti-inflamatória local e sistémica na inibição da produção de mediadores pró-inflamatórios bem como na regulação do fluxo de neutrófilos ao local. A RvD3 chega a reduzir significativamente LTB₄, bem como tromboxano b₂ (TxB₂) e PGD₂, enquanto é estimulada a produção de PGE₂.

A ação de AT-RvD3 é igual ou maior que a resolvina endógena, pois reduz localmente LTB₄, PGD₂ e TXB₂, ao passo que a PGE₂ é aumentada.

A eficácia de RvD3 e AT-RvD3 fica assim provada, pelas suas ações anti-inflamatórias bem como na regulação local de EPA.

Neste estudo verificou-se também que a RvD3 estimula a fagocitose pelos macrófagos tanto para detritos celulares como para a apoptose.

Resultados obtidos indicam que a par da proctetinal (PD1) a resolvina D3 tem ação potente na estimulação da fagocitose dos macrófagos, seguindo-se de Mar1, RvD2 e por fim RvD1.

Foi testado a variação da atividade da RvD3 pelo recetor GPR32, sendo que RvD3 é dependente de GPR32 para uma fagocitose de macrófagos. Esta fagocitose de partículas microbicidas e detritos celulares foi bastante melhorada, contribuindo assim para melhor ação de pró-resolução (Dalli et al., 2013).

6.1.3 Proctetinas

A família das proctetinas foi descoberta em 1984 pela conversão de DHA a derivados do mesmo. A neuroprotectina D1/ proctetina D1 (PD1/NPD1), é bio-sintetizada a partir de DHA por ação da 15-LO, formando um epóxido intermediário, que necessita de obter uma geometria de dupla ligação numa transformação enzimática, para originar a NPD1/PD1. A estrutura química da NPD1/PD1 apresenta uma atividade biológica inferior à da RvD5, devido às suas di-oxigenações (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012). Todo este processo encontra-se ilustrado na figura 11, demonstrando todos os substratos e as vias bio-sintéticas que as proctetinas sofrem.

A PD 1 foi encontrada em vários exsudados inflamatórios, pulmonares, bem como no sangue periférico (Levy, 2010).

Segundo alguns autores, o epitélio pigmentado da retina (RPE), bio-sintetiza NPD1, como resposta ao stress oxidativo, procurando assim atuar como citoprotector. NPD1 / PD1, demonstra alta afinidade para PMN humanos, bem como à ligação a células epiteliais do pigmento da retina (Charles N Serhan et al., 2011).

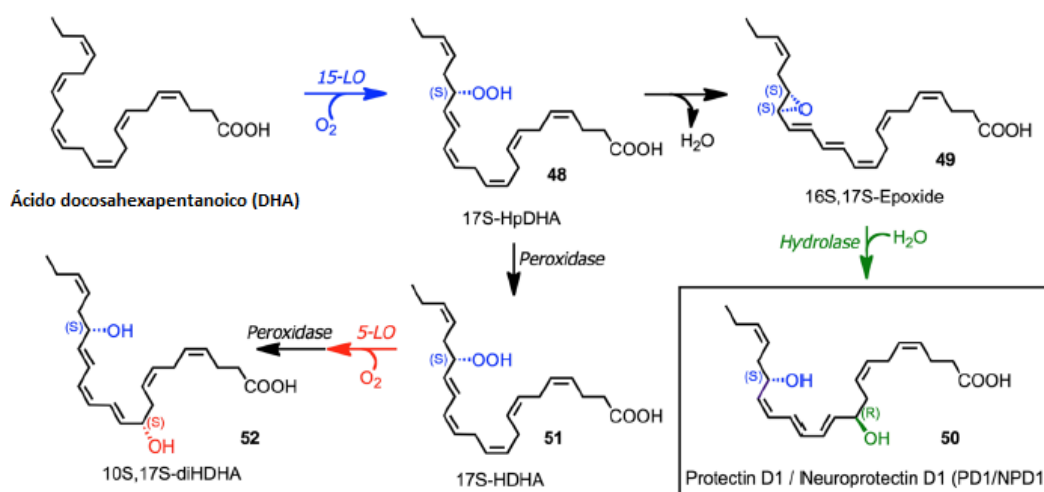


Figura 11 – Reações biossintéticas da protectina (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012)

A PD1 apresenta uma elevada ação protetora e a sua designação advém da sua estrutura de mediador químico no sistema imunitário. O nome de neuroprotectina D1 é estabelecido devido á sua localização de biossíntese e elevada ação (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012), ou seja, endogenamente é classificada como PD1 e como neuroprotectina D1, quando produzida em tecidos neurais (C N Serhan & Chiang, 2008).

Além de atividade sobre o sistema imunológico, que não compromete a defesa do hospedeiro através da supressão imunológica da função das células efetoras, este potente mediador químico possui uma vasta linha de atividade sobre o sistema cardiovascular e renal (Charles N Serhan, Dalli, Colas, Winkler, & Chiang, 2014).

Em resultados experimentais *in vivo*, demonstraram que PD1 promove a resolução, bem como, diminui o tempo de inflamação.

Recentemente, outros estudos indicam que PD1 é produzido durante a resolução de infecções, como a doença de Lyme. Outras ações de NPD1, evitam a morte de células ganglionares da retina, protegem o aparelho renal, bem como a regulação da adiponectina (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

A PD1 tem ação na diminuição da acumulação de neutrófilos em doenças como a peritonite, (Gerhard Bannenberg et al., 2007), bem como na neutralização de vários quimiotaxicos que atuam sobre os PMN (Charles N Serhan et al., 2014).

Além desta ação, PD1 reduz os níveis de citocinas pró-inflamatórias durante a resolução, tal como se processa com RvE1. Estudos sugerem que PD1 atua através de um recetor que ainda não é conhecido (Gerhard Bannenberg et al., 2007).

Levy (2010), refere que na biossíntese da PD1, podem intervir várias células, nomeadamente, células cerebrais, células microglias e células mononucleares do sangue periférico, bem como as células T CD4 + Th2.

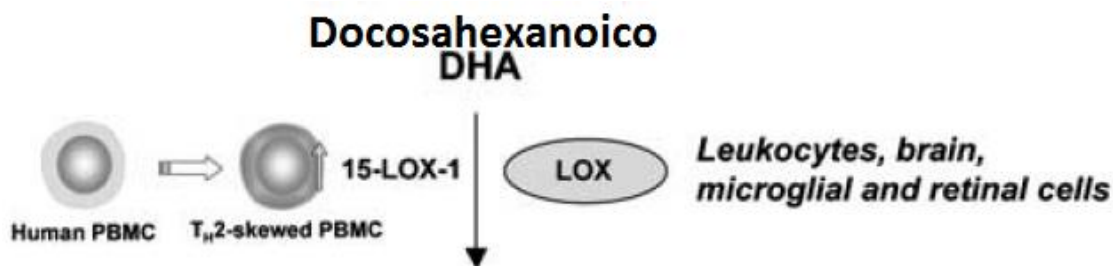


Figura 12 - Expressão do fenótipo Th2 humano para produção de proctetinas. Adaptado de (C N Serhan & Chiang, 2008)

A figura 13, ilustra a produção de NPD1/PD1 pelas células T que expressam o fenótipo Th2.

Devido á maior potência que o seu próprio precursor e algumas resolvinas, a NPD1/PD1 poderá ser aplicada em muitas doenças. A PD1 produz uma eficaz ação no globo ocular, ou seja, promove a cicatrização de feridas nas células epiteliais da córnea,(C N Serhan & Chiang, 2008), induz a regeneração dos nervos da córnea,(Charles N Serhan et al., 2014), limitando assim, lesões térmicas, além de proteger contra a retinopatia.

A nível renal, a PD1 é produzida como resposta a isquemia/ reperfusão. Como prova desta acção, a lesão renal funcional e morfológica foi reduzida. A nível pulmonar, a PD1 foi produzida pelo pulmão na forma de compostos respiratórios na doença da asma.

A resolução da inflamação alérgica das vias aéreas foi acelerada pela PD1 (Levy, Vachier, & Serhan, 2013), bem como a estimulação da diferenciação de células cardíacas e neurais (Charles N Serhan et al., 2014).

Num acidente vascular cerebral isquémico, os genes pró-inflamatórios induzem o fluxo e acumulação de leucócitos no local do acidente, que pela ação de PD1 este mecanismo é bloqueado. Além disso a PD1 atua especificamente nas células T, diminuindo a sua migração e libertação de citocinas (Levy, 2010).

