

JUSSARA GONÇALVES FERNANDES

**ANÁLISE COMPARATIVA DOS PROCESSOS INFLAMATÓRIOS
AGUDO E CRÔNICO NO TECIDO SUBCUTÂNEO E
EXSUDATO EM CAMUNDONGOS SELECIONADOS PARA
MÁXIMA OU MÍNIMA INFLAMAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Imunologia

Orientador: Prof. Dr. Marcelo de Franco

Versão original

São Paulo
2012

RESUMO

FERNANDES, J. G. **Análise comparativa dos processos inflamatórios agudo e crônico no tecido subcutâneo e exsudato em camundongos selecionados para máxima ou mínima inflamação.** 2012. 87 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Linhagens de camundongos AIRmax e AIRmin diferem quanto a reatividade inflamatória aguda às partículas de Biogel. Essas linhagens foram desenvolvidas com o intuito de identificar os genes que afetam a intensidade da resposta inflamatória aguda (AIR) e compreender os mecanismos celulares e moleculares da inflamação. A AIR divergente nessas linhagens está bem estabelecida, no entanto, diferenças na resposta inflamatória tardia ou crônica ao Biogel ainda não foram descritas. Dessa forma, no presente trabalho nós decidimos avaliar se o processo de seleção que modificou a resposta inflamatória aguda nessas linhagens, também afetou o desenvolvimento da resposta inflamatória crônica. Foi verificado que a infiltração de células no exsudado da linhagem AIRmax foi significativamente maior que na linhagem AIRmin em ambos os períodos avaliados (48 h e 30 dias), e que no período de 48 horas, os camundongos AIRmax também apresentaram alta produção de algumas citocinas no exsudato inflamatório. O perfil de expressão gênica global do tecido subcutâneo mostrou maior número de genes ativados nos AIRmax envolvidos na transdução de sinal, resposta imune e inflamatória do que em camundongos AIRmin. Além disso, esses dados mostraram que alguns desses genes diferentemente expressos, estão localizados na região do locus *Irm1*, um QTL previamente mapeado que mostrou estar envolvido com a regulação da intensidade da AIR. Alguns genes envolvidos com a resposta inflamatória aguda, também apresentaram diferenças após 30 dias. Os nossos resultados indicam que o processo de seleção para a resposta inflamatória aguda pode ter afetado também o desenvolvimento da resposta inflamatória crônica ao agente selecionador das linhagens. Dessa forma o presente trabalho contribui na identificação de fatores genéticos que controlam tanto a intensidade da resposta inflamatória aguda como a intensidade da resposta inflamatória crônica.

Palavras-chave: Inflamação. Camundongos. Expressão gênica. Citocinas. Fenótipo. Genes.

ABSTRACT

FERNANDES, J. G. **Comparative analysis of acute and chronic inflammatory processes of the subcutaneous tissue and exudate in mice genetically selected for maximal or minimal inflammation.** 2012. 87 p. Masters thesis (Immunology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

AIRmax and AIRmin mouse lines differ in terms of acute inflammatory response after Biogel injection. These lines were developed in order to identify genes that affect the acute inflammatory response intensity (AIR) and to understand their cellular and molecular roles. The distinct AIR in these lines is well established, however, differences in late or chronic inflammatory response to Biogel were not described yet. Thus, in the present work we decided to check if the genetic selection that modified the acute inflammatory response in these lines, also affected the development of a chronic inflammatory response to Biogel. We found that AIRmax mice had statistically higher cellular influx in the inflammatory exudate than AIRmin mice in both analyzed periods (48 h and 30 days) and that after 48 hours of Biogel injection, AIRmax mice showed higher cytokine levels in inflammatory exudate, probably contributing to the cellular influx profile in these lines. The global gene expression analysis in sc tissue showed higher number of up-regulated genes in AIRmax than in AIRmin mice involved with inflammatory response, immune response and signal transduction. Furthermore, these results showed that some of the differentially expressed genes are located in *Irm1* locus region, a previously mapped QTL shown to be involved in AIR regulation. Some acute inflammatory response genes, besides being differentially expressed between the lines 48 hours after stimulus, also showed differences on day 30. Our results indicate that the genetic selection for acute inflammatory response may also have affected the chronic inflammatory response to Biogel. In this way, this work contributes to identify genetic factors controlling not only the acute inflammatory response intensity, but the chronic inflammatory response as well.

Key words: Inflammation. Mice. Gene expression. Cytokines. Phenotype. Genes.

1 INTRODUÇÃO

A resposta inflamatória tem um papel importante na defesa do organismo e é a primeira linha de defesa que protege o hospedeiro contra a contaminação microbiana e lesão tecidual visando restaurar a homeostasia e integridade do tecido. Apesar de a resposta inflamatória ser essencial e inicialmente benéfica para o hospedeiro, uma resposta desenvolvida inadequadamente, pode muitas vezes ser prejudicial (MEDZHITOV, 2008; PERRETI, 1997).

Os sinais clássicos da resposta inflamatória são descritos como rubor, calor, edema, dor e perda de função. Esses sinais são decorrentes de alterações nos vasos sanguíneos como a contração da musculatura lisa endotelial, vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular levando a um conseqüente extravasamento de fluido rico em proteínas para o tecido, seguido de infiltração celular (NATHAN, 2002; RYAN; MAJNO, 1977; SERHAN, 2004).

Um dos maiores estimuladores da inflamação é a infecção, que pode ser causada por uma série de microrganismos patogênicos como vírus, bactérias e fungos. Além disso, a inflamação também pode ser desencadeada por uma variedade de estímulos estéreis ou não infecciosos, como produtos químicos, toxinas, isquemia e reperfusão, trauma, corpos estranhos, entre outros, sendo que estes podem ser classificados como agentes irritantes, injuriosos ou antigênicos (CHEN; NUÑEZ, 2010; ROCK et al., 2010).

Assim como a inflamação induzida por agentes microbianos, a inflamação estéril é caracterizada principalmente pela infiltração de neutrófilos e macrófagos e produção de quimiocinas e citocinas tais como TNF- α , IL-1 β e IL-6 (CHEN; NUÑEZ, 2010). Apesar de as respostas inflamatórias infecciosas e não infecciosas serem muito semelhantes e levarem às mesmas manifestações vasculares e celulares, os eventos iniciais podem ser muito diferentes (MEDZHITOV, 2010; ROCK et al., 2010).

Os receptores de reconhecimento padrão (PRRs) como os receptores semelhantes a Toll e receptores do tipo NOD (NLR) são descritos por participarem da defesa imune inata contra agentes microbianos, reconhecendo estruturas comuns e invariáveis entre patógenos, como ácidos nucleicos e lipídios, chamados de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) (MARTINON; MAYOR; TSCHOPP, 2009; MEDZHITOV; JANEWAY, 2000). Embora esses receptores sejam

descritos por reconhecerem principalmente um estímulo exógeno microbiano, estudos têm demonstrado que os PRRs também podem reconhecer componentes da inflamação estéril liberados durante uma injúria tecidual. Esses componentes são chamados de DAMPs (padrões moleculares associados ao dano) e eles têm função similar aos PAMPs em termos de ativação da sinalização pró-inflamatória (CHEN; NUÑEZ, 2010; JIANG et al., 2005).

DAMPs são normalmente fatores endógenos que são mantidos dentro das células, portanto protegidos do reconhecimento de receptores de células imunes em condições normais. Em condições de injúria tecidual, essas moléculas são liberadas no espaço extravascular por células mortas e, portanto podem ser reconhecidas por tais receptores (CHEN; NUÑEZ, 2010). Algumas moléculas endógenas liberadas de células necróticas têm sido descritas por se ligarem a receptores semelhantes a Toll como proteínas HSPs, HMBG1, ácido úrico e nucleotídeos endógenos, assim como componentes da matriz extracelular como o ácido hialurônico, sulfato de heparan e proteoglicanos. Assim, a morte celular necrótica também é um mecanismo que pode desencadear uma inflamação estéril (CHEN; NUÑEZ, 2010; JIANG et al., 2005).

A presença de partículas estranhas dentro do tecido, que não podem ser eliminadas nem fagocitadas por macrófagos, por serem muitas vezes grandes ou resistentes à remoção, também podem iniciar uma resposta inflamatória não infecciosa, que é comumente designada como resposta a um corpo estranho. O grau de extensão dessa resposta vai depender das propriedades da substância em questão como composição, duração de contato, índice de degradação, morfologia, porosidade, forma, entre outros (MEDZHITOV, 2008; MORAIS; PAPADIMITRAKOPOULOS; BURGESS, 2010).

A persistência dessas partículas como, por exemplo, no caso da implantação de biomateriais ou a penetração de partículas estranhas no organismo por diferentes vias como injeções ou feridas, pode estimular constantemente a inflamação e a difícil remoção e eliminação desses agentes pelas células imunes, pode então levar a uma inflamação crônica, com conseqüente formação de granulomas (MORAIS; PAPADIMITRAKOPOULOS; BURGESS, 2010). Caso essas substâncias sejam muito grandes para sofrerem fagocitose pelos macrófagos, estes se unem para formar células gigantes e multinucleadas na tentativa de encapsular e “imobilizar” o agente causador do dano (MEDZHITOV, 2008). Um exemplo disso pôde ser

observado no trabalho de Higgins et al. (2009), onde a implantação subcutânea de uma tira de náilon estéril induziu uma forte resposta a corpo estranho com a presença de células gigantes multinucleadas de origem macrofágica, ao redor do implante.

1.1 RECRUTAMENTO E ATIVAÇÃO DE CÉLULAS IMUNES

Os primeiros passos no recrutamento de neutrófilos para o sítio de injúria de inflamação estéril são: a detecção de sinais de perigo (DAMPs), produção de mediadores inflamatórios e a adesão de neutrófilos aos vasos sanguíneos (MCDONALD; KUBES, 2011). Células sentinelas, como macrófagos residentes do tecido e mastócitos têm sido descritos como células importantes para detecção de sinais de perigo, produção de uma variedade de mediadores inflamatórios como citocinas, aminas vasoativas e eicosanoides, e recrutamento de neutrófilos para o sítio de injúria em vários modelos de inflamação estéril (MCDONALD; KUBES, 2011; MEDZHITOV, 2008). O próprio endotélio é capaz de agir como célula sentinela e expressar alguns receptores de várias classes de DAMPs que são capazes de iniciar uma resposta neutrofílica. A ativação de células sentinelas do tecido leva também à produção de grandes quantidades de quimiocinas. As quimiocinas são secretadas principalmente em resposta a estímulos pró-inflamatórios, e sua principal função é regular o tráfico celular, como o de monócitos, neutrófilos e linfócitos (DESHMANE et al., 2009). Duas importantes quimiocinas que participam das respostas inflamatórias agudas neutrofílicas são as quimiocinas CXCL1 (KC) e CXCL2 (MIP-2) (MCDONALD; KUBES, 2011). CXCL2 e CXCL1 são quimiocinas da família CXC que são conhecidas por exercerem suas ações quimiotáticas principalmente em neutrófilos. Ambas se ligam ao receptor murino CXCR2 que é altamente expresso em granulócitos. A expressão de seus mRNAs pode ser detectada em resposta a estímulos microbianos, LPS e a algumas citocinas como IL-1 β e TNF- α . Podem ser produzidas por macrófagos, e outros tipos celulares, mas os neutrófilos têm sido demonstrados como o maior produtor de CXCL2. Essas células mostraram-se capazes de aumentar a expressão desta quimiocina em resposta a mediadores inflamatórios (ARMSTRONG et al., 2004; MATZER et al., 2001; ROCHE et al., 2007).

Para alcançar o espaço extravascular em direção ao tecido lesado, os leucócitos passam por processos sequenciais e seletivos dependentes da expressão de moléculas de adesão tais como selectinas, integrinas e moléculas de adesão da família das imunoglobulinas (Ig) (MOGENSEN, 2009). Nas vênulas pós-capilares dos tecidos inflamados, as selectinas presentes nas células endoteliais (E- P-selectinas), interagem com ligantes presentes nos leucócitos (L-selectina), fazendo com que essas células trafeguem em menor velocidade e rolem sobre o endotélio (LANGER; CHAVAKIS, 2009). Esse rolamento faz com que os leucócitos interajam com quimiocinas liberadas e ancoradas na superfície do endotélio e essa interação leva a uma mudança na conformação das integrinas ICAMs e VCAM-1 que por sua vez, aumentam sua afinidade pelos seus ligantes presentes nos leucócitos LFA-1 (ITGAL/ ITGB2), Mac-1 (ITGAM/ ITGB2) e VLA-4, resultando na firme adesão e apreensão dessas células ao endotélio. Após adesão, os leucócitos espraíam sobre a superfície endotelial e finalmente deixam os vasos através da interação com moléculas da família das imunoglobulinas como PECAM-1 e JAM-A (COUSSENS; WERB, 2002; LEY et al., 2007; LUSTER; ALON; ANDRIAN, 2005). A expressão das moléculas ICAM-1 e VCAM-1 pode ser induzida pela ação de algumas citocinas como o TNF- α e IL-1 β (DINARELLO, 2009; SUMAGIN; LOMAKINA; SARELIUS, 2008; TRACEY et al., 2008).

A matriz extracelular (ECM) também tem influência no comportamento celular do tecido inflamado. Ensaio *in vitro* têm demonstrado que metaloproteinasas (MMPs) podem clivar uma grande quantidade de substratos e isso nos leva a acreditar que estas podem degradar substratos da ECM para permitir a passagem de células infiltrantes (SOROKIN, 2010).

As MMPs são endoproteases primeiramente conhecidas por degradar componentes de matriz extracelular participando de processos de remodelação, como morfogênese, reparo tecidual e angiogênese, mas recentes pesquisas demonstram suas atividades de uma forma mais ampla, implicando-as com participação no processo inflamatório e na progressão de tumores. Sua expressão é regulada por fatores como citocinas pró-inflamatórias, fatores de crescimento e hormônios e não está expressa em tecidos saudáveis (HINSBERGH; KOOLWIJK, 2008; LINT; LIBERT, 2006; MURPHY; NAGASE, 2008). A relação das MMPs com o processo inflamatório tem sido largamente estudada e esses estudos mostram a

ação dessas proteases no controle da atividade de várias quimiocinas e citocinas, e no rompimento das junções aderentes entre as células influenciando no processo de migração celular (PARKS; WILSON; LOPEZ-BOADO, 2004).

Quando os leucócitos atingem o tecido injuriado, eles se tornam ativados, seja por contato com microrganismos ou por ação de citocinas secretadas pelas células residentes. A produção de espécies reativas do oxigênio (ROS) e nitrogênio (RNS), proteases e fatores de crescimento por neutrófilos e macrófagos no local da lesão, levam à destruição tecidual, assim como a proliferação de fibroblastos, que leva a uma aumentada produção de colágeno e consequente fibrose (CHEN; NUÑEZ, 2010; MEDZHITOV, 2008).

A inflamação estéril pode ser mais maléfica do que benéfica por que o mecanismo estimulante pode não ser danoso e assim sendo, fica difícil avaliar se a resposta está sendo útil ou não. As partículas estéreis, por exemplo, na maioria das vezes não são prejudiciais e em sua maioria a resposta inflamatória falha em eliminá-las. Nesse caso a resposta imune é estimulada de forma não adequada e a inflamação consequente pode causar danos colaterais graves ao hospedeiro como doenças agudas e dano tecidual. Se não resolvida, pode ainda desencadear resposta inflamatória crônica com dano tecidual grave e fibrose, e consequente desenvolvimento de diversos tipos de doenças (ROCK et al., 2010).

1.2 CITOCINAS NO INÍCIO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA

A IL-1 β é conhecida por ser uma importante citocina pró-inflamatória e sua produção é em parte, dependente de um complexo multiprotéico denominado de inflamassoma. Existem vários tipos de inflamassomas e estes são identificados de acordo com o PRR contido nele. Um dos inflamassomas que tem sido descrito por reconhecer componentes não microbianos da inflamação é o NLRP3 ou NALP3. Em uma de suas vias, a ativação de NALP3 leva à ativação da caspase 1, que por sua vez cliva a pro-interleucina IL-1 β em sua forma biologicamente ativa (CHEN; NUÑEZ, 2010). Sua função principal é regular resposta de fase aguda ao dano tecidual, seja por agentes infecciosos ou não infecciosos. Junto com o TNF- α , são considerados os maiores mediadores das respostas inflamatórias (WEBER; WASILIEW; KRACHT, 2010).

Inúmeros estudos têm demonstrado um papel importante para a citocina IL-1 β na geração de uma resposta inflamatória neutrofílica a diversas partículas estéreis e à morte celular. Um exemplo desses estudos mostrou que a neutralização de IL-1 β com anticorpos inibiu a resposta inflamatória neutrofