

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**Mediadores envolvidos na resposta febril induzida pela RANTES**

**Renes de Resende Machado**

**Ribeirão Preto  
2009**

## RESUMO

MACHADO, R.R. **Mediadores envolvidos na resposta febril induzida pela RANTES**. 2008. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

Em estudo anterior, observamos que o Met-RANTES, antagonista de receptores CCR1 e CCR5 para quimiocinas, injetado pela via endovenosa (i.v.) reduziu a resposta febril induzida pelo lipopolissacarídeo (LPS) de *E. coli*, demonstrando o envolvimento da quimiocina RANTES (Regulada sob ativação, expressa e secretada por células T normais) nesta resposta. Além disso, a injeção intrahipotalâmica (i.h.) da RANTES dose-dependentemente aumentou a temperatura corporal de ratos, o qual foi caracterizado como febre, pois foi acompanhada de redução da temperatura da cauda, uma resposta termorregulatória para retenção de calor. Observamos também, que a RANTES aumenta a concentração de prostaglandinas no fluido cerebrospinal (CSF) e que a febre por ela induzida é sensível aos inibidores não-seletivos para as ciclooxigenases e seletivo para COX-2 (Machado et al., 2007). No presente estudo, aprofundamos a investigação sobre os mediadores, incluindo as prostaglandinas, envolvidos na resposta febril induzida pela RANTES. Verificamos que o paracetamol reduziu, enquanto o diclofenaco de sódio aboliu a resposta febril induzida pela RANTES. Ainda, a injeção i.h. da RANTES promoveu significativa expressão do RNAm para COX-2 no hipotálamo, confirmando ser a COX-2 a enzima responsável pela síntese de prostaglandinas envolvidas no efeito pirogênico desta quimiocina. Através da administração de corante *in situ* e de cortes histológicos, pode-se averiguar o trajeto da cânula bem como a profundidade alcançada pela agulha durante a injeção na área pré-óptica hipotalâmica anterior (AH/POA). Padronizamos a dose do Met-RANTES (i.h.) que não seria capaz de alterar a temperatura retal dos animais. Posteriormente, avaliou-se o efeito de diferentes doses do Met-RANTES, administrado via intrahipotalâmica, na resposta febril induzida pelo LPS ou pela RANTES. Entretanto, nas doses administradas o pré-tratamento com o antagonista não foi capaz de reduzir a febre induzida por ambos os estímulos. Contudo, o Met-RANTES (i.v.) reduziu a febre induzida pelo TNF- $\alpha$  (i.h.), reproduzindo resultados anteriores. O pré-tratamento com Met-RANTES (i.v.) não modificou a febre induzida pela injeção central de interleucina (IL)-6, fator liberador de corticotropina (CRF) e bradicinina (BK). Adicionalmente, a injeção de LPS

(i.v.) ou TNF- $\alpha$  (i.h.) elevou a concentração da RANTES no tecido hipotalâmico. Antalarmina (antagonista de receptores CRF<sub>1</sub>) e  $\alpha$ -helical CRF<sub>9-41</sub> (antagonista de receptores CRF<sub>1</sub> e CRF<sub>2</sub>) que reduziram a febre induzida pelo CRF, não alteraram a febre induzida pela administração i.h. da RANTES. O antagonista de receptores B<sub>1</sub> (DALBK) que reduziu a segunda fase da resposta febril induzida pela BK, não foi capaz de modificar a febre induzida pela RANTES. Da mesma forma, o antagonista de receptores B<sub>2</sub> (Hoe-140) que reduziu a resposta febril induzida pela BK durante todo o período de experimentação, não modificou a febre promovida pela RANTES. Por outro lado, verificamos que o anticorpo anti-IL-6 administrado i.h. reduziu a febre induzida pela IL-6 e pela RANTES. Ainda, a injeção de LPS (i.v.) ou RANTES (i.h.) elevou a concentração de IL-6 no CSF, mas não de IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ . A RANTES promoveu ativação do fator nuclear- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) e aumentou a expressão do RNAm para as citocinas IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-6 no hipotálamo dos animais. O pré-tratamento com Met-RANTES reduziu, na 2,5 e 6 h, a neutrofilia induzida pelo LPS. Em síntese, nossos resultados demonstram que durante a resposta febril induzida pelo LPS, este induz a síntese de TNF- $\alpha$  o qual promove a síntese da quimiocina RANTES que, ativando os receptores CCR1 e CCR5 promove a transmigração do NF- $\kappa$ B do citoplasma para o núcleo e a subsequente síntese de IL-6 e de COX-2, esta última, a responsável pela síntese de prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), um dos mediadores finais da resposta febril induzida pelo LPS. Além disso, a RANTES parece ser um mediador da resposta de fase aguda, uma vez que, promove dois sinais importantes desta resposta, febre e neutrofilia.

Palavras-chave: RANTES/CCL5, Febre, Lipopolissacarídeo, Citocinas, Prostaglandina E<sub>2</sub>.

## ABSTRACT

MACHADO, R.R. **Mediators involved in the febrile response induced by RANTES.** 2008. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

We showed before that Met-RANTES, CCR1 and CCR5 receptor antagonist, intravenously injected (i.v.) reduced fever induced by lipopolysaccharide (LPS, *E. coli*), demonstrating the involvement of RANTES (Regulated on activation, normal T cells expressed and secreted) in this response. Also, intrahypothalamic (i.h.) injection of RANTES dose-dependently increased body temperature of rats, this increase was characterized as fever, because it was accompanied of a reduction in the tail skin temperature, a thermoregulatory response for heat retention. We also verified that RANTES increased the concentration of prostaglandin (PG)E<sub>2</sub> in the cerebrospinal fluid (CSF), which was sensible to non-selective and selective blockers to cyclooxygenase (COX)-2 (Machado et al., 2007). In the present study, it was investigated which others mediators, including prostaglandins, are involved in the RANTES-induced fever. The effect of paracetamol and sodium diclofenac on fever induced by RANTES was also investigated. Paracetamol reduced, while sodium diclofenac abolished the RANTES-induced fever. The intrahypothalamic (i.h.) RANTES injection promoted a significant COX-2 mRNA expression in the hypothalamus, confirming the role of the COX-2 enzyme in the synthesis of prostaglandin involved in the pyrogenic effect of this chemokine. Through administration of dye *in situ* and histological analyses, we confirmed that the injection in the preoptic area of the anterior hypothalamus (AH/POA) was correct. Subsequently, we evaluated the effect of different doses of Met-RANTES (i.h.) in the fever induced by both LPS and RANTES. Centrally injected, Met-RANTES did not modify the fever induced by LPS or RANTES. On the other hand, Met-RANTES (i.v.) reduced TNF- $\alpha$ -induced fever, but did not modify the fever induced by interleukin (IL)-6, corticotrophin releasing factor (CRF) and bradykinin (BK). Additionally, the injection of LPS (i.v.) or TNF- $\alpha$  (i.h.) increased RANTES concentration in the hypothalamus. Antalarmin (a CRF receptor 1 antagonist) and  $\alpha$ -helical CRF<sub>9-41</sub> (CRF 1 and 2 receptor antagonist) that reduced CRF-induced fever did not modify the fever induced by RANTES (i.h.). DALBK (bradykinin B<sub>1</sub> receptor antagonist) that reduced

the second phase of BK-induced fever did not modify RANTES-induced fever. In the same way, Hoe-140 (bradykinin B<sub>2</sub> receptor antagonist) that reduced the fever induced by BK during the whole period of observation, did not modify RANTES-induced fever. On the other hand, we verified that anti-rat IL-6 antibody (i.h.) reduced the fever induced by both IL-6 and RANTES. In addition, the administration of LPS (i.v.) or RANTES (i.h.) increased the CSF IL-6 concentration, but not of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ . RANTES promoted nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) activation and increased IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and IL-6 mRNA expression in the hypothalamus. Pretreatment of the animals with Met-RANTES reduced the LPS-induced neutrophilia. In synthesis, our results suggest that in the fever induced by LPS, RANTES induces TNF- $\alpha$  synthesis, which promotes the synthesis of RANTES that, activating CCR1/CCR5 receptors, promotes NF- $\kappa$ B transmigration of cytoplasm to the nucleus and subsequent synthesis of IL-6 and COX-2. The latter, in turn, is responsible by (PGE<sub>2</sub>) synthesis, one of the final mediators of the febrile response induced by LPS. Moreover, RANTES seem to be a mediator of the acute phase response since it promoted two important signs of this response, fever and neutrophilia.

**Keywords:** RANTES/CCL5, Fever, Lipopolysaccharide, Cytokines, Prostaglandin E<sub>2</sub>.

## 1 - INTRODUÇÃO

### 1.1 - Febre.

A resposta de fase aguda é uma resposta altamente complexa do organismo animal a uma variedade de agressões, tais como, infecções de origem bacteriana, virais ou parasitárias, traumas, necrose isquêmica ou tumores. Nesta resposta, vários eventos ocorrem simultaneamente, entre eles estão: alterações neurológicas, endócrinas e metabólicas que se manifestam como febre, leucocitose, aumento da liberação de vários hormônios, diminuição dos níveis plasmáticos de ferro e zinco, ativação dos sistemas de coagulação, complemento, ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) com conseqüente aumento da produção de glicocorticóides, formação de cininas, aumento da produção das proteínas de fase aguda e anorexia (ZEISBERGER, 1999; BLATTEIS, 2006).

O hipotálamo, mais precisamente a região pré-óptica do hipotálamo rostral (AH/POA), controla a temperatura corporal em torno de um ponto de regulação (“set point”) relativamente constante. Nesta região são encontrados neurônios termossensíveis cuja frequência de disparo é afetada tanto por variações na temperatura sanguínea da área adjacente, como por influência de conexões diretas com termoreceptores distribuídos na pele e nos músculos (DINARELLO et al., 1988; BOULANT, 2000).

