

# MÉTODOS EXPERIMENTAIS PARA O ESTUDO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA

Prof<sup>a</sup> Dra. Ciomar A. Bersani Amado  
Me. Edirlene Sara Wisniewski Rebecca  
Mestranda Mariana de Almeida  
Dra. Francielli Maria de Souza Silva-Comar  
Me. Bruno Ambrósio da Rocha  
Me. Franciele Queiroz Ames

## INTRODUÇÃO

A inflamação é definida como um processo fisiopatológico frente a estímulos lesivos com conseqüente alterações vasculares, celulares e linfáticas. Caracteriza-se por eritema, edema, calor, dor e em alguns casos, perda de função (SOUZA, 2008; HANSEL e DINTZIS, 2007; RAMY et al., 2005).

O agente desencadeador da resposta inflamatória é a agressão tecidual que pode ser de origem biológica (microorganismos), física (mecânica, radiação ou temperatura) ou química (substâncias químicas ambientais, drogas). Todavia, a magnitude da resposta inflamatória é relativamente inespecífica, pois depende tanto da intensidade e duração do estímulo, quanto das características próprias do organismo lesado (BABU, PANDIKUMAR e IGNACIMUTHU, 2009; SILVA, 2006; CLAUDINO, 2006; CAMARGO, 2006; RAMY et al, 2005; TRACEY, 2002).

Durante a resposta inflamatória, cujo principal objetivo é proteger o organismo e reparar danos, ocorre mudança no fluxo sangüíneo (causado por alterações vasculares, com conseqüente vasodilatação), alterações na permeabilidade vascular (provocadas pela contração do citoesqueleto nas células endoteliais), migração de leucócitos para o sítio de inflamação e fagocitose (FILHO, 2006).

No desenvolvimento das reações inflamatórias estão envolvidas várias substâncias como citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento, mediadores lipídicos e seus derivados, mediadores vasoativos liberados por leucócitos e produtos de sistemas enzimáticos (SILVA, 2004; ROITT, BROSTOFF e MALE, 2003). No entanto, a destruição do agente causal e reparo celular devem ocorrer de maneira eficiente e sincronizada, pois caso contrário, pode gerar uma lesão tecidual e acúmulo de leucócitos, colágeno e outras substâncias que culminam com efeitos prejudiciais ao organismo (DUNG et al., 2009; NATHAN, 2002). Isto porque, a ação persistente de mediadores pró-inflamatórios, contribui para a proliferação, diferenciação e ativação de células do sistema imune levando a um acúmulo das mesmas e ocasionado doenças inflamatórias crônicas (YOON et al., 2008).

A inflamação pode ser dividida em diferentes categorias, sendo cada uma delas mediadas por mecanismos diferentes. A fase inicial é caracterizada por alterações vasculares, se inicia de maneira abrupta e é conhecida como resposta inflamatória aguda. Nesta, três eventos são relevantes: sinalização de calor e rubor devido à vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo local, aumento da permeabilidade vascular levando a um extravasamento de proteínas e líquidos plasmáticos para o meio extravascular e liberação de substâncias pró-inflamatórias que participam no processo de recrutamento celular (TAMURA et al., 2009; WEBSTER, 2003; GOODMAN e GILMAN, 2003; YOSHIKAI et al, 2001).

Dentre as principais alterações vasculares que ocorrem nesta fase, podem ser citadas as alterações no fluxo e no calibre dos vasos e o aumento da permeabilidade vascular. Imediatamente após a lesão, ocorre uma vasoconstrição das arteríolas, a qual é muito rápida e seguida por uma vasodilatação, com conseqüente formação de eritema e calor. O aumento da permeabilidade vascular com o extravasamento e exsudação de líquido para o interstício induz à formação de edema (SOUZA, 2008; SILVA, 2006; CAMARGO, 2006; KUMAR, ABBAS e FAUSTO, 2005). O extravasamento de líquido causa um aumento da viscosidade sanguínea levando ao acúmulo de hemácias nos pequenos vasos - processo denominado de estase. Após o desenvolvimento desta, ocorre um deslocamento de leucócitos, geralmente neutrófilos, ao longo do endotélio vascular – fenômeno conhecido como marginação leucocitária (DEKKER e SEGAL, 2000).