Assim, a NPD1 reduz os danos provocados por um AVC (Charles N Serhan et al., 2011).

Novos Mediadores da Inflamação: Proctetinas e Resolvinas

Na tabela 2, estão referidas varias investigações realizadas sobre o efeito da acção que as proctetinas têm sobre varias órgãos e doenças.

Tabela 2- Locais da ação da PD1. Adaptado de (C N Serhan & Chiang, 2008)

Doença	Ação
Peritonite	Reduz a infiltração de PMN Reduz o intervalo de resolução e regula citocinas / quimiocinas Limita o recrutamento de células T na peritonite
Ferimento	Limita os danos de acidente vascular cerebral e entrada de PMN para o cérebro
Lesão da retina	Protege as células de danos causados pela lesão da retina
Doença alzheimer	Promove a sobrevivência de células neurais e reduz a neurotoxicidade induzida pela amiloide β -42
Olho (cicatrização de lesões)	Promove a cicatrização e reparação de lesões das células do epitélio da córnea
Olho (retinopatia)	Reduz a vaso-obliteração e neovascularização
Reperfusão/isquemia do fígado	Protege a lesão isquémica renal, limitando a infiltração de PMN
Asma	Diminui os eosinófilos, T-linfócitos e os mediadores pró- inflamatórios nas vias aéreas

7. Aplicações terapêuticas

Estudos realizados por Charles e Petasis sobre a inflamação cutânea, a bolsa de ar dorsal, peritonite, periodontite, colite e inflamação intestinal, asma e inflamação das vias aéreas, fibrose cística, lesão aguda pulmonar, lesão renal, glomerulonefrite, degeneração da retina e doença Alzheimer, revelam que os mediadores lipídicos derivados PUFA apresentam ações eficazes em diversos tipos de células, nomeadamente em modelos celulares *in vivo* de doenças inflamatórias (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

Inúmeras doenças inflamatórias podem ser suprimidas através de mediadores lipídicos, nomeadamente a artrite reumatóide e a doença periodontal entre outras doenças como as doenças cardiovasculares, cancerígenas (Gerhard Bannenberg et al., 2007), a asma, diabetes, doença inflamatória intestinal (DII), Doença de Alzheimer e da degeneração muscular (AMD) (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

7.1. Asma

A asma é caracterizada por uma inflamação crónica das vias aéreas até ocorrer broncoconstricção, devido a ação de vários mediadores inflamatórios, como as interleucinas, moléculas de adesão e enzimas inflamatórias e principalmente pelos mediadores derivados do AA, as prostaglandinas (PGs) e leucotrienos cisteínil (CysLTs). A PGE2 é produzida por vários tipos de células, como o epitélio das vias aéreas e do músculo liso, fibroblastos, macrófagos, células endoteliais e alveolares. Actua sobre o sistema imunitário, sendo benéfico para o sistema respiratório.

Os LTsCys são produzidos pelos eosinófilos e mastócitos, e são responsáveis pela asma, broncoconstricção, produção de citocinas pró-inflamatória, bem como o fluxo e desgranulação de eosinófilos nos pulmões, permeabilidade microvascular que levam a edema pulmonar e secreção de muco.

Na doença da asma, a RvE1 é utilizada para acalmar a inflamação das vias aéreas, surtindo sensibilidade na asma. Na investigação realizada após administração desta resolvinas, houve uma redução de eosinófilos e atração de linfócitos, bem como uma redução dos níveis de IL-13.

Neste estudo, os autores indicam que a ingestão de gorduras pode proporcionar alterações inflamatórias das vias respiratórias e funcionais, piorando o estado de asma e os seus sintomas.

Assim, os ácidos gordos possuem papel importante no desenvolvimento e resolução da inflamação das vias aéreas (Wendell, Baffi, & Holguin, 2014).

7.2. Alzheimer

Atualmente e a nível mundial o número de indivíduos com a doença de Alzheimer (DA) aumentam cada vez mais. Esta doença é classificada como demência clássica, que devido a uma redução das células cerebrais em tamanho e número, provoca novos neurofibrilares (NFTs) originados por hiperfosforilação intraneuronal e placas de senis compostas por amiloide extracelular b (Ab). Estudos *in vitro*, revelam que Ab pode ativar células imunitárias inatas no cérebro.