Em resposta a variações de temperatura, os neurônios hipotalâmicos iniciam respostas termorregulatórias apropriadas no sentido de manter uma temperatura interna constante (GORDON, 1990). Em estudos de estimulação térmica, o resfriamento localizado da área pré-óptica do hipotálamo inicia mecanismos de retenção de calor por vasoconstrição cutânea, piloereção (em algumas espécies

animais) e várias respostas comportamentais. De maneira oposta, o aquecimento provoca vasodilatação cutânea, sudorese e várias respostas comportamentais de perda de calor. Assim, a integridade dos diversos sistemas é fundamental para que, os mecanismos de produção e retenção de calor sejam contrabalançados pelos de perda de calor para o ambiente (BOULANT, 2000).

Atkins (1960) sugeriu que as substâncias produzidas por fungos, bactérias e vírus, constituem os pirogênios exógenos, incapazes de ativarem diretamente os centros cerebrais responsáveis pela febre, porém, capazes de estimularem a produção de pirogênios endógenos (PE) pelas células fagocíticas, sendo esses os responsáveis pela alteração do termostato (set-point) hipotalâmico.

Por uma ação direta ou indireta sobre o sistema nervoso central (SNC), os PEs são capazes de afetar o controle da temperatura corporal, pois promovem alterações na atividade neuronal da região pré-óptica, isto é, inibem a atividade dos neurônios sensíveis ao calor e aumentam a atividade daqueles sensíveis ao frio, havendo assim, a alteração do ponto de regulação hipotalâmico (KLUGER, 1991; ROTH et al., 2006). Esta alteração ocorre principalmente porque no hipotálamo e órgãos circumventriculares as citocinas induzem a síntese do fator liberador de corticotropina (CRF), endotelinas (ETs) e de prostaglandinas (PGs), respectivamente (MORIMOTO et al., 1992; ZAMPRONIO et al., 2000; FABRÍCIO et al., 2005).

Assim, a febre, um dos primeiros componentes da resposta de fase aguda a ser reconhecido, é definida como uma elevação controlada da temperatura interna de um organismo para níveis acima dos normais em decorrência da elevação do ponto de regulação hipotalâmico (DINARELLO et al., 1988; BLATTEIS, 2006).

É importante ressaltar que febre é um processo distinto de hipertermia. Nesta, o ponto de regulação hipotalâmico não é alterado e o aumento da temperatura

corporal observado é decorrente do comprometimento dos mecanismos de dissipação de calor ou de situações em que a dissipação não é suficiente para a manutenção da temperatura em níveis normais, devido a uma produção excessiva de calor ou a temperaturas externas muito elevadas (DINARELLO et al., 1988; BLATTEIS, 2006).

Desde os primórdios, a febre é conhecida como sinal de irregularidade no organismo e por isso, vários tipos de tratamento vêm surgindo ao longo do tempo. Entre esses tratamentos destacamos as drogas antipiréticas como a aspirina, que vem sendo usada desde o século XIX. Porém, os mecanismos pelos quais essas drogas aliviam a febre vêm sendo estudados e conhecidos apenas nas últimas décadas. Entretanto, algumas destas drogas promovem desconforto ao paciente (lesões gástricas), interferência no tratamento com antibióticos e ainda pré-disposição a efeitos adversos a outros medicamentos (ARONOFF & NEILSON, 2001).

Desse modo, fica evidente a importância de estudos que buscam conhecer mais sobre a mediação desse complexo evento da resposta de fase aguda, a febre, o que permitiria em futuro não muito distante a introdução de novos medicamentos antipiréticos ou a utilização mais racional dos já existentes.

## **1.2 - Citocinas.**

Segundo Müller et al. (1993), a transmigração do fator nuclear- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) para o núcleo, estimulada pelo lipopolissacarídeo (LPS), é essencial para que os genes das citocinas sejam expressos. Este fator de transcrição está constitutivamente expresso no citoplasma e está ligado ao seu inibidor  $\kappa$ B (I $\kappa$ B) o qual impede a sua migração para o núcleo e assim, o mantém no citoplasma (GHOSH et al., 1998). A atividade do NF- $\kappa$ B está atribuída à família de proteínas Rel/NF- $\kappa$ B, formando

homodímeros e heterodímeros através da combinação das subunidades p65 (ou RelA), p50, p52, c-Rel, e RelB. LPS, citocinas e espécies reativas de oxigênio ativam o NF- $\kappa$ B por induzirem a fosforilação do I $\kappa$ B por quinases específicas. O I $\kappa$ B fosforilado é poliubiquitinado e degradado (GHOSH & KARIN, 2002), permitindo, então, a migração do NF- $\kappa$ B para o núcleo, onde ativa a transcrição/síntese/liberação de vários mediadores pirogênicos ou de enzimas que levam à sua síntese.

Dentre estes mediadores podem ser citadas a interleucina (IL)-1 $\alpha$  e  $\beta$  (DINARELLO, 1984; DINARELLO, 1994), interferon (IFN) - $\alpha$ , - $\beta$  e - $\gamma$  (DINARELLO et al., 1984), o fator de necrose tumoral (TNF)- $\alpha$  (DINARELLO, et al., 1986), a IL-6 (HARRÉ et al., 2002; HOPKINS, 2007), a proteína inflamatória de macrófago (MIP)-1 (DAVATELIS et al., 1989; MELO SOARES et al., 2006), IL-8 (ZAMPRONIO et al., 1994a), o fator pirogênico pré-formado (PFPP) (ZAMPRONIO et al., 1994; FABRÍCIO et al., 2006), fator liberador de corticotropina (CRF) (ZAMPRONIO et al., 2000; SOUZA et al., 2002), endotelina (ET) (YANAGISAWA et al., 1988; FABRÍCIO et al., 2005; FABRÍCIO et al., 2006) e bradicinina (BK) (COELHO et al., 1997).

A IL-1 é um exemplo de citocina com atividade pirogênica (DINARELLO, 1994). Tanto a IL-1 $\alpha$  como a IL-1 $\beta$  induzem febre quando administradas por via intravenosa (i.v.) ou intracerebroventricular (i.c.v.) em coelhos e ratos (DASCOMBE et al., 1989; MORIMOTO et al., 1989; DAVIDSON et al., 1990; ZAMPRONIO et al., 2000; SOUZA et al., 2002).

Além disso, a administração i.v. de soro anti-IL-1 $\beta$ , assim como a administração intraperitoneal (i.p.) ou i.c.v. do antagonista natural do receptor da IL-1, o IL-1ra, inibe a febre induzida por endotoxina em ratos (LONG et al., 1990; SMITH & KLUGER, 1992; LUHESHI & ROTHWELL, 1996). No entanto, não existe correlação direta entre a indução da síntese de IL-1 e o desenvolvimento da resposta febril, uma vez que alguns autores

não observaram aumento dos níveis plasmáticos ou intra-hipotalâmicos desta citocina em animais experimentais (KLIR et al., 1993; LUHESHI et al., 1997; MILLER et al., 1997; CARTMELL et al., 2000) e humanos (DAMAS et al., 1992; ENGEL et al., 1994) após a injeção de lipopolissacarídeo (LPS), sugerindo que esta citocina promove seus efeitos pirogênicos por meio da liberação de outros mediadores.

O tratamento de animais com IL-1ra, além de promover significativa inibição da resposta febril induzida pelo LPS, também é capaz de reduzir os níveis de IL-6 no plasma e no fluido cerebrospinal (CSF) induzidos pela administração i.p. de LPS (LUHESHI & ROTHWELL, 1996), sugerindo que o efeito pirogênico da IL-1 pode ser mediado pela IL-6 (LEMAY et al., 1990). Neste sentido, a injeção central de antisoro anti-IL-6 inibe a resposta febril induzida por endotoxina e IL-1 $\beta$  (ROTHWELL et al., 1991). Fabrício et al. (2006) demonstraram que o tratamento de ratos com IL-1ra reduziu a resposta febril induzida por PFPF, CRF e ET-1. Entretanto, a ET-1 não alterou a expressão gênica de IL-1 no tecido hipotalâmico, sugerindo um efeito pós-transcricional da ET-1 sobre um pool constitutivo de IL-1 $\beta$  responsável pela resposta febril (FABRÍCIO et al., 2006a).

Outro importante pirogênio endógeno é o fator de necrose tumoral (TNF). Foram identificadas duas moléculas dessa família de citocinas, o TNF- $\alpha$  e o TNF- $\beta$ , que são biologicamente semelhantes (Dinarello et al., 1986).

O TNF- $\alpha$ , quando administrado por via periférica ou central, em coelhos (Dinarello et al., 1986; Morimoto et al., 1989) e em ratos (Kettelhut & Goldberg, 1988) induziu febre de curta latência e duração. O TNF- $\beta$  também apresenta atividade pirogênica, pois induziu febre em coelhos após injeção periférica ou central, como demonstrado por Watanabe (1992) e Kapás & Krueger (1992), e, nesta espécie animal, a pirogenicidade do TNF- $\beta$  parece ser superior àquela do TNF- $\alpha$ .

O pré-tratamento dos animais com o receptor solúvel (rs) do TNF (i.c.v., 15 min antes) reduziu significativamente a febre induzida pelo TNF- $\alpha$  (Takahashi et al., 1996). Ainda, o TNF-bp (dímero sintético PEG-rsTNF) reduziu a temperatura corporal de cobaias estimuladas com LPS e os níveis de TNF no plasma (Ross et al., 2003).

A interleucina-6 (IL-6) é outro exemplo de citocina com atividade pirogênica (LeMay et al., 1990; Dinarello et al., 1991). Durante a febre induzida por endotoxina, em ratos e cobaias, foram detectadas concentrações elevadas de IL-6 no plasma, fluido cerebrospinal e perfusatos hipotalâmicos (LeMay et al., 1990a; Roth et al., 1993; Coelho et al., 1995; Jansky et al., 1995; Zampronio et al., 2000) e a infusão central de IL-6, em uma dose correspondente às concentrações detectadas no hipotálamo de ratos, induz febre nesses animais (Klir et al., 1993, Souza et al., 2002). O RNAm para IL-6 é encontrado no hipotálamo de ratos após administração central ou periférica de endotoxina (Muramami et al., 1993; Schöbitz et al., 1994).