A fase subsequente está relacionada à quimiotaxia (infiltração de células fagocitárias e leucócitos) e fagocitose tendo como intuito englobar e destruir o agente agressor. A migração leucocitária ocorre através de uma seqüência de reações direcionadas pela ativação de proteínas (moléculas de adesão) e seus ligantes expressos nas membranas das células endoteliais e dos leucócitos (CONRAN et al., 2003; HEIDE et al., 2002). Os leucócitos circulantes no sangue periférico aproximam-se da parede vascular, ativados por quimiocinas e outros ativadores químicos da inflamação, aderem-se firmemente, mas de forma transitória, ao endotélio e atravessam a parede do vaso. Após a diapedese, continuam a migrar em direção ao foco inflamatório pelo processo de quimiotaxia (DEKKER e SEGAL, 2000). Este processo é fisiologicamente normal e somente após estímulos é que esses leucócitos aderem firmemente ao endotélio para passarem do vaso sanguíneo para os tecidos (TEDGUI e MALLAT, 2001; SPRINGER, 1994; DRANSFIELD et al., 1992). Já a última fase é uma complexa série de eventos que visa a regeneração tecidual e a fibrose com reconstituição do tecido lesado (SUZUKI et al., 2003)

Devido à alta capacidade da resposta inflamatória e imunológica causar dano tecidual, é muito importante que o organismo disponha de um controle extremamente rígido para minimizar esses efeitos. Após o desenvolvimento da resposta inflamatória aguda é de se esperar que o patógeno ou estímulo seja eliminado e que essa resposta entre em declínio de forma que a resposta

inflamatória diminua à medida que o agente irritante é destruído, decaindo também os mediadores inflamatórios e os fenômenos vasculares e exsudativos. Além disso, existem sistemas enzimáticos que exercem papel relevante no combate à inflamação, mas que tendem a minimizar sua atuação finalizando a resposta inflamatória, como o sistema complemento, o sistema da coagulação e o sistema fibrinolítico (plasmina). No entanto, se o estímulo persistir, provavelmente ocorrerá evolução para inflamação crônica (KUMAR, ABBAS e FAUSTO, 2005; ROITT, BROSTOFF e MALE, 2003).

Inúmeras células auxiliam na defesa do organismo, com destaque para as células mononucleares (linfócitos, monócitos e macrófagos), polimorfonucleares (neutrófilos, mastócito e eosinófilos) e células endoteliais. Estas, auxiliam na regulação do tônus vascular, no reparo e crescimento tecidual além de desempenharem controle entre a adesão e a migração de leucócitos mediante a expressão de moléculas de adesão (KIM et al., 2009; LARSEN et al., 2003).

Dentre os vários mediadores químicos do processo inflamatório podem citar os autacóides os quais são substâncias formadas pelo organismo que atuam tanto nas próprias células de origem quanto em células vizinhas. Eles englobam inúmeras substâncias, tais como histamina, cininas, eicosanóides, citocinas, fator ativador de plaquetas e óxido nítrico (CLAUDINO, 2006; BARNES, CHUNG e PAGE, 1998).

Os eicosanóides são de origem lipídica, sintetizados a partir dos ácidos graxos ômega-6, como o ácido araquidônico (AA), ou dos ácidos graxos ômega-3, como os ácidos eicosapentanóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA). Frente a um estímulo antigênico, químico, traumático, mitogênico ou inflamatório, esses ácidos são mobilizados da membrana das células do sistema imunológico pela ação da enzima fosfolipase A2 (CLAUDINO, 2006).

As citocinas são mediadores liberados por neutrófilos, linfócitos, macrófagos e outros. Dependendo do estímulo, tais mediadores podem ter ação pró ou antiinflamatória. Atualmente o número de citocinas conhecidas é bem amplo e incluem desde as interleucinas e interferons, até os fatores estimuladores de colônias e de necrose tumoral (MANDERSCHIED et al., 2004).

As cininas podem participar da regulação de sistemas fisiológicos, mas suas ações mais conhecidas ocorrem no âmbito patológico, como choque, asma e dor. Podem evocar os sinais cardinais da inflamação (dor, edema, rubor e calor) e estão próximas do topo da cascata de mediadores envolvidos no processo inflamatório (STEWART, 1994).

O Fator ativador das plaquetas (PAF) é formado por diferentes células a partir de um fosfolípido encontrado nas membranas celulares de mastócitos, basófilos, neutrófilos, monócitos, plaquetas e eosinófilos. Sua produção, normalmente ocorre após estímulos alérgicos ou inflamatórios e sua ação é ampla envolvendo os sistemas cardiovascular, respiratório,

gastrointestinal, renal e reprodutivo. Está freqüentemente associado à formação de ácido araquidônico e seus precursores (SIQUEIRA JUNIOR et al., 2000).

O óxido nítrico (NO) é um radical livre, gasoso, inorgânico, incolor, relacionado com inúmeras funções fisiológicas, tais como, transmissão neuronal, relaxamento vascular, imunomodulação e citotoxicidade (TSUCHIYA et al., 2007; BECKMAN e KOPPENOL, 1996). É um potente vasodilatador e seu envolvimento na resposta inflamatória pode ter relação com sua habilidade em aumentar a permeabilidade vascular e o edema através de mudanças no fluxo sanguíneo local e do aumento na produção de prostaglandinas pró-inflamatórias (SALVEMINI et al. 1996). Seus metabólitos têm a capacidade de lesar o DNA e os lipídeos tanto do agente agressor como das células vizinhas saudáveis, o que é comum nas doenças auto-imunes (MABLEY et al. 2003; CUZZOCREA et al., 2000; HULE; PADMAJA, 1993).

A histamina é encontrada em quantidades irregulares estando armazenada, principalmente, nos tecidos (mastócitos) e no sangue (basófilos). Sua liberação é decorrente de inúmeros fatores, como lesão física, extremos de temperatura, fragmentos do complemento, citocinas e outros. É considerada o principal mediador da fase inicial da inflamação causando um subsequente aumento na permeabilidade vascular - fenômeno considerado essencial para a migração das células de defesa rumo ao local inflamado (GOODMAN e GILMAN, 2003; TROWBRIDGE e EMLING, 1996).

Existem vários métodos experimentais utilizando animais de diferentes espécies para detecção de novos princípios ativos com atividade anti-inflamatória. Essa ampla diversidade de modelos ocorre porque, apesar das reações inflamatórias apresentarem características semelhantes, sua etiologia e manifestações clínicas diferem amplamente. Desta forma, métodos que induzem a inflamação aguda são realizados no sentido de abordar a participação de mediadores químicos, tipos celulares e também possibilitam a identificação de drogas com possíveis efeitos anti-inflamatórios (SILVA, 2004). Dentre os métodos que avaliam a resposta inflamatória e a atividade anti-inflamatória pode-se citar o edema de pata, a quimiotaxia *in vitro* e *in vivo* (BONTA, BRAY e PARNHAM, 1985).

O edema de pata é o teste mais utilizado para avaliar a atividade de agentes anti-inflamatórios que exercem efeito na fase aguda da inflamação. Avalia a capacidade de a substância reduzir o edema local induzido por agente flogístico, como a carragenina (MYTHILYPRIYA, SHANTHI e SACHDANANDAM, 2008; CAMARGO, 2006). É realizado utilizando um pletismógrafo que avalia o volume da pata do animal através do deslocamento da solução de cloreto de sódio de forma que a pata edemaciada desloca um volume maior desta solução em relação à não edemaciada. A mensuração é feita subtraindo o volume de líquido deslocado pela pata inflamada pelo volume de líquido deslocado pela pata normal (SILVA, 2006).