Estudos efetuados sugerem que ao modificar a fosforilação a resolução pode inibir a DA.

Neste tipo de doenças inflamatórias, a resolução é o processo desejado de modo a promover a cura e voltar à homeostase.

A resolução da inflamação é disfuncional caso o doente com DA esteja num estado de neuro-inflamação crónica.

No caso de uma resolução funcional, os níveis de citocinas pró-inflamatórias tem de ser reduzido e as citocinas anti-inflamatórias tem de ser estimuladas e produzidas.

Uma análise histológica efetuada por vários investigadores, revelam níveis elevados de citocinas pro-inflamatórias em tecido celular morto do cérebro e no soro de doentes com DA. A DA revela deficiência nos níveis de IL-10 na região do hipocampo cerebral, que se traduz numa falha da resolução da inflamação. A IL-10 produz efeito protetor sobre os neurónios, embora se a sua concentração for baixa, pode originar a doença pela falta de inibição da inflamação, bem como carência de neuroprotecção.

Sobre a resolução a nível cerebral, ainda não existem muitos estudos acerca deste tema, no entanto, NPD1 e LXA4 mostram ter efeitos neuroprotetores, inclusive NPD1 foi descrito em amostras cerebrais de doentes com DA. A ação de LXA4 em doentes com DA, pode diminuir a ROS em microglia ativada, inibir a expressão de IL-8 em células astrocitoma, bem como reduzir os níveis de Ab. Por outro lado as resolvinas, RvD1 e RvE1 modulam a dor derivada da inflamação por ação central e periférica.

Novos Mediadores da Inflamação: Proctetinas e Resolvinas

Grandes parte das doenças neurodegenerativas são devidas a processos inflamatórios aliados a uma neurodegeneração. Contudo, outra doença que poderá ser associada a uma resolução disfuncional é a doença de Parkinson, devido à variação dos níveis SPMs no líquido cefalo raquidiano (LCR).

Assim, é cada vez mais provável que a estimulação da via de resolução por SPMs, seja uma terapia nova e promissora no tratamento de doenças neurodegenerativas como AD (X. Wang et al., 2014).

7.3. Diabetes

A investigação sobre quais as causas da resistência à insulina ou à doença da diabetes mellitus tipo 2 (DM2), tem vindo a ser estudada. Estudos recentes comprovam que estes problemas são associados à inflamação no tecido adiposo.

A figura 14, demonstra todo o processo de resistência à insulina derivado aos mediadores pró-inflamatórios, que poderão ser resolvidos com a acção de resolvinas e proctetinas.

A - Adesão de macrófagos aos adipócitos, eleva os níveis de adipocitoquinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , as interleucinas IL-6, IL-1 β , e a proteína quimiotáctica de monócitos (MCP-1).

B - O aumento da produção de LTB₄ e Leptina acompanhados por uma redução dos níveis de RvD1, PD1 e adiponectina, contribui para a manutenção do estado de inflamação em obesos.

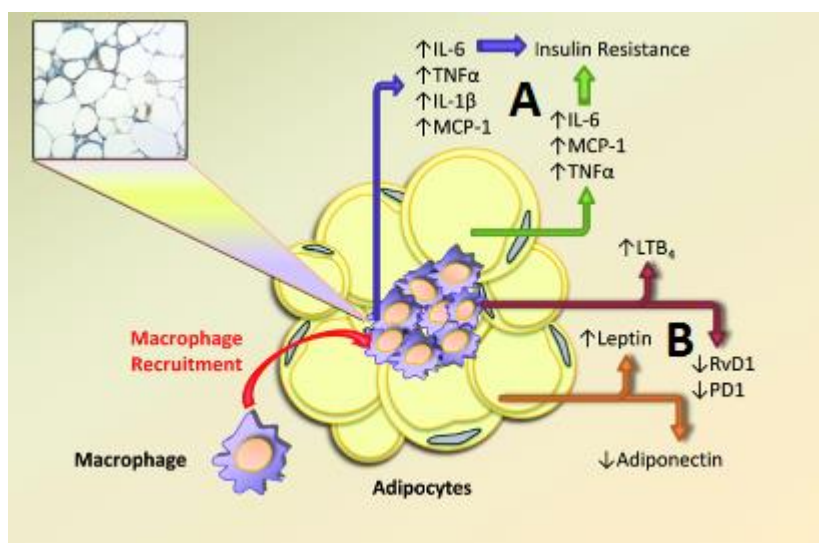


Figura 13 - Origem da resistência á insulina. Adaptado de (Rius et al., 2012).