Conforme demonstrado por LeMay et al. (1990a), a IL-1 $\beta$ , similarmente à endotoxina, induz aumento da concentração de IL-6 no plasma e no fluido cerebrospinal de ratos e, como dito anteriormente, o pré-tratamento desses animais com antisoro anti-IL-1 $\beta$ , além de inibir a febre induzida por LPS, atenua significativamente a elevação das referidas concentrações de IL-6. Em estudos posteriores (Rothwell et al., 1991), foi observado que, em ratos, a IL-6 induz febre somente após injeção central, o que não ocorre após injeção periférica, e a injeção central de antisoro anti-IL-6 inibe a resposta febril induzida pelo LPS e pela IL-1 $\beta$ , sugerindo que, em ratos, o efeito pirogênico da IL-1 $\beta$  seja mediado pela liberação de IL-6. Em conjunto, estes dados permitem sugerir que a IL-6 possa ser um mediador, no sistema nervoso central, da resposta febril promovida pela endotoxina.

### **1.3 - Prostaglandinas (PGs)**

Postula-se que a capacidade dos PEs causarem febre é dependente da produção intracerebral do fator liberador de corticotropina (CRF), endotelina (ET) e de prostaglandinas (PGs) (Morimoto et al., 1992; Rothwell; 1989; Fabrício et al., 2005a; Rummel et al., 2005).

Vários estudos indicam as PGs como sendo prováveis mediadores responsáveis pela ativação dos neurônios termossensíveis da POA, uma vez que, foi observada rápida elevação da concentração de PGE<sub>2</sub> no CSF de animais experimentais após administração sistêmica de LPS (Milton, 1989, Fabrício et al., 2005a). Ainda, estudos mais antigos (Feldberg & Saxena, 1971; Stitt, 1973) e mais recentes (Souza et al., 2002; Fabrício et al., 2006) mostraram que a PGE<sub>2</sub> injetada i.c.v. induz febre em ratos e coelhos. Além disso, a microinjeção de inibidores de ciclooxigenase na POA reduziu a febre induzida por LPS (Scammell et al., 1998). A ciclooxigenase (COX) é a enzima responsável pela síntese de PGs a partir do ácido araquidônico. A COX pode existir em duas isoformas, codificadas por genes distintos, referidas como COX-1 e COX-2. Ao contrário da COX-1, que é expressa constitutivamente nas células dos diferentes tecidos de um organismo, a expressão de COX-2 pode ser induzida em vários tipos celulares por estímulos inflamatórios como LPS, IL-1 e TNF (Cao et al., 1997; Vane & Botting, 1998).

Corroborando esses achados demonstrou-se que febres produzidas pela injeção de LPS, IL-1 e IL-6 são bloqueadas em animais deficientes para COX-2, porém não para a COX-1 (Li et al., 2001; 2003).

Ranels e Griffin (2003) demonstraram que a PGE<sub>2</sub> promove aumento e redução na frequência de disparos de neurônios hipotalâmicos insensíveis à temperatura e sensíveis ao calor, respectivamente. Em estudo posterior, estes

autores sugeriram que isso ocorre por meio da ação direta da PGE2 sobre a atividade de correntes iônicas voltagem-dependente, as quais são responsáveis por regular a excitabilidade e ritmicidade da frequência de disparo dos neurônios hipotalâmicos (Ranelis & Griffin, 2005).

#### **1.4 - Fator liberador de corticotropina (CRF)**

Além das PGs, o CRF (fator liberador de corticotropina), também parece estar envolvido na mediação da resposta febril (Rothwell, 1989). O CRF é um peptídeo composto de 41 aminoácidos, sintetizado nas células parvocelulares do núcleo paraventricular hipotalâmico (NPV). Ele exerce seus efeitos por meio da ativação de dois subtipos de receptores, CRF1 e CRF2 (Gallagher et al., 2008). A administração i.c.v. de CRF, em ratos, aumenta a atividade simpática (Brown et al., 1982), estimula a atividade termogênica do tecido adiposo marrom (LeFeuvre et al., 1987) e eleva a temperatura corporal (Diamant & De Wied, 1991), sugerindo a participação deste fator na indução da termogênese nesta espécie.

O CRF também medeia ações centrais de citocinas (Rothwell, 1989; 1990). Tem sido proposto que o CRF atue no sistema nervoso central como um dos mediadores da febre induzida pela injeção central da IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e PGF2 $\alpha$  (Rothwell, 1989; Rothwell et al., 1991; Strijbos et al., 1992), pois injeções de anticorpos anti-CRF ou do antagonista não seletivo de receptores de CRF,  $\alpha$ -helical CRF9-41, atenuaram significativamente essas respostas. Por outro lado, as respostas febris induzidas por IL-1 $\alpha$  e TNF- $\alpha$  não são alteradas pelo tratamento dos animais com este antagonista (Rothwell, 1989). Além disso, Zampronio e colaboradores (2000a) demonstraram que o antagonista não seletivo para receptores de CRF abole o aumento de temperatura induzido pela injeção central de

PFPF (fator pirogênico pré-formado) e que, semelhantemente a IL-1, induz in vitro a liberação de CRF a partir de explantes hipotalâmicos de ratos.

Fabrício e colaboradores (2006) evidenciaram a participação da ET-1 na febre induzida pelo CRF, uma vez que o tratamento com antagonista não seletivo para receptores ETA e ETB para endotelina, bosentan; bem como com antagonista seletivo de receptor ETB, BQ-788 reduzem a febre induzida pela injeção i.c.v. de CRF.

A atividade pirogênica do CRF não é inibida por fármacos bloqueadores de COX (Strijbos et al., 1992; Zampronio et al., 2000a), sugerindo que possam existir mecanismos de indução de febre independentes da participação de PGs, porém dependentes da liberação de CRF e de endotelinas (Fabrício et al., 2006).

### **1.5 - Bradicinina (BK)**

A bradicinina, um mediador de origem tecidual ou plasmática, também tem sido descrita como um mediador da resposta febril. A BK é um nonapeptídeo formado a partir de moléculas precursoras, cininogênios de alto e baixo peso molecular após a ativação das enzimas denominadas calicreínas, teciduais e plasmáticas, por estímulos fisiopatológicos como trauma tecidual, processo inflamatório, anoxia e queda do pH (revisado por Bhoola et al., 1992). Tem sido demonstrado que a injeção i.c.v. de BK promove aumento da temperatura corporal em coelhos (Almeida e Silva & Pelá, 1978) e em ratos (Mohan Rao & Bhattacharya, 1988; Coelho et al., 1997) e que a fase inicial da febre induzida pela administração i.v. de LPS parece depender da ativação dos receptores B2 da BK enquanto os receptores B1, de natureza induzível, estariam envolvidos na fase tardia desta resposta (Coelho et al., 1997). Além disso, como demonstrado por Santos (2002), o efeito pirogênico da BK,

em ratos, depende das prostaglandinas, do CRF e das citocinas pirogênicas IL-1, TNF e IL-6, o que permite sugerir que a BK esteja situada em um passo anterior àquele da liberação das citocinas na cascata de mediadores envolvidos na resposta febril.

## 1.6 - Quimiocinas

Uma outra classe de moléculas sintetizadas pelas células de defesa e que tem participação na resposta febril são as quimiocinas (Oppenheim et al., 1991; Horuk, 1994; Davatelis et al., 1989; Zampronio et al., 1994a, Melo Soares et al., 2006, Machado et al., 2007; Soares et al., 2008). As quimiocinas são uma família de proteínas quimioatraentes de peso molecular entre 8 e 10 kDa (Luster, 1998) e que apresentam quatro resíduos de cisteína conservados formando duas pontes dissulfeto essenciais, possuem um curto domínio amino-terminal antecedendo a primeira cisteína, formando o grupo denominado CC ou  $\alpha$ -quimiocinas; separadas por um aminoácido, denominado de CXC ou  $\beta$ -quimiocinas ou separadas por três aminoácidos, formando as CX3C quimiocinas. Além disso, também já foi descrita uma proteína que possui apenas dois resíduos de cisteína em sua estrutura, denominada de C quimiocina (Clark-Lewis, 1995; Ubogu et al., 2006).

As quimiocinas da classe CXC como é o caso da IL-8, do peptídeo ativador de neutrófilos (NAP)-2, do oncogene relacionado com crescimento (GRO)- $\alpha$ , - $\beta$ , - $\gamma$ , do peptídeo ativador de neutrófilos derivado de células epiteliais (ENA)-78, e a citocina quimioatraente para neutrófilos (CINC-1), ativam predominantemente células polimorfonucleares como os neutrófilos (Ahuja et al., 1996). Por outro lado, as quimiocinas da classe CC como a eotaxina, a RANTES (Regulada sob ativação, expressa e secretada por células T normais) e a proteína quimiotática para

monócitos (MCP)-4 ativam eosinófilos, basófilos e linfócitos T (Kapp et al., 1994; Jose et al., 1994; Elsner et al., 1999; Petering et al., 1998).

As quimiocinas pertencentes à classe C (linfotactina) e CX3C (fractalquina), não são seletivas e podem ser quimioatraentes para monócitos, células T e células NK (“Natural Killer”) (Kelner et al., 1994; Bazan et al., 1997).

Para exercer suas funções as quimiocinas se ligam aos seus receptores, presentes na superfície da célula alvo. Os receptores para quimiocinas pertencem à superfamília da rodopsina, proteínas que se ligam à proteína G (Clark-Lewis, 1995). Estes receptores possuem sete domínios transmembrana ricos em aminoácidos hidrofóbicos, conservados na maioria dos receptores desta classe, entretanto, não existe aminoácido específico ou um padrão comum entre os receptores de quimiocinas (Onuffer & Horuk, 2002; Callewaere et al., 2007).

As quimiocinas do grupo CXC ligam-se aos receptores da classe CXCR (CXCR1 a CXCR6) e as quimiocinas CC ligam-se a receptores da classe CCR (CCR1 a CCR11) (Murphy, 2002). Estes receptores podem estabelecer ligações com mais de uma quimiocina e, esta pode acoplar-se a mais de um tipo de receptor, indicando que há redundância e versatilidade no sistema das quimiocinas. No grupo CX3C, somente um tipo de receptor foi identificado em humanos, o CX3CR1 (Murphy, 2002).

A participação de quimiocinas na resposta febril foi evidenciada pela capacidade da interleucina-8 (IL-8) (Rothwell et al., 1990; Zampronio et al., 1994a), da família CXC, e proteína inflamatória derivada de macrófagos-1 (MIP-1 $\alpha$ ) (Davatelis et al., 1989; Miñano et al., 1990; Melo Soares et al., 2006), da família CC, induzirem resposta febril em coelhos e ratos.

A quimiocina RANTES é membro da subfamília das CC quimiocinas, e atua em receptores CCR1, CCR3 e CCR5 (Murphy, 2002). RANTES e MIP-1 $\beta$  podem compartilhar receptores em comum (CCR5), no entanto, MIP-1 $\beta$  liga-se também em CCR9/10 (revisado por Bajetto et al., 2001; Boddeke et al., 1999). A maioria destes receptores é expressa em níveis baixos e podem ser detectados em alguns tipos de células do sistema nervoso central, incluindo células neuronais, astrócitos e micróglia situados no hipotálamo durante doenças ou na presença de endotoxinas ou citocinas (Boddeke et al., 1999; Dorf et al., 2000; Simpson et al., 2000).

Estudos in vitro demonstraram que o LPS induziu a expressão da RANTES em células microgliais mediado pela ativação do fator de transcrição NF- $\kappa$ B (fator nuclear  $\kappa$ B) (Jang et al., 2002) e que astrócitos estimulados com TNF- $\alpha$  ou LPS induziram a expressão de RNAm para RANTES, MCP-1 e MIP-1 $\beta$  (Guo et al., 1998).

Segundo Tavares & Miñano (2000), a RANTES induziu aumento de temperatura em ratos quando administrada na área pré-óptica hipotalâmica anterior (AH/POA), resposta esta neutralizada por anticorpo anti-RANTES. Nosso grupo demonstrou recentemente (Machado et al., 2007) que o aumento de temperatura promovido pela RANTES foi associado a uma resposta termorregulatória efetora, ou seja, vasoconstrição periférica, verificada pela redução da temperatura da pele, indicativa da retenção de calor que ocorre após a elevação do “set point” hipotalâmico (Gordon, 2002) e que caracteriza a verdadeira resposta febril.

Verificamos ainda, que a febre induzida pela RANTES foi acompanhada por aumento na concentração de PGE2 no CSF dos ratos e que esta febre foi reduzida ou abolida pelo pré-tratamento dos animais com inibidores não-seletivos e seletivos de COX-2, respectivamente, sugerindo assim, o envolvimento de prostaglandinas (PGs) nos mecanismos de ação pirogênica desta quimiocina (Machado et al., 2007).

Tavares & Miñano (2004) demonstraram que o pré-tratamento com anticorpo específico contra CCR5 (anti-CCR5) na área pré-óptica hipotalâmica, suprimiu a resposta febril induzida pela RANTES, mas não a resposta febril induzida pelo MIP-1 $\beta$ . Entretanto, apesar de compartilharem o mesmo receptor, induzem febres dependente e independente de PG, respectivamente (Tavares & Miñano, 2002; Li et al., 2003) sugerindo que, RANTES e MIP-1 $\beta$  apresentam distintos mecanismos de sinalização intracelular.

Um instrumento útil no estudo das atividades biológicas das quimiocinas é a obtenção de antagonistas de receptores para quimiocinas (Wells et al., 2006). A modificação no aminoácido terminal da proteína RANTES pela adição de um simples resíduo de metionina, resulta na formação de um antagonista de receptores da RANTES, denominado Met-RANTES (Proudfoot et al., 1996; 2002). O Met-RANTES por sua vez, liga-se aos receptores CCR1 e CCR5 e pode inibir tanto os efeitos da RANTES como do MIP-1 $\alpha$  no recrutamento de células T e monócitos (Proudfoot et al., 1996; Johnson et al., 2005). Neste contexto, demonstramos que este antagonista administrado via endovenosa foi capaz de reduzir a febre induzida pelo LPS e pela RANTES em ratos, indicando o envolvimento da RANTES e de receptores CCR1 e CCR5 na cascata de mediadores induzidos pelo LPS (Machado et al., 2007).

Demonstramos também, que o tratamento dos animais com dexametasona (um glicocorticóide) promoveu significativa redução da febre induzida pela RANTES, indicando que esta quimiocina parece depender da síntese de novas proteínas para promover resposta febril (Machado, 2005).

A dexametasona inibe a síntese de citocinas, da fosfolipase A2 (PLA2) e da COX-2 por inibir a migração do NF- $\kappa$ B para o núcleo das células alvo (Nakano et al., 1990; Masferrer et al., 1994; revisado por Newton, 2000). Também inibe a produção

de prostaglandinas por induzir a síntese de lipocortina (família das anexinas), a qual inibe a atividade da PLA2 (Flower & Rothwell, 1994; Lim & Pervaiz, 2007), bem como, a febre induzida por pirogênicos exógenos (LPS) e endógenos (Coelho et al., 1992; Coelho et al, 1995). Entretanto, a dexametasona não altera a resposta febril induzida pelo MIP-1 $\beta$  ou pelo MIP-1 $\alpha$ , nem a elevação de PGE2 no fluido cerebrospinal de ratos induzida pelo MIP-1 $\alpha$  (Tavares & Miñano, 2002; Li et al., 2003; Melo Soares et al., 2006). Em conjunto, estes achados reforçam a sugestão de que RANTES e MIP-1 $\alpha/\beta$  apresentam distintos mecanismos de sinalização intracelular (Tavares & Miñano, 2002; Li et al., 2003).

Considerando que astrócitos estimulados com IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  podem aumentar a expressão da RANTES (Guo et al., 1998) examinamos, ainda em nosso estudo, a participação dessas citocinas na febre da RANTES. Entretanto, como nem o IL-1ra, nem o rsTNF, modificaram a febre induzida pela RANTES, parece improvável que a RANTES cause febre, em ratos, via a formação dessas citocinas no cérebro (Machado, 2005).

Por outro lado, o Met-RANTES, que não alterou a febre da IL-1 $\beta$ , reduziu a febre induzida pelo TNF- $\alpha$ . Assim, pode ser sugerido que o TNF- $\alpha$  estimule a liberação da RANTES e esta, por sua vez, induza febre dependente da ação de prostaglandinas.

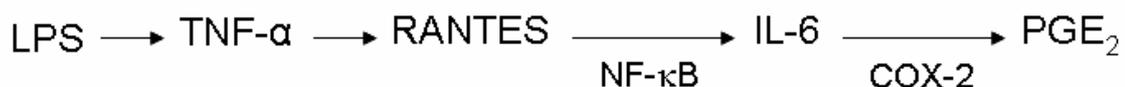
No entanto, muitos questionamentos ainda não foram esclarecidos no sentido de elucidar o envolvimento da RANTES na cascata de mediadores e vias que orquestram a resposta febril causada pelo LPS, bem como, o seu envolvimento nos outros eventos da resposta de fase aguda.

## 6 - CONCLUSÕES

Os resultados obtidos mostram que:

- a quimiocina RANTES está envolvida na febre induzida pelo LPS e pelo TNF- $\alpha$ ;
- os receptores CCR1 e CCR5 participam da resposta febril induzida pelo LPS e pela RANTES;
- a febre induzida pela IL-1, IL-6, CRF e BK não depende da quimiocina RANTES;
- a RANTES não depende do CRF e da BK para induzir febre;
- a RANTES medeia a febre induzida pelo TNF- $\alpha$ , mas não aquela induzida pela IL-1 $\beta$ ;
- a IL-6 e PGE<sub>2</sub> (formada via COX-2) estão envolvidas na febre da RANTES;
- a ativação do NF- $\kappa$ B no tecido hipotalâmico pela RANTES pode representar uma importante via de sinalização para indução de IL-6 e a síntese de COX-2;
- RANTES é uma quimiocina envolvida na resposta de fase aguda não só pela capacidade de induzir febre, mas também pela capacidade de induzir neutrofilia.

Em resumo, na cascata de mediadores envolvidos na resposta febril induzida pelo LPS, a RANTES ocupa lugar de destaque, principalmente por induzir a síntese de IL-6, a principal citocina da resposta de fase aguda (HEINRICH et al., 1990; GABAY, 2006):



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHUJA, S.K.; MURPHY, P.M. The Chemokines growth-regulated oncogene (GRO) -  $\alpha$ , - $\beta$  e - $\gamma$ , neutrophil-activating peptide-2, and epithelial cell-derived neutrophil-activating peptide-78 are potent agonists for the type B, but not the type A, human IL-8 receptor. **J. Biol.Chem.**, v.271 (34), p.20545-20550, 1996.
- ALMEIDA e SILVA, T.C.; PELÁ, I.R. Changes in rectal temperature of the rabbit by intracerebroventricular injection of bradykinin and related kinins. **Agentes Actions**, v.8, p.102-107, 1978.
- AMMIT, A.J.; LAZAAR, A.L.; IRANI, C.; O'NEIL, G.M.; GORDON, N.D.; AMRANI, Y.; PENN, R.B.; PANETTIERI Jr, R.A. Tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced secretion of RANTES and interleukin-6 from human airway smooth muscle cells. Modulation by glucocorticoids and  $\alpha$ -agonists. **Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.**, v.26, p.465-474, 2002.
- ARONOFF, D.M.; NEILSON, E.G. Antipyretics: mechanisms of action and clinical use in fever suppression. **Am. J. Med.**, v.111 (4), p.304-315, 2001.
- ATKINS, E. Pathogenesis of fever. **Physiol. Rev.**, v.40 (3), p.580-646, 1960.
- BAJETTO, A.; BONAVALIA, R.; BARBERO, S.; FLORIO, T.; AND SCETTINI G. Chemokines and their receptors in the central nervous system. **Front. Neuroendocrinol.**, v.22, p.147-184, 2001.
- BAKHLE, Y.S. & BOTTING, R.M. Cyclooxygenase-2 and its regulation in inflammation. **Med. Inflamm.**, v. 5, p.305-323, 1996.
- BARNES, P.J.; KARIN, M. Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. **N. Engl. J. Med.**, v.336, p.1066-1071, 1997.
- BAZAN, J.F.; BACON, K.B.; HARDIMAN, G.; WANG, W.; SOO, K.; ROSSI, D.; GREAVES, D.R.; ZLOTNIK, A.; SCHALL, T.J. A new class of membrane-bound chemokine with a CX3C motif. **Nature**, v.385, p.640-644, 1997.
- BHoola, K.D.; FIGUEROA, C.D.; WORTHY, K. Bioregulation of kinins: kallikreins, kininogens, and kininases. **Pharmacol. Rev.**, v.44, p.1-80, 1992.
- BLATTEIS, C.M. Endotoxic fever: New concepts of its regulation suggest new approaches to its management. **Pharmacology & Therapeutics**, v.111, p.194-223, 2006.

- BODDEKE, E.W.G.M.; MEIGEL, I.; FRENTZEL, S.; GOURMALA, N.G.; HARISON, J.K.; BUTTINI, M.; SPLEISS, O.; GEBICKE-HARTER, P. Culture rat microglia express functional  $\beta$ -chemokine receptors. **J. Neuroimmunol.**, v.98, p.176-184, 1999.
- BOULANT, J.A. Role of the preoptic-anterior hypothalamus in thermoregulation and fever. **Clin. Infect. Dis.**, v.31, p.S157-S161, 2000.
- BROWN, M.R.; FISHER, L.A.; RIVIER, J.; SPIESS, J.; RIVIER, C.; VALE, W. Corticotrophin-releasing factor: effects on the sympathetic nervous system and oxygen consumption. **Life Sci.**, v.30, p.207-210, 1982.
- CALLEWAERE, C.; BANISADR, G.; ROSTÈNE, W.; PARSADANIANTZ, S.M. Chemokines and chemokine receptors in the brain: implication in neuroendocrine regulation. **J. Molecular Endocrinology**, v.38, p.355-363, 2007.
- CAO, C.; MATSUMURA, K.; WATANABE, Y. Induction by lipopolysaccharide of COX-2 mRNA in the brain: its possible role in the febrile response. **Brain Res.**, v.697, p.187-196, 1995.
- CAO, C.; MATSUMURA, K.; WATANABE, Y. Induction of COX-2 in the brain by cytokines. **Ann. NY Acad. Sci.**, v.813, p.307-309, 1997.
- CARTMELL, T.; POOLE, S.; TURNBULL, A.V.; ROTHWELL, N.J.; LUHESHI, G. Circulating interleukin-6 mediates the febrile response to localised inflammation in rats. **J. Physiol.**, v.526 (3), p.653-661, 2000.
- CELIS, J.E.; GROMOV, P.; CABEZÓN, T.; MOREIRA, J.M.A.; AMBARTSUMIAN, N.; SANDELIN, K.; RANK, F.; GROMOVA, I. Proteomic characterization of the interstitial fluid perfusing the breast tumor microenvironment. **Molecular and Cellular Proteomics.**, v.3, p.327-344, 2004.
- CHAI, Z.; GATTI, S.; TONIATTI, C.; POLI, V.; BARTFAI, T. Interleukin (IL)-6 gene expression in central nervous system is necessary for fever response to lipopolysaccharide or IL-1 $\beta$ : a study on IL-6 deficient mice. **J. Exp. Med.**, v.183, p.311-316, 1996.
- CLARK-LEWIS, I.; KIM K.S.; RAJARATHNAM, K.; GONG, J.H.; DEWALD, B.; MOSER, B.; BAGGIOLINI, M.; SYKES, B.D. Structure-activity relationships of chemokines. **J. Leucoc. Biol.**, v.57, p.703-711, 1995.
- COCEANI, F.; LEES, J.; MANCILLA, J.; BELIZARIO, J., DINARELLO, C.A. Interleukin-6 and tumor necrosis factor in cerebrospinal fluid: changes during pyrogen fever. **Brain Research**, v.612, p.165-171, 1993.

- COELHO, M.M.; LUKESHI, G; HOPKINS, S.J.; PELÁ, I.R.; AND ROTWELL, N.J. Multiple mechanisms mediate antipyretic action of glucocorticoids. **Am. J. Physiol.**, v.269, R527-R535, 1995.
- COELHO, M.M.; OLIVEIRA, C.R.; PAJOLLA, G.P.; CALIXTO, J.B.; PELA, I.R. Central involvement of kinin B1 and B2 receptors in the febrile response induced by endotoxin in rats. **Br. J. Pharmacol.**, v.121 (2), p.296-302, 1997.
- COELHO, M.M.; SOUZA, G.E.P.; PELÁ, I.R. Endotoxin-induced fever is modulated by endogenous glucocorticoids in rats. **Am. J. Physiol.**, v.263, p.R423-R427, 1992.
- CONSIGLIO, A.R. & LUCION, A.B. Technique for collecting cerebrospinal fluid in the cisterna magna of non-anesthetized rats. **Brain Research Protocols.**, v.5, p.109-114, 2000.
- COOPER, A.L.; BROUWER, S.; TURNBULL, A.V.; LUHESHI, G.N.; HOPKINS, S.J.; KUNKEL, S.L.; ROTHWELL, N.J. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and fever after peripheral inflammation in the rat. **Am. J. Physiol.**, v.267, p.1431-1436, 1994.
- DAMAS, P.; LEDOUX, D.; NYS, M.; VRINDTS, Y.; De GROOT, D.; FRANCHIMONT, P.; LAMY, M. Cytokine serum level during severe sepsis in human: IL-6 as marker of severity. **Ann. Sugery.**, v.215, p.356-362, 1992.
- DASCOMBE, M.J.; ROTHWELL, N.J.; SAGAY, B.O.; STOCK, M.J. Pyrogenic and thermogenic effects of interleukin  $1\beta$  in the rat. **Am. J. Physiol.**, v.256, p.E7-11, 1989.
- DAVATELIS, G.; WOLPE, S.D.; SHERRY, B.; DAYER, J.-M.; CHICHEPORTICHE, R.; CERAMI, A. Macrophage inflammatory protein-1: a prostaglandin-independent endogenous pyrogen. **Science**, v.243, p.1066-1068, 1989.
- DAVIDSON, J.; MILTON, A.S.; ROTONDO, D. A study of the pyrogenic actions of interleukin- $1\alpha$  and interleukin- $1\beta$ : interactions with a steroidal and a non-steroidal anti-inflammatory agent. **Br. J. Pharmacol.**, v.100, p.542-546, 1990.
- DIAMANT, M.; DeWIED, D. Autonomic and behavioral effects of centrally administered corticotrophin-releasing factor in rats. **Endocrinology**, v.129 (1), p. 466-474, 1991.
- DINARELLO, C.A. Interleukin-1. **Rev. Infect. Dis.**, v.6, n.1, p.51-95, 1984.
- DINARELLO, C.A. Interleukin-1. **Adv. Pharmacol.**, v.25, p.21-51. 1994.

- DINARELLO, C.A.; BERNHEIN, H.A.; DUFF, G.W.; HELE, H.V.; NAGABHUSHAN, T.L.; HAMILTON, N.C.; COCEANI, F. Mechanisms of fever induced by recombinant human interferon. **J. Clin. Invest.**, v.74, p.906-913, 1984.
- DINARELLO, C.A.; CANNON, J.G.; MANCILLA, J.; BISHAI, I.; LEES, J.; COCEANI, F. Interleukin-6 as an endogenous pyrogen: induction of prostaglandin E<sub>2</sub> in brain but not in peripheral blood mononuclear cells. **Brain Res.**, v.562, p.199-206, 1991.
- DINARELLO, C.A.; CANNON, J.G.; WOLFF, S.M. New concepts on the pathogenesis of fever. **Rev. Infect. Dis.**, v.10, n.1, p.168-189, 1988.
- DINARELLO, C.A.; CANNON, J.G.; WOLFF, S.M.; BERNHEIM, H.; BEAUTLER, B.; CERAMI, A.; FIGARI, I.S.; PALLADINO, M.A.Jr.; O'CONNOR, J.V. Tumor necrosis factor (cachectin) is an endogenous pyrogen and induces production of interleukin 1. **J. Exp. Med.**, v.163, p.1433-1450, 1986.
- DORF, M.E.; BERMAN, M.; TANABE, S.; HEESSEN, M.; LUO, Y. Astrocytes express functional chemokine receptors. **J. Neuroimmunol.**, v.111, p.109-121, 2000.
- ELSNER, J.; PETERING, H.; KIMMIG, D.; WELL, T.N.; PROUDFOOT, A.E.; KOPP. The CC chemokine receptor antagonist met-RANTES inhibits eosinophil effector functions. **Int. Arch. Allergy Immunol.**, v.118 (2-4), p.462-465, 1999.
- ENGEL, A.; KERN, W.V.; MURDTER, G.; KERN, P. Kinetics and correlation with body temperature of circulating interleukin-6, interleukin-8, tumour necrosis factor  $\alpha$  and interleukin-1 $\beta$  in patients with fever and neutropenia. **Infection**, v.22, p. 160-164, 1994.
- FABRICIO, A.S.; RAE, G.A.; D'ORLÉANS-JUSTE, P.; SOUZA, G.E.P Endothelin-1 as a central mediator of LPS-induced fever in rats. **Brain Research**, v.1066, p.92-100, 2005.
- FABRICIO, A.S.; RAE, G.A.; ZAMPRONIO, A.R.; D'ORLÉANS-JUSTE, P.; SOUZA, G.E. Central endothelin ET<sub>B</sub> receptors mediate IL-1 dependent fever induced by pre-formed pyrogenic factor and corticotropin-releasing factor in the rat. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v.290, p.R164-R171, 2006.
- FABRICIO, A.S.; TRINGALI, G.; POZZOLI, G.; MELO, M.C.; VERCESI, J.A.; SOUZA, G.E.P.; NAVARRA, P. Interleukin-1 mediates endothelin-1-induced fever and prostaglandin production in the preoptic area of rats. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v.290, p.R1515-R1523, 2006a.

- FABRICIO, A.S.; VEIGA, F.H.; CRISTOFOLETTI, R.; NAVARRA, P.; SOUZA, G.E. The effects of selective and non-selective cyclooxygenase inhibitors on endothelin-1-induced fever in rats. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v.288, p.R671-R677, 2005a.
- FABRICIO, A.S.C. Mecanismos envolvidos na participação da endotelina na resposta febril em ratos. Tese apresentada ao Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2002.
- FELDBERG, W. & SAXENA, P.N. Fever produced by prostaglandin E<sub>2</sub>. **J. Physiol.**, v.217, p.547-556, 1971.
- FITZGERALD, G.A.; PATRONO, C. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. **N. Engl. J. Med.**, v.345, p.433-442, 2001.
- FLOWER, R.J. & ROTHWELL, N.J. Lipocortin-1: cellular mechanisms and clinical relevance. **Trends Pharmacol. Sci.**, v.15 (3), p.71-76, 1994.
- GABAY, C. Interleukin-6 and chronic inflammation. **Arthritis Res. Ther.**, v.8, Suppl 2:S3, 2006.
- GALLAGHER, J.P.; OROZCO-CABAL, L.F.; LIU, J.; SHINNICK-GALLAGHER, P. Synaptic physiology of central CRH system. **Eur. J. Pharmacology**, v.583, p.215-225, 2008.
- GHOSH, S.; KARIN, M. Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. **Cell**, v.109, p.S81-S96, 2002.
- GHOSH, S.; MAY, M.J.; KOPP, E.B. NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. **Annu. Rev. Immunol.**, v.16, p.225-260, 1998.
- GLABINSKI, A.R.; BIELECKI, B.; KOLODZIEJSKI, P.; HAN, Y.; SELMAJ, K.; RANSOHOFF, R.M. TNF-alpha microinjection upregulates chemokines and chemokine receptors in the central nervous system without inducing leukocyte infiltration. **J. Interferon Cytokine Res.**, v.23, p.457-466, 2003.
- GORDON, C.J. Thermal biology of the laboratory rat. **Physiol. Behav.**, v.47, p.963-991, 1990.
- GORDON, C.J.; PUCKETT, E.; PADNOS B. Rat tail skin temperature monitored noninvasively by radiotelemetry: characterization by examination of vasomotor responses to thermomodulatory agents. **J. Pharmacol. Toxicol. Methods**, v.47, p.107-114, 2002.

- GOURMALA, N.G.; LIMONTA, S.; BOCHELEN, D.; SAUTE, A.; BODDEKEH, W.G.M. Localization of macrophage inflammatory protein: Macrophage inflammatory protein-1 expression in rat brain after peripheral administration of lipopolysaccharide and focal cerebral ischemia. **Neuroscience**, v.88, p. 1255-1266, 1999.
- GUO, H.; JIN, Y.-X.; ISHIKAWA, M.; HUANG, Y.-M.; VAN DER MEIDE, P.H.; LINK, H.; XIAO, B.-G. Regulation of  $\beta$ -chemokine mRNA expression in adult rat astrocytes by lipopolysaccharide, proinflammatory and immunoregulatory cytokines. **Scand. J. Immunol.**, v.48, p.502-508, 1998.
- HARDEN, L.M.; DU PLESSIS, I.; POOLE, S.; LABURN, H.P. Interleukin (IL)-6 and IL-1 $\beta$  act synergistically within the brain to induce sickness behavior and fever in rats. **Brain, Behavior, and Immunity**, v.22, p.838-849, 2008.
- HARRE, E.M.; ROTH, J.; PEHL, U.; KUETH, M.; GERSTBERGER, R.; HUBSCHLE, T. Selected contribution: role of IL-6 in LPS-induced nuclear STAT3 translocation in sensory circumventricular organs during fever in rats. **J. Appl. Physiol.**, v.92, p.2657-2666, 2002.
- HEINRICH, P.C.; CASTELL, J.V.; ANDUS, T. Interleukin-6 and the acute phase response. **Biochem. J.**, v.265, p.621-636, 1990.
- HINZ, B.; CHEREMINA, O.; BRUNE, K. Acetaminophen (paracetamol) is a selective cyclooxygenase-2 inhibitor in man. **FASEB J.**, v.22, p.383-390, 2007.
- HOPKINS, S.J. Central nervous system recognition of peripheral inflammation: a neural, hormonal collaboration. **Acta Biomed.**, v.78, p.231-247, 2007.
- HORUK, R. Molecular properties of the chemokine receptor family. **Trends Pharmacol. Sci.**, v.5, p.159-165, 1994.
- JANEWAY, C.A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; SHLOMCHIK, M. *Imunobiologia - o sistema imune na saúde e na doença*. Editora ArtMed, 5ª Edição, Porto Alegre, 2002.
- JANG, S.B.; WON, J.; KIM, J.; LEE, K.H.; HAN, H.; RHA, H.K.; CHOI, C.R. TAK1 mediates lipopolysaccharide-induced RANTES promoter activation in BV-2 microglial cells. **Mol. Cells.**, v.1, p.35-42, 2002.
- JANSKY, L.; VYBÍRAL, S.; POSPÍSILOVÁ, D.; ROTH, J.; DORNAND, J.; ZEISBERGER, E.; KAMÍNKOVÁ, J. Production of systemic and hypothalamic cytokines during the early phase of endotoxin fever. **Neuroendocrinology**, v.62, p.55-61, 1995.

- JOHNSON, Z.; SCHWARZ, M.; POWER, C.A.; WELLS, T.N.; PROUDFOOT, A.E. Multi-faceted strategies to combat disease by interference with the chemokine system. **Trends Immunol.**, v.26 (5), p.268-274, 2005.
- JOSE, P.J.; ADCOCK, I.M.; GRIFFITHS-JOHNSON, D.A.; BERKMAN, N.; WELLS, T.N.; WILLIAMS, T.J.; POWER, C.A. Eotaxin: cloning of an eosinophil chemoattractant cytokine and increased mRNA expression in allergen-challenged guinea-pig lungs. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v.205 (1), p.788-794, 1994.
- KAPAS, L.; KRUEGER, J.M. Tumor necrosis factor-beta induces sleep, fever, and anorexia. **Am. J. Physiol.**, v.263, p.R703-R707, 1992.
- KAPP, A.; ZECK KAPP, G., CZSCH, W., SCHOPF E. "The chemokine RANTES is more than a chemoattractant: characterization of this effect on human eosinophil oxidative metabolism and morphology in comparison with IL-5 and GM-CSF. **J. Invest. Dermatol.**, v.102 (6), p.906-914, 1994.
- KELNER, G.S.; KENEDDY, J.; BACON, K.B.; KLEYENSTEUBER, S.; LARGAESPADA, D.A.; JENKINS, N.A.; COPELAND, N.G.; BAZAN, J.F.; MOORE, K.W.; SCHALL, T.J. Lymphotactin: a cytokine that represents a new class of chemokine. **Science**, v.266, p.1395-1399, 1994.
- KETTELHUT, I.C.; GOLDBERG, A.L. Tumor necrosis factor can induce fever in rats without activating protein breakdown in muscle or lipolysis in adipose tissue. **J. Clin. Invest.**, v.81, p.1384-1389, 1988.
- KIS, B.; SNIPES, J.A.; SIMANDLE, S.A.; BUSIJA, D.W. Acetaminophen-sensitive prostaglandin production in rat cerebral endothelial cells. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v.288 (4), p.R897-902, 2005.
- KLIR, J.J.; ROTH, J.; SZELÉNYI, Z.; McCLELLAN, J.L.; KLUGER, M.J. Role of hypothalamic interleukin-6 and tumor necrosis factor- $\alpha$  in LPS fever in rat. **Am. J. Physiol.**, v.265, p.R512-R517, 1993.
- KLUGER, M.J. Fever: role of pyrogens and cryogens. **Physiol. Rev.**, v.71 (1), p.93-127, 1991.
- KNORR, C.; HÜBSCHLE, T.; MURGOTT, J.; MÜHLRADT, P.; GERSTBERGER, R.; ROTH, J. Macrophage-activating lipopeptide-2 (MALP-2) induces a localized inflammatory response in rats resulting in activation of brain sites implicated in fever. **Brain Res.**, v.1205, p.36-46, 2008.

- KREMLEV, S.G.; ROBERTS, R.L.; PALMER, C. Differential expression of chemokines and chemokines receptors during microglial activation and inhibition. **Journal of Neuroimmunology**, v.149, p.1-9, 2004.
- LeFEUVRE, R.A.; ROTHWELL, N.J.; STOCK, M.J. Activation of brown fat thermogenesis in response to central injection of corticotrophin releasing hormone in the rat. **Neuropharmacology**, v.26 (8), p.1217-1221, 1987.
- LEITNER, J.M.; MAYR, F.B.; FIRBAS, C.; SPIEL, A.O.; STEINLECHNER, B.; NOVELLINI, R.; JILMA, B. Reparixin, a specific interleukin-8 inhibitor, has no effects on inflammation during endotoxemia. **Int. J. Immunopathol. Pharmacol.**, v.20, p.25-36, 2007.
- LeMAY, L.G.; OTTERNESS, I.G.; VANDER, A.J.; KLUGER, M.J. *In vivo* evidence that the rise in plasma IL 6 following injections of a fever-inducing dose of LPS is mediated by IL 1 $\beta$ . **Cytokine**, v.2, n.3, p.199-204, 1990a.
- LeMAY, L.G.; VANDER, A.J.; KLUGER, M.J. Role of interleukin 6 in fever in rats. **Am. J. Physiol.**, v.258, p.R798-R803, 1990.
- LI S, BALLOU LR, MORHAM SG, BLATTEIS CM. Cyclooxygenase-2 mediates the febrile response of mice to interleukin-1beta. **Brain Res.**, v.910, p.163-173, 2001.
- LI, S.; GOORHA, S.; BALLOU, L.R.; BLATTEIS, C.M. Intracerebroventricular interleukin-6, macrophage inflammatory protein-1 $\beta$  and IL-18: pyrogenic and PGE<sub>2</sub> mediated? **Brain. Res.**, v.992, p.76-84, 2003.
- LIM, L.H.K.; PERVAIZ, S. Annexin 1: the new face of an old molecule. **FASEB J.**, v.21, p.968-975, 2007.
- LONG, N.C.; OTTERNESS, I.; KUNKEL, S.L.; VANDER, A.J.; KLUGER, M.J. Roles of interleukin 1 $\beta$  and tumor necrosis factor in lipopolysaccharide fever in rats. **Am. J. Physiol.**, v.259, p.R724-R728, 1990.
- LUHESHI, G.; ROTHWELL, N. Cytokines and fever. **Int. Arch. Allergy Immunol.**, v.109, p.301-307, 1996.
- LUHESHI, G.N.; STEFFERL, A.; TURNBULL, A.V.; DASCOMBE, M.J.; BROUWER, S.; HOPKINS, S.; ROTHWELL, N.J. Febrile response to tissue inflammation involves both peripheral and brain IL-1 and TNF- $\alpha$  in the rat. **Am. J. Physiol.**, v.272, p.R862-R868, 1997.
- LUSTER, A.D. Chemokines-chemotactic cytokines that mediate inflammation. **N. Engl. J. Med.**, v.338, p.436-445, 1998.

- MACHADO, R.R. Participação da quimiocina RANTES na resposta febril induzida pelo LPS em ratos. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2005.
- MACHADO, R.R.; SOARES, D.M.; PROUDFOOT, A.E.; SOUZA, G.E.P. CCR1 and CCR5 chemokine receptors are involved in fever induced by LPS (*E. coli*) and RANTES in rats. **Brain Research**, v.1161, p.21-31, 2007.
- MARNETT, L.J. The COXIB Experience: A Look in the Rear-View Mirror. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v.49, p.265-290, 2008.
- MASCARUCCI, P.; PEREGO, C.; TERRAZZINO, S.; DE SIMONI, M. G. Glutamate release in the nucleus tractus solitarius induced by peripheral Lipopolysaccharide and Interleukin-1 $\beta$ . **Neuroscience**, v.86, p.1285-1290, 1998.
- MASFERRER, J.L.; REDDY, S.T.; ZWEIFEL, B.; SEIBERT, K.; NEEDLEMAN, P. GILBERT, R.S.; HERSCHMAN, H.R. *In vivo* glucocorticoids regulate cyclooxygenase-2 but not cyclooxygenase-1 in peritoneal macrophages. **J. Pharmacol. Exper. Therap.**, v.270 (3), p.1340-1344, 1994.
- MELO SOARES, D.; HIRATSUKA VEIGA-SOUZA, F.; SUELI COELHO FABRICIO, A.; JAVIER MINANO, F.; PETTO SOUZA, G.E. CCL3/Macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$  induces fever and increases prostaglandin E(2) in cerebrospinal fluid of rats: Effect of antipyretic drugs. **Brain Res.**, v.1109, p.83-92, 2006.
- MILLER, A.J.; LUHESHI, G.N.; ROTHWELL, N.J.; HOPKINS, S.J. Local cytokine induction by LPS in the rat air pouch and its relationship to the febrile response. **Am. J. Physiol.**, v.272, p.R857-861, 1997.
- MILTON, A.S. Thermoregulatory actions of eicosanoids in the central nervous system with particular regard to the pathogenesis of fever. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v.559, p.392-410, 1989.
- MIÑANO, F.J.; FERNANDES-ALONSO A.; BENAMAR, K.; MYERS, R.D.; SANCIBRIAN, M.; RUIZ, R.M.; ARMENGOL, J. A. Macrophage inflammatory protein-1 $\beta$  (MIP-1 $\beta$ ) produced endogenously in rat brain during *E. coli* fever in rats. **Eur. J. Neurosci.**, v.8, p. 424-428, 1996.
- MIÑANO, F.J.; SANCIBRIAN, M.; VISZCAINO, M.; PAEZ, X.; DAVATELIS, G.; FAHEY, T.; SHERRY, B.; CERAMI, A.; MYERS, R.D. Macrophage inflammatory protein-1: unique action on the hypothalamus to evoke fever. **Brain Res. Bull.**, v.24, p.849-852, 1990.

- MOHAN RAO, P.J.R.; BHATTACHARYA, S.K. Hyperthermic effect of centrally administered bradykinin in the rat: role of prostaglandins and serotonin. **J. Int. Hyperthermia**, v.4, p.183-189, 1988.
- MORIMOTO, A.; MORIMOTO, K.; WATANABE, T.; SAKATA, Y.; MURAKAMI, N. Does an increase in prostaglandin E2 in the blood circulation contribute to a febrile response in rabbits? **Brain Res. Bull.**, v.29 (2), p.189-192, 1992.
- MORIMOTO, A.; SAKATA, Y.; WATANABE, T.; MURAKAMI, N. Characteristics of fever and acute-phase response induced in rabbits by IL-1 and TNF. **Am. J. Physiol.**, v.256, p.R35-R41, 1989.
- MÜLLER, J.M.; ZIEGLER-HEITBROCK, H.W.; BAUERLE, P.A. Nuclear factor kappa B, a mediator of lipopolysaccharide effects. **Immunobiology**, v.187, p.233-256, 1993.
- MURAMAMI, N.; FUKATA, J.; TSUKADA, T.; KOBAYASHY, H.; EBISUI, O.; SEGAWA, H.; MURO, S.; IMURA, H.; NAKAO, K. Bacterial lipopolysaccharide-induced expression of interleukin-6 messenger ribonucleic acid in the rat hypothalamus, pituitary, adrenal gland, and spleen. **Endocrinology**, v.133, p.2574-2578, 1993.
- MURPHY, K.A. Acetaminophen and ibuprofen: Fever control and overdose. **Pediatric Nursing**, v.18 (4), p.428-431, 1992.
- MURPHY, P.M. International Union of Pharmacology. XXX. Update on chemokine receptor nomenclature. **Pharmacol. Rev.**, v.54 (2), p.227-229, 2002.
- NAKANO, T.; OHARA, O.; TERAOKA, H.; ARITA, H. Glucocorticoids suppress group II phospholipase A<sub>2</sub> production by blocking mRNA synthesis and post-transcriptional expression. **J. Biol. Chem.**, v.265 (21), p.12745-12748, 1990.
- NANKI, T.; NAGASAKA, K.; HAYASHIDA, K.; SAITA, Y.; MIYASAKA, N. Chemokines regulate IL-6 and IL-8 production by fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis. **J. Immunology**, v.167, p.5381-5385, 2001.
- NAVARRA, P.; TSAGARAKIS, S.; FARIA, M.S.; REES, L.H.; BESSER, G.M.; GROSSMAN, A.B. Interleukins-1 and -6 stimulate the release of corticotropin-releasing hormone-41 from rat hypothalamus *in vitro* via the eicosanoid cyclooxygenase pathway. **Endocrinology**, v.128, p.37-44, 1991.
- NEWTON, R. Molecular mechanisms of glucocorticoid action: what is important? **Thorax**, v.55, p.603-613, 2000.

- OGURA, N.; TOBE, M.; SAKAMAKI, H.; NAGURA, H.; ABIKO, Y.; KONDOH, T. Tumor necrosis factor- $\alpha$  increases chemokine gene expression and production in synovial fibroblasts from human temporomandibular joint. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 34, p.357-363, 2005.
- OGURA, N.; TOBE, M.; SAKAMAKI, H.; NAGURA, H.; HOSAKA, H.; AKIBA, M.; ABIKO, Y.; KONDOH, T. Interleukin-1 $\beta$  increases RANTES gene expression and production in synovial fibroblasts from human temporomandibular joint. **J. Oral Pathol. Med.**, v.33, p.629-633, 2004.
- OKA, Y.; IBUKI, T.; MATSUMURA, K.; NAMBA, M.; YAMAZAKI, Y.; POOLE, S.; TANAKA, Y.; KOBAYASHI, S. Interleukin-6 is a candidate molecule that transmits inflammatory information to the CNS. **Neuroscience**, v.145, p.530-538, 2007.
- ONUFFER, J.J.; HORUK, R. Chemokines, chemokine receptors and small-molecule antagonists: recent developments. **Trends Pharmacol. Sci.**, v.23 (10), p.459-467, 2002.
- OPPENHEIN, J.J.; ZACHARIE, C.O.C.; MUKAIDA, N.; MATSUSHIMA, K. Properties of the novel proinflammatory supergene intercrine cytokine family. **Annu. Rev. Immunol.**, v.9, p.617-648, 1991.
- PAXINOS, G; WATSON, C. The rat brain in stereotaxic coordinates, Academic Press, New York, 1997.
- PETERING, H.; HOCHSTETTER, R.; KIMMIG, D.; SMOLARSKI, R.; KAPP, A.; ELSNER, J. Detection of MCP-4 in dermal fibroblasts and its activation of the respiratory burst in human eosinophils. **J. Immunol.**, v.160 (2), p.555-558, 1998.
- PROUDFOOT, A.E. Chemokine receptors: multifaceted therapeutic targets. **Nat. Rev. Immunol.**, v.2, p.106-115, 2002.
- PROUDFOOT, A.E.I.; POWER, C.A.; HOOGEWERF, A.J.; MONTJOVENT. M.O.; BORLAT, F.; OFFROD, R.E. Extension of recombinant human RANTES by the retention of the initiating methionine produces a potent antagonist. **J. Biol. Chem.**, v.271 (5), p.2599-2603, 1996.
- RANELS HJ, GRIFFIN JD. Effects of prostaglandin E2 on the electrical properties of thermally classified neurons in the ventromedial preoptic area of the rat hypothalamus. **BMC Neurosci.**, v.6 (1), p.14, 2005.
- RANELS HJ, GRIFFIN JD. The effects of prostaglandin E2 on the firing rate activity of thermosensitive and temperature insensitive neurons in the ventromedial preoptic area of the rat hypothalamus. **Brain Res.**, v.964 (1), p.42-50, 2003.

- RONG, Y.; BAUDRY, M. Seizure activity results in a rapid induction of nuclear factor-kappa B in adult but not juvenile rat limbic structures. **J. Neurochem.** v.67, p.662-668, 1996.
- ROSS, G.; HUBSCHLE, T.; PEHL, U.; BRAUN, H.-A.; VOIGT, K., GERSTBERGER, R.; ROTH, J. Fever induction by localized subcutaneous inflammation in guinea pigs: the role of cytokines and prostaglandins. **J. Appl. Physiol.**, v.94, p.1395-1402, 2003.
- ROTH, J.; CONN, C.A.; KLUGER, M.J.; ZEISBERGER, E. Kinetics of systemic and intrahypothalamic IL-6 and tumor necrosis factor during endotoxin fever in guinea pigs. **Am. J. Physiol.**, v.265, p.R653-R638, 1993.
- ROTH, J.; De SOUZA, G.E. Fever induction pathways: evidence from responses to systemic or local cytokine formation. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.34, p.301-314, 2001.
- ROTH, J.; RUMMEL, C.; BARTH, S.W.; GERSTBERGER, R.; HUBSCHLE, T. Molecular aspects of fever and hyperthermia. **Neurol. Clin.**, v.24, p.421-439, 2006.
- ROTHWELL, N.J. CRF is involved in the pyrogenic and thermogenic effects of interleukin 1 beta in the rat. **Am. J. Physiol.**, v.256 (1 Pt 1), E111-115, 1989.
- ROTHWELL, N.J.; BUSBRIDGE, N.J.; LEFEUVRE, R.A.; HARDWICK, A.J.; GAULDIE, J.; HOPKINS, S.J. Interleukin-6 is a centrally acting endogenous pyrogen in the rat. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v.69, p.1465-1470, 1991.
- ROTHWELL, N.J.; HARDWICK, A.J.; LINDLEY, I. Central actions of interleukin-8 in the rat are independent on prostaglandins. **Horm. Metab. Res.**, v.22 (11), p.595-596, 1990.
- RUMMEL, C.; BARTH, S.W.; VOSS, T.; KORTE, S.; GERSTBERGER, R.; HUBSCHLE, T.; ROTH, J. Localized vs. systemic inflammation in guinea pigs: a role for prostaglandins at distinct points of the fever induction pathways? **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v.289, p.R340-R347, 2005.
- RUMMEL, C.; SACHOT, C.; POOLE, S.; LUHESHI, G.N. Circulating interleukin-6 induces fever through a STAT3-linked activation of COX-2 in the brain. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v.291, p.R1316-1326, 2006.
- SANTOS, D.R. Evidências da participação cininérgica no desenvolvimento da resposta febril em ratos. Tese apresentada ao Departamento de Farmacologia da

- Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2002.
- SCAMMELL, T.E.; GRIFFIN, J.D.; ELMQUIST, J.K.; SAPER, C.B. Microinjection of cyclooxygenase inhibitor into the anteroventral preoptic region attenuates LPS fever. **Am. J. Physiol.**, v.274, p.R783-R789, 1998.
- SCHÖBITZ, B.; KLOET, E.R.; HOLSBOER, F. Gene expression and function of interleukin 1, interleukin 6 and tumor necrosis factor in the brain. **Prog. Neurobiol.**, v.44, p.397-432, 1994.
- SHIRATO, K.; KIMURA, T.; MIZUTANI, T.; KARIWA, H.; TAKASHIMA, I. Different chemokine expression in lethal and non-lethal murine west nile vírus infection. **J. Medical Virology**, v.74, p.507-513, 2004.
- SIMPSON, J.E.; REZAIIE, P.; NEWCOMBE, J.; CUZNER, M.L.; MALE, D.; WOODROOFE, M.N. Expression of the beta-chemokine receptors CCR2, CCR3 and CCR5 in multiple sclerosis central nervous system tissue. **Journal of Neuroimmunology.**, v.108, p.192-200, 2000.
- SMITH, B.K. & KLUGER, M.J. Human IL-1 receptor antagonist partially suppresses LPS fever but not plasma levels of IL-6 in Fischer rats. **Am. J. Physiol.**, v.263, p. R653-R655, 1992.
- SOARES, D.; MACHADO, R.R.; YAMASHIRO, L.H.; MELO, M.C.C.; SOUZA, G.E.P. Cytokine-induced neutrophil chemoattractant (CINC)-1 induces fever by a prostaglandin dependent mechanism in rats. **Brain Res.**, v.1233, p.79-88, 2008.
- SOUZA, G.E.P.; CARDOSO, R.A.; MELO, M.C.C.; FABRICIO, A.S.C.; SILVA, V.M.S.; LORA, M.; DE BRUM-FERNANDES, A.J.; FERREIRA, S.H.; ZAMPONIO, A.R. Comparative study of antipyretic profiles of indometacin and dipyron in rats. **Inflam. Res.**, v.51, p.24-32, 2002.
- STITT, J.T. Prostaglandin E<sub>1</sub> fever induced in rabbits. **J. Physiol. Lond.**, v.232, p.163-179, 1973.
- STRIJBOS, P.J.; HARDWICK, A.J.; RELTON, J.K.; CAREY, F.; ROTHWELL, N.J. Inhibition of central actions of cytokines on fever and thermogenesis by lipocortin-1 involves CRF. **Am. J. Physiol.**, v.263, p.E632-636, 1992.
- TAKADA, Y.; BHARDWAJ, A.; POTDAR, P.; AGGARWAL, B.B. Nonsteroidal anti-inflammatory agents differ in their ability to suppress NF- $\kappa$ B activation, inhibition of expression of cyclooxygenase-2 and cyclin D1, and abrogation of tumor cell proliferation. **Oncogene**, v.23, p.9247-9258, 2004.

- TAKAHASHI, S.; KAPAS, L.; KRUEGER, J.M. A tumor necrosis factor (TNF) receptor fragment attenuates TNF-alpha- and muramyl dipeptide-induced sleep and fever in rabbits. **J. Sleep Res.**, v.5, p.106-114, 1996.
- TANIGUCHI, Y.; YOKOYAMA, K.; INUI, K.; DEGUCHI, Y.; FURUKAWA, K.; NODA, K. Inhibition of brain cyclooxygenase-2 activity and the antipyretic action of nimesulide. **Eur. J. Pharmacol.**, v.330, p.221-229, 1997.
- TAVARES, E. & MIÑANO, F.J. Differential sensitivities of pyrogenic chemokine fevers to cyclooxygenase isozymes antibodies. **Brain Res. Bull.**, v.59 (3), p.181-187, 2002.
- TAVARES, E. & MIÑANO, F.J. Differential sensitivities of pyrogenic chemokine fevers to CC chemokine receptor 5 antibodies. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v.18, p.163-169, 2004.
- TAVARES, E. & MIÑANO, F.J. RANTES: a new prostaglandin dependent endogenous pyrogen in the rat. **Neuropharmacology**, v.39 (12), p.2505-2513, 2000.
- TERASHIMA, T.; ENGLISH, D.; HOGG, J.C.; VAN EEDEN, S.F. Release of polymorphonuclear leukocytes from the bone marrow by interleukin-8. **Blood**, v.92, p.1062-1069, 1998.
- UBOGU, E.E.; COSSOY, M.B.; RANSOHOFF, R.M. The expression and function of chemokines involved in CNS inflammation. **Trends Pharmacol. Sci.**, v.27 (1), p.48-55, 2006.
- ULICH, T.R.; DEL CASTILLO, J.; KEYS, M.; GRANGER, G.A.; NI, R.X. Kinetics and mechanisms of recombinant human interleukin 1 and tumor necrosis factor-alpha-induced changes in circulating numbers of neutrophils and lymphocytes. **J. Immunol.**, v.139, p.3406-3415, 1987.
- VANE, J.R.; BOTTING, R.M. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. **Inflamm. Res.**, v.47, p.S78-S87, 1998.
- WARNER, T.D.; GIULIANO, F.; VOJNOVIC, I.; BUKASA, A.; MITCHELL, J.A.; VANE, J.R. Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full in vitro analysis. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.96, p.7563-7568, 1999.
- WATANABE, M. Characteristics of TNF alpha- and TNF beta-induced fever in rabbit. **Jpn. J. Physiol.**, v.42, p.101-116, 1992.

- WELLS, T. N.; POWER, C.A. SHAW, J.P.; PROUDFOOT, A.E. chemokine blockers-therapeutics in the making? **Trends Pharmacol. Sci.**, v.27, p.41-47, 2006.
- YANAGISAWA, M.; KURIHARA, H.; KIMURA, S.; TOMOBE, Y.; KOBAYASHI, M.; MITSUI, Y.; YASAKI, Y.; GOTO, K.; MASAKI, T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. **Nature**, v.332, p.441-445, 1988.
- ZAMPRONIO, A.R.; HOADLEY, M.E.; LUHESHI, G.; ROTHWELL, N.J.; SOUZA, G.E.P.; HOPKINS, S.J. Interleukin (IL)-6 release and fever induced by pre-formed pyrogenic factor (PFPF) derived from LPS-stimulated macrophages. **Eur. Cytokine Netw.**, v.11, p.589-596, 2000a.
- ZAMPRONIO, A.R.; MELO, M.C.C.; HOPKINS, S.J.; SOUZA, G.E.P. Involvement of CRH in fever induced by a distinct pre-formed pyrogenic factor. **Inflamm. Res.**, v.49, p.1-7, 2000.
- ZAMPRONIO, A.R.; MELO, M.C.C.; SILVA, C.A.A.; PELÁ, I.R.; HOPKINS, S.J.; SOUZA, G.E.P. A pre-formed pyrogen factor released by lipopolysaccharide stimulated macrophages. **Med. Inflamm.**, v.3, p.365-373, 1994.
- ZAMPRONIO, A.R.; SOUZA, G.E.P.; SILVA, C.A.A.; CUNHA, F.Q.; FERREIRA, S.H. Interleukin-8 induces fever by a prostaglandin-independent mechanism. **Am. J. Physiol.**, v.266, p.R1670-1674, 1994a.
- ZEISBERGER, E. From humoral fever to neuroimmunological control of fever. **J. Thermal Biol.**, v.24, p.287-326, 1999.