Através de estudos sobre a locomoção das células frente à resposta inflamatória observou-se que neutrófilos, eosinófilos, basófilos e fagócitos mononucleares exibem migração direcionada dependendo do agente quimiotático atuante.

Existem diferentes modelos para avaliar a migração celular *in vitro*, sendo que o ensaio mais empregado utiliza filtros de policarbonato isentos de polivinilpirrolidona, com poros de 5 µm de diâmetro e 12 µm de espessura para separar os compartimentos superiores e inferiores (COLOWICK e KAPLAN, 1999). Os leucócitos se encontram em suspensão (porção superior) frente a um agente quimiotático (porção inferior) e, através do espaço percorrido pelo leucócito no filtro de policarbonato (entre as porções), a capacidade migratória dos mesmos é determinada (SANTOS JUNIOR, 2003; PRESIBELLA, SANTOS e WEFFORT-SANTOS, 2003).

A utilização do edema como parâmetro de avaliação em modelos validados, como o modelo de edema de orelha induzido por diferentes agentes flogísticos, permite avaliar o potencial anti-inflamatório tanto por via tópica quanto sistêmica de vários agentes, sejam eles compostos sintéticos, extratos de plantas ou compostos isolados (GÁBOR, 2000; DE YOUNG et al., 1989).

O óleo de cróton, utilizado como agente flogístico apresenta ação tópica e induz uma inflamação local através da ativação da enzima fosfolipase A<sub>2</sub> e conseqüentemente da biossíntese de leucotrienos (LT), prostaglandinas (PGs) e citocinas - mediadores pró-inflamatórios - que promovem vasodilatação, migração de células polimorfonucleares (PMN) e extravasamento de plasma (exsudação plasmática), conduzindo assim, à instalação dos sinais clássicos da inflamação (DE BERNARDIS et al, 1994; FURSTENBERGER et al., 1994). Os modelos de inflamação cutânea permitem identificar compostos com atividade anti-inflamatória que possam ser potencialmente úteis no tratamento de doenças inflamatórias que acometem a pele, pois promovem condições que se assemelham com alguns tipos de dermatites observadas em humanos (VANE et al.,2000; BOUCLIER et al.,1990; CARLSON et al, 1985).

## **OBJETIVO GERAL**

- Apresentar alguns modelos experimentais de resposta inflamatória que podem ser utilizados na investigação da atividade anti-inflamatória de drogas ou de produtos naturais.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Compreender o mecanismo fisiopatológico do processo inflamatório tópico.
- Avaliar o processo de recrutamento celular bem como analisar o perfil leucocitário no foco inflamatório.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Este minicurso foi apreciado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA N° 9206240516). Serão utilizados ratos machos Wistar pesando entre 200 – 220 g e camundongos machos Swiss pesando entre 25 – 30 g. Todos os animais serão mantidos sob temperatura controlada de 22°C num ciclo claro/escuro de 12 horas, com água e ração *ad libitum* no biotério setorial do Departamento de Farmacologia e Terapêutica da Universidade Estadual de Maringá (DFT/UEM).

### **PRÁTICA 1. Edema de orelha induzido por óleo de cróton**

Para a execução do modelo experimental de edema de orelha induzida por óleo cróton serão necessários camundongos, machos, da linhagem Swiss, pesando entre 25-30 g. Os animais (n=1/grupo) serão divididos aleatoriamente nos seguintes grupos: (I) Grupo normal – animais normais sem o desenvolvimento do processo inflamatório; (II) Grupo controle – animais que será induzido o processo inflamatório tópico e, (III) Grupo tratado – animais que será induzido o processo inflamatório tópico e receberam tratamento tópico com anti-inflamatório de referencia dexametasona (0,1 mg/orelha). O edema de orelha será induzido pela aplicação tópica de 20 µL de óleo de cróton (OC -200 µg) diluído em solução de acetona/água (7:3) na superfície interna da orelha esquerda do camundongo. A orelha direita recebera apenas o veículo (20 µL de acetona/água (7:3)). Imediatamente após a aplicação do OC, grupos de animais receberão aplicação tópica de 20 µL de fármaco anti-inflamatório de referencia (dexametasona) 0,1 mg/orelha. Após 6 horas, os animais serão anestesiados e sacrificados com overdose de anestésico inalatório isoflurano (100%), as orelhas serão seccionadas em discos de 7,0 mm de diâmetro e pesadas (mg) em balança analítica.

### **PRÁTICA 2. Peritonite induzida por carragenina**

A peritonite será induzida pela injeção intraperitoneal (i.p.) de carragenina na concentração 500 µg por camundongo. Os animais serão tratados via oral (gavage) com água ou indometacina 1 hora antes da injeção i.p. de carragenina. Após 4 horas da injeção de carragenina, os animais serão eutanasiados com overdose de anestésico (isoflurano via inalatória 100%) e a cavidade peritoneal será lavada com 2 mL de tampão fosfato-salina (PBS, pH 7,4) contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). Em seguida, o exsudato peritoneal será coletado, centrifugado a 1000 rpm/10 minutos e o sedimento utilizado para a contagem de leucócitos totais em câmara de Neubauer. Os resultados serão expressos como número de leucócitos por cavidade. Para o desenvolvimento dessa pratica experimental serão necessários camundongos Swiss, machos, pesando entre 25-30 g separados em 3 grupos constituídos de 2 animais cada: (I) Normal; (II) Carragenina + veículo; (III) Carragenina + Indometacina 5 mg/kg.

### **PRÁTICA 3. Migração de leucócitos *in vivo***

Os processos de *rolling* e adesão endotelial de leucócitos serão utilizados como parâmetros para avaliar a migração de leucócitos. Estes parâmetros serão avaliados *in situ* na fáscia espermática interna de ratos Wistar 2 horas após a injeção de carragenina (100 mg) na parede do escroto. Os animais, dos diferentes grupos, serão tratados por via oral uma hora antes da injeção de carragenina. Na sequência, os animais serão anestesiados com hidrato de cloral (600mg/kg, subcutânea) e após 90 minutos a fáscia espermática interna será cirurgicamente exposta. Em seguida, os animais serão colocados sobre a platina do microscópio aquecida a 37°C, de forma que a fáscia espermática interna fique posicionada em um orifício transparente possibilitando a transiluminação do tecido e observação dos vasos da microcirculação. Após posicionada, a fáscia espermática será irrigada com solução de Ringer-Locke (pH 7.2-7,4) contendo 1% de gelatina. Os vasos selecionados para o estudo serão as vênulas pós-capilares com 15-25 µm de diâmetro. O número de leucócitos *rolling* e aderentes serão contados por 10 minutos em duas vênulas. Foram considerados aderentes aqueles leucócitos que se mantiveram aderidos ao endotélio por um período superior a 30 segundos. Para isso, serão necessários ratos machos Wistar, pesando entre 200 – 220 g que serão separados em três grupos (n= 1/grupo): (I) Normal; (II) Carragenina + veículo; (III) Carragenina + Indometacina 5 mg/kg.

### **REFERÊNCIAS**

- BABU, N. P.; PANDIKUMAR, P.; IGNACIMUTHU, S. 2009. Anti-inflammatory activity of *Albizia lebbek* Benth., an ethnomedicinal plant, in acute and chronic animal models of inflammation. **Journal of Ethnopharmacology**. 5, 54491-54495.
- BARBOSA, J.M., PIUVEZA, M.R., MOURA, M.D., SILVA, M.S., LIMA, K.V.B., LEITÃO da CUNHA, E.V., FECHINE, I.M., TAKEMURA, O.S., 2006. Anti-inflammatory activity of alkaloids: a twenty-century review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**.16, 109-113.
- BARNES, P.J.; CHUNG, K.F.; PAGE, C.P. 1998. Inflammatory mediators of asthma: an update. **Pharmacol Reviews**. 50, 515-596.
- BECKMAN, J. S., KOPPENOL, W. H. 1996. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. **American Journal Physiology**. 271:5, 1424-1437.
- BONTA, I.L.; BRAY, M.A.; PARNHAM, M.J. (eds). 1985. Handbook of inflammation. New York: Elsevier. 5, 27-47.
- BOUCLIER, M.; CAVEY, D.; KAIL, N.; HENSBY, C. 1990. Experimental models in skin pharmacology. **Pharmacology Review**. 42, 127-154.

CAMARGO, L. C. S. 2006. Efeito antiinflamatório do extrato de *Zingiber officinale*: Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos.

CARLSON, R.P.; O'NEILL-DAVIS, L.; CHANG, J.; LEWIS, A. 1985. Modulation of mouse ear oedema by cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors and other pharmacologic agents. **Agents and Actions**. 17 (2),197-206.

CLAUDINO, R. F. 2006. Caracterização farmacológica e molecular dos mecanismos envolvidos no edema de pata induzido pela prostaglandina E2 em camundongos. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Santa Catarina.

CONRAN, N.; GAMBERO, A.; FERREIRA, H.H.; ANTUNES, E.; DE NUCCI, G. 2003. Nitric oxide has a role in regulating VLA-4-integrin expression on the human neutrophil cell surface. **Biochemical Pharmacology**. 66, 43-50.

CUZZOCREA, S.; MAZZON, E.; CALABRO, G.; DUGO, L.; DE SARRO, A.; Van De LOO, F. A. J.; CAPUTI, A. P. 2000. Inducible nitric oxide synthase-knockout mice exhibit resistance to pleurisy and lung injury caused by carrageenan. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**. 162, 1859-1866.

DAL-SECCO, D., CUNHA, T.M., FREITAS, A., ALVES-FILHO, J.C., SOUTO, F.O., FUKADA, S.Y., GRESPAN, R., ALENCAR, N.M., NETO, A.F., ROSSI, M.A., FERREIRA, S.H., HOTHERSALL, J.S., CUNHA, F.Q., 2008. Hydrogen sulfide augments neutrophil migration through enhancement of adhesion molecule expression and prevention of CXCR2 internalization: role of ATP-sensitive potassium channels. **Journal of Immunology**. 15, 4287-4298.

DEKKER, L. V.; SEGAL, A. W. 2000. Perspectives: signal transduction. Signals to move cells. **Science**, 287:5455, 982-985.

DE BERNARDIS, L.; LEONARDI, G.; CARUSO, A.; CUTULI, V.M; ARNICO-ROXAS, M. 1994. Protective effects of papavarine salicylate in mouse ear dermatitis and PAF-induced rat paw oedema. **Agents and Actions**, 42 (1-2), 29-33.

DE YOUNG, L.M., KHEIFETS, J.B., BALLARON, S.J., YOUNG, J.M. 1989. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. **Agents and Actions**, 26, 335-341.

DRANSFIELD, I.; BUCKLE, A.M.; HOGG, N. 1992. Interaction of leukocyte integrins with ligand is necessary but not sufficient for function. **Journal of Cell Biology**. 116, 1527- 1535.

DUNG, N.T.; BAJPAJ, V.K.; YOON, J.I.; KANG, S.C. 2009. Anti-inflammatory effects of essential oil isolated from the buds of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) **Food and Chemical Toxicology**. 47, 449–453.

FORTES, Z.B.; NIGRO, D.; SCIVOLETTO, R.; CARVALHO, M.H. 1991. Influence of sex on the reactivity to endothelin-1 and noradrenaline in spontaneously hypertensive rats. **Clinical and Experimental Hypertension**. 13:5, 807-16.

FURSTENBEGER, G.; CSUK-GLANZER, B.I.; MARKS, F.; KEPPLER, D. 1994. Phorbol



- esterinduced leukotriene biosynthesis and tumor promotion in mouse epidermis. **Carcinogenesis**, 15(12), 2823-2827.
- GÁBOR, M. Mouse Ear Inflammation Models and their Pharmacological Applications. Budapest: Akadémiai Kiadó, 2000.
- HEIDE, D.; RAAB, M.; MARKOVIC, S.; KARIMI, A.; GRIESMACHER, A.; MUELLER, M., 2002. Endothelial adhesion molecule expression in an in vitro model of inflammation international. **Journal of Clinical Chemistry**. 325, 171.
- HULE, R.E.; PADMAJA, S. 1993. The reaction of NO with superoxide. **Free Radical Research Communications**. 18, 195-199.
- KIM, Y.H.; KIM, D.H.; LIM, H.; BAEK, D.Y.; SHIN, H.K.; KIM, J.K. 2009. The Anti-inflammatory Effects of Methylsulfonylmethane on Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Responses in Murine Macrophages. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**. 32:4, 651-656.
- KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. Patologia: bases patológicas das doenças. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.
- LARSEN, E.; KHARAZMI, A.; CHRISTENSEN, L.P., CHRISTENSEN, S.B. 2003. Antiinflammatory Galactolipid from Rose Hip (*Rosa canina*) that Inhibits Chemotaxis of Human Peripheral Blood Neutrophils in Vitro. **Journal of Natural Products**. 66:7, 994-995.
- MABLEY, J.; SORIANO, F.; PACHER, P.; HASKÓ, G.; MARTON, A.; WALLACE, R.; SALZMAN, A.; SZABÓ, C. 2003. The adenosine A3 receptor agonist, N6-(3-iodobenzyl)-adenosine-5'-N-methyluronamide, is protective in two murine models of colitis. **European Journal of Pharmacology**. 466, 323-329.
- MANDERSCHIED, P.A.; BODKIN, R.P.; DAVIDSON, B.A.; JENSEN, E.; RUSSO, T.A.; KNIGHT, P.R. 2004. Bacterial clearance and cytokine profiles in a murine model of postsurgical nosocomial pneumonia. **Clinical Diagnostic Laboratory Immunology**. 11, 742-751.
- MYTHILYPRIYA, R.; SHANTHI, P.; SACHDANANDAM, P. 2008. Synergistic Effect of Kalpaamrutha on Antiarthritic and Antiinflammatory Properties—Its Mechanism of Action. **Inflammation**. 31:6, 391-398.
- NATHAN, C. 2002. Points of control in inflammation. **Nature**, 420, 846-852.
- PRESIBELLA, M. M.; SANTOS, C. A. M.; WEFFORT-SANTOS, A. M. 2003. Influência de extratos hidroetanólicos de plantas medicinais sobre a quimiotaxia de leucócitos humanos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 13:2, 75-82.
- ROITT, I. M.; BROSTOFF, J.; MALE, D. Imunologia. 6 ed. Barueri. 2003.
- SALVEMINI, D.; WANG, Z.Q.; WYATT, P.S.; BOURDON, D.M.; MARINO, M.H.; MANNING, P.T.; CURRIE, M.G. 1996. Nitric oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. **British Journal of Pharmacology**. 118, 829-838.
- SANTOS JUNIOR, J. 2003. Rubor, calor, tumor e dor e o paciente grave. **Revista brasileira de coloproctologia**. 23:3, 206-210.

- SIQUEIRA Jr, J. F.; DANTAS, C. J. S. 2000. Mecanismos Celulares e Moleculares da inflamação. Rio de Janeiro: MEDSI, 83-103.
- SILVA, M. B. S. da. Efeito antiinflamatório dos ligantes do receptor benzodiazepínico periférico (pk 11195 e ro5-4864) no modelo de pleurisia induzida pela carragenina, em camundongos. Dissertação (Mestrado): Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, fev. 2004.
- SILVA, I. E. F. da. Obtenção e avaliação da atividade analgésica e antiinflamatória de extratos hidroalcoólicos de casca, folhas e flores de *Tabebuia impetiginosa* (MART. ex DC) – IPÊ ROXO. Dissertação (Mestrado em Promoção de Saúde) - Universidade de Franca. 2006.
- SOUZA, W. M. da. Estudo químico e das atividades biológicas dos alcalóides indólicos de *Himatanthus lancifolius* (Muell. Arg.) Woodson, APOCYNACEAE – (Agoniada) – Dissertação (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, 2008.
- SPRINGER, T.A. 1994. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: The multistep paradigm. **Cell**. 76, 301-314.
- STEWART, J. M. 1994. The present and the future of bradykinin antagonists. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. 27, 1699-1706.
- SUZUKI, Y.; RUIZ-ORTEGA, M.; LORENZO, O.; RUPEREZ, M.; ESTEBAN, V.; EGIDO, J. 2003. Inflammation and angiotensin II. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**. 35, 881–900.
- TAMURA, E.K.; JIMENEZ, R.S.; WAISMAM, K.; GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P.; MALPEZZI-MARINHO, E.A.; MARINHO, E.A.; FARSKY, S.H. 2009. Inhibitory effects of *Solidago chilensis* Meyen hydroalcoholic extract on acute inflammation. **Journal of Ethnopharmacology**. 122, 478–485.
- TEDGUI, A.; MALLAT, Z. 2001. Anti- inflammatory mechanisms in the vascular wall. **Circulation Research**. 8:9, 877-887.
- TRACEY. 2002. The inflammatory reflex. **Nature**. 420: 6917, 853-859.
- TROWBRIDGE, H. O.; EMLING, R. C. 1996. Inflamação. Uma revisão do processo. 4.ed. São Paulo: Quintessence. 172.
- TSUCHIYA, K.; SAKAI, H.; SUZUKI N.; IWASHIMA, F.; YOSHIMOTO, T.; SHICHIRI, M.; HIRATA, Y. 2007. Chronic blockade of nitric oxide synthesis reduces adiposity and improves insulin resistance in high-fat-induced obese mice. **Endocrinology**. 148:10, 4548-4556.
- VAN ARMAN, G. C. Anti-inflammatory Drugs. **Clin. Pharmacol. Ther.** 1974, 16, 900-904.
- VANE, J.R. e BOTTING, R.M. 1998. Mechanism of action of non-steroidal anti-inflammatory drugs. **American Journal of Medicine**, 104 (3A), 2S-8S.
- WEBSTER, N.R.; GALLEY, H.F. 2003. Inflammation and immunity. **British Journal of Anaesthesia**. 3:2, 54-58.

WINDER CV.; MAX J.; BEEN MA. 1957. Rapid foot volume measurements on unanesthetized rats and the question of a phenyl-butazone effect on anaphyloctoid edema. **Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie.** 112, 174-187,

YOON, D.Y.; CHO, M.C.; KIM, J.H.; KIM, E.J.; KANG, J.W.; SEO, E.H.; SHIM, J.H.; KIM, S.H.; LEE, H.G.; OH, G.T.; HONG, J.T.; PARK, J.W.; KIM, J.W. 2008. Effects of a Tetramethoxyhydroxyflavone on the Expression of Inflammatory Mediators in LPS-Treated Human Synovial Fibroblast and Macrophage Cells. **Journal of Microbiology and Biotechnology.** 18:4, 686–694.

YOSHIKAI, Y. 2001.Roles of prostaglandins and leukotrienes in acute inflammation caused by bacterial infection. **Current Opinion in Infectious Diseases.** 14:3, 257-263.