Novos Mediadores da Inflamação: Proctetinas e Resolvinas

Na figura 15, estão descritos as ações dos mediadores pró-resolução, no fígado como nas células adiposas.

A- Estes mediadores no fígado protegem os hepatócitos dos danos ao DNA e de stress oxidativo, pela redução da inflamação com inibição de $\text{TNF-}\alpha$, LTB_4 e ciclo-oxigenase-2 (COX-2) em células de Kupffer.

B1- No tecido adiposo, estes mediadores de resolução inibem a resistência à insulina por aumento de adiponectina, activação da proteína quinase (AMPK), sinalização do receptor da insulina-1 (IRS-1) e do transportador de glucose (GLUT-4) nos adipócitos.

B2- Nos macrófagos, estes mediadores induzem uma polarização M2, ou seja, aumentam a arginase 1 (arg1), IL-10, quitinase 3-3 (Ym1), resistina- α (RELM) e CD206, como inibem os seus marcadores M1 ($\text{TNF-}\alpha$, IL-6 e MCP-1).

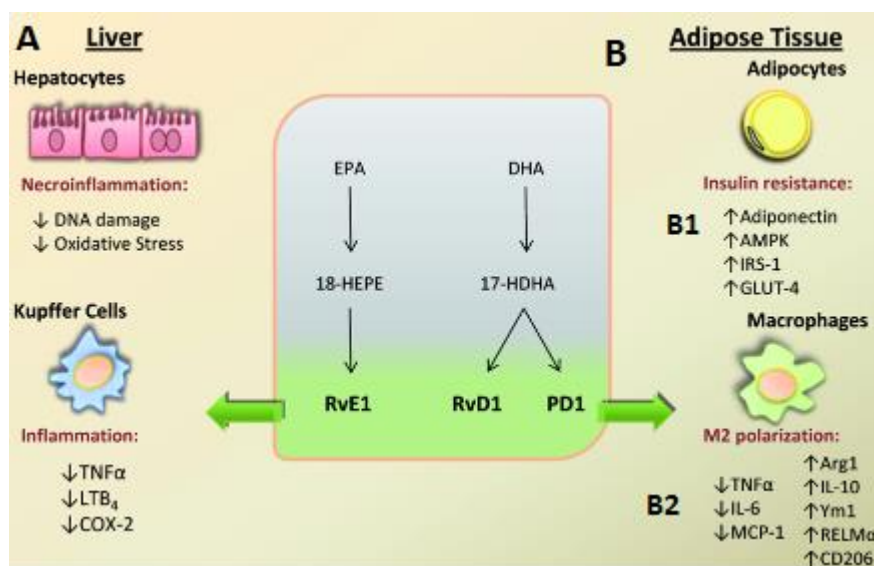


Figura 14 - Ação das resolvinas e proctetinas no fígado e tecido adiposo. Adaptado de (Rius et al., 2012).

Os indivíduos obesos têm baixos níveis de inflamação crónica, o que lhes proporciona resistência à insulina, no entanto, indivíduos com inflamação crónica são susceptíveis de criar resistência à insulina, nomeadamente doentes com hepatite C (Wellen & Hotamisligil, 2005).

Aplicação Terapêutica

O excesso de peso devido ao aumento da massa gorda conduz a um aumento do número de adipócitos. Estes adipócitos são geradores de citocinas / adipocinas e quimiocinas com ação na atração de células promotoras da inflamação. Esta resposta inflamatória é amplificada pelos macrófagos que entram no tecido adiposo provocando resistência à insulina sistêmica. A insulina sistêmica é vulnerável à ação da IL-6, que é bastante expressa pelo tecido adiposo. A par da IL-6 a IL-1 β , também afeta a ação dos adipócitos (Z. Wang, Lee, Eun, & Bae, 2014).

Estudos “in vivo” realizados por de Charles e Nicos, demonstraram que as resolvinas da serie D e PD1 foram consideradas importantes na proteção do hospedeiro relativamente à resistência contra a insulina em doentes obesos e com esteatose hepática.

A RvD1 melhora a sensibilidade à insulina através da resolução da inflamação crónica que está associada a obesidade (Serhan, Charles N, Petasis A, 2012).

O stress oxidativo pode ser outro percurso para inflamação na obesidade, pois as células endoteliais captam a glicose em hiperglicemia, produzindo ROS na mitocôndria que se traduz em dano oxidativo e iniciação de sinais inflamatórios. A hiperglicemia estimula a produção de ROS em adipócitos, o que leva a um aumento da produção citocinas pró-inflamatórias, produzindo inflamação (Wellen & Hotamisligil, 2005)

8. Conclusão

Na breve revisão bibliográfica apresentada relembramos alguns conceitos como a resposta inflamatória, a resposta inata e a resposta adquirida, assim como o processo da resposta inflamatória aguda e crónica e os alguns mediadores lipídicos.

Reconhecemos que a resposta inflamatória é um mecanismo pelo qual o organismo se protege contra infeções reparando os danos teciduais provocados por lesões físicas ou químicas. Nesta resposta envolve uma resposta inata que é inespecífica, ou seja, independente da lesão e na qual os neutrófilos, macrófagos e mastócitos procuram destruir os patogénicos invasores e uma resposta imunológica específica onde há produção de anticorpos específicos contra determinado agente agressor.

Contudo a resposta inflamatória pode evoluir para estados agudos ou crónicos, diferenciando-se apenas no tempo de exposição ao agente agressor, no tipo de agente e na resposta imune, ou seja, células envolvidas e mediadores primários. Estas alterações inflamatórias dão-se por meio de mediadores químicos que são compostos derivados do hospedeiro e secretados por células, tendo como função ativar ou ampliar aspetos específicos da inflamação. Estes mediadores ligam-se a recetores específicos na célula alvo e podem estimular a liberação de outros, atuando assim, como mecanismos de amplificação ou neutralização da ação dos mediadores iniciais.

A descoberta de que a resolução da inflamação é um processo ativo, no qual vários mediadores lipídicos, são produzidos e apresentam propriedades anti-inflamatórias e de pró-resolução, contribuiu para que novos estudos fossem realizados com o objetivo da compreensão destes mediadores no tratamento de diversas doenças inflamatórias.

Os mediadores lipídicos recentemente descobertos são as proctetinas e as resolvinas, que têm demonstrado um grande potencial na resolução da inflamação. Estas proteínas são derivadas dos ácidos gordos polinsaturados, que actuam na fase aguda da inflamação promovendo a sua resolução. O mecanismo de ação destes mediadores é de limitação da migração de neutrófilos para o local da inflamação, ativação de macrófagos sem a produção de superóxidos e estimulação da remoção de corpos apoptóticos.

Novos Mediadores da Inflamação: Proctetinas e Resolvinas

Contudo e apesar dos inúmeros estudos terem vindo a ser realizados e alguns aqui escritos, a compreensão dos mediadores pro-inflamatórios e os seus papéis na resposta inflamatória ainda não são completamente entendidos.

A revisão bibliográfica relatada neste trabalho também apresenta os resultados de alguns estudos que demonstram a importância do consumo de ácidos gordos, uma vez que são precursores destes mediadores lipídicos, os quais como já foi dito, exercem um papel relevante na resolução do processo inflamatório, e demonstram ser moléculas promissoras para o difícil tratamento de doenças inflamatórias como artrite reumatóide, asma, alzheimer e diabetes.

Em suma, é evidente a importância do conhecimento sobre os tipos de mediadores pró-resolução, como as resolvinas e proctetinas na resolução de processos inflamatórios.

9. Bibliografia

- Anderson, D. H., Mullins, R. F., Hageman, G. S., & Johnson, L. V. (2002). Role for Local Inflammation in the Formation of Drusen in the Aging Eye.
- Bannenberg, G., Arita, M., & Serhan, C. N. (2007). Endogenous receptor agonists: resolving inflammation. *TheScientificWorldJournal*, 7, 1440–62. doi:10.1100/tsw.2007.188
- Bannenberg, G., & Serhan, C. N. (2010). Specialized Pro-Resolving Lipid Mediators in the Inflammatory Response: An Update, *1801*(12), 1260–1273. doi:10.1016/j.bbalip.2010.08.002.Specialized
- Blanco, M. L., & Neto, A. C. (2003). Nuclear factor kappa B: a new perspective for study of anti-inflammatory drugs, *12*(4), 341–349.
- Carvalho, L. C. (2012). Marcadores Inflamatórios de Instabilidade da Placa Aterosclerótica Coronária Caracterização e Potencial Utilização Clínica.
- Coutinho, M. A., Muzitano, M. F., & Costa, S. S. (2009). Artigo Flavonoides : Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório Flavonoids : Potential therapeutic agents for the inflammatory process, *1*(3), 241–256.
- Dalli, J., Winkler, J. W., Colas, R. a, Arnardottir, H., Cheng, C.-Y. C., Chiang, N., ... Serhan, C. N. (2013). Resolvin D3 and aspirin-triggered resolvin D3 are potent immunoresolvents. *Chemistry & Biology*, 20(2), 188–201. doi:10.1016/j.chembiol.2012.11.010
- Dunkelberger, J. R., & Song, W.-C. (2011). Role and mechanism of action of complement in regulating T cell immunity, *47*(13), 2176–2186. doi:10.1016/j.molimm.2010.05.008.Role

- Freire O, M., & Van Dyke E, T. (2014). Natural resolution of inflammation, *63*(1), 149–164. doi:10.1111/prd.12034.Natural
- Kundu, J. K., & Surh, Y.-J. (2012). Emerging avenues linking inflammation and cancer. *Free Radical Biology & Medicine*, *52*(9), 2013–37. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2012.02.035
- LeBert, D. C., & Huttenlocher, A. (2014). Inflammation and wound repair. *Seminars in Immunology*, 1–6. doi:10.1016/j.smim.2014.04.007
- Levy, B. D. (2010). Prostaglandins , Leukotrienes and Essential Fatty Acids Resolvins and protectins : Natural pharmacophores for resolution biology. *Prostaglandins Leukotrienes & Essential Fatty Acids*, *82*(4-6), 327–332. doi:10.1016/j.plefa.2010.02.003
- Levy, B. D., Vachier, I., & Serhan, C. (2013). Resolution of Inflammation in Asthma, *33*(3), 559–570. doi:10.1016/j.ccm.2012.06.006.Resolution
- Medzhitov, R. (2010). Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell*, *140*(6), 771–6. doi:10.1016/j.cell.2010.03.006
- Melo, S. E. S. F. C., Yugar-toledo, J. C., Coca, A. P., & Júnior, H. M. (2007). Hipertensão arterial , aterosclerose e inflamação : o endotélio como órgão-alvo, *14*(4), 234–238.
- Mesquita Jr., D., Pereira Araújo, J. A., Catelan, T. T. T., Souza, A. W. S. de, Pereira da Silva, N., Andrade, L. E. C., & Cruvinel, W. de M. (2010). Aspectos celulares e moleculares da inflamação. *Aspectos Celulares E Moleculares Da Inflamação*, 66–81.
- Miranda, L. E. C., Viaro, F., Ceneviva, R., Evora, P. R. B., Lec, M., Viaro, F., ... Prb, É. (2004). As bases experimentais da lesão por isquemia e reperfusão do fígado . Revisão 1, *19*(1), 3–12.

Bibliografia

- Novak, M. J. (2011). Inflammation: friend or foe? *Pharmacological Research: The Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 63(2), 98. doi:10.1016/j.phrs.2010.10.002
- Olteanu, S., Kandel-Kfir, M., Shaish, A., Almog, T., Shemesh, S., Barshack, I., ... Kamari, Y. (2014). Lack of interleukin-1 α in Kupffer cells attenuates liver inflammation and expression of inflammatory cytokines in hypercholesterolaemic mice. *Digestive and Liver Disease: Official Journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*, 46(5), 433–9. doi:10.1016/j.dld.2014.01.156
- Pillai, P. S., Leeson, S., Porter, T. F., Owens, C. D., Min, J., Conte, M. S., ... Gelman, S. (2013). Chemical Mediators of Inflammation and Resolution in Post- Operative Abdominal Aortic Aneurysm Patients, 35(1), 98–113. doi:10.1007/s10753-011-9294-8.Chemical
- Rahimi, V., Farahani, S., Saeidpour, A., Jalaie, S., & Mahdi, P. (2014). Effects of Fish Oil Supplementation during the Suckling Period on Auditory Neural Conduction in n-3 Fatty Acid-Deficient Rat Pups, 26(76), 135–141.
- Rius, B., López-Vicario, C., González-Pérez, A., Morán-Salvador, E., García-Alonso, V., Clària, J., & Titos, E. (2012). Resolution of inflammation in obesity-induced liver disease. *Frontiers in Immunology*, 3(August), 257. doi:10.3389/fimmu.2012.00257
- Sedger, L. M., & McDermott, M. F. (2014). TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants - past, present and future. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 25(4), 453–72. doi:10.1016/j.cytogfr.2014.07.016
- Serhan, C. N. (2010). Novel lipid mediators and resolution mechanisms in acute inflammation: to resolve or not? *The American Journal of Pathology*, 177(4), 1576–91. doi:10.2353/ajpath.2010.100322

- Serhan, C. N., & Chiang, N. (2008). Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. *British Journal of Pharmacology*, *153 Suppl*, S200–15. doi:10.1038/sj.bjp.0707489
- Serhan, C. N., & Chiang, N. (2013). Resolution phase lipid mediators of inflammation: agonists of resolution. *Current Opinion in Pharmacology*, *13*(4), 632–40. doi:10.1016/j.coph.2013.05.012
- Serhan, C. N., Chiang, N., & Van Dyke E, T. (2008). Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators, *8*(5), 349–361. doi:10.1038/nri2294.Resolving
- Serhan, C. N., Dalli, J., Colas, R. a, Winkler, J. W., & Chiang, N. (2014). Protectins and maresins: New pro-resolving families of mediators in acute inflammation and resolution bioactive metabolome. *Biochimica et Biophysica Acta*. doi:10.1016/j.bbailip.2014.08.006
- Serhan, C. N., Krishnamoorthy, S., Recchiuti, A., & Chiang, N. (2011). Novel Anti-Inflammatory -- Pro-Resolving Mediators and Their Receptors, *11*(6), 629–647.
- Serhan, Charles N, Petasis A, N. (2012). Resolvins and Protectins in Inflammation-Resolution, *111*(10), 5922–5943. doi:10.1021/cr100396c.Resolvins
- Sherwood, E. R., & Toliver-Kinsky, T. (2004). Mechanisms of the inflammatory response. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*, *18*(3), 385–405. doi:10.1016/j.bpa.2003.12.002
- Stables, M. J., & Gilroy, D. W. (2011). Old and new generation lipid mediators in acute inflammation and resolution. *Progress in Lipid Research*, *50*(1), 35–51. doi:10.1016/j.plipres.2010.07.005
- Vadivelan, G., & Venkateswaran, G. (2014). Production and enhancement of omega-3 fatty acid from *Mortierella alpina* CFR-GV15: its food and therapeutic application. *BioMed Research International*, *2014*, 657414. doi:10.1155/2014/657414

Bibliografia

- Wang, X., Zhu, M., Hjorth, E., Cortés-Toro, V., Eyjolfsdottir, H., Graff, C., ... Schultzberg, M. (2014). Resolution of inflammation is altered in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia : The Journal of the Alzheimer's Association*, 1–11. doi:10.1016/j.jalz.2013.12.024
- Wang, Z., Lee, Y., Eun, J. S., & Bae, E. J. (2014). Inhibition of adipocyte inflammation and macrophage chemotaxis by butein. *European Journal of Pharmacology*, 738, 40–8. doi:10.1016/j.ejphar.2014.05.031
- Wellen, K. E., & Hotamisligil, G. S. (2005). Inflammation , stress , and diabetes, 115(5), 1111–1119. doi:10.1172/JCI200525102.The
- Wendell, S. G., Baffi, C., & Holguin, F. (2014). Fatty acids, inflammation, and asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 133(5), 1255–64. doi:10.1016/j.jaci.2013.12.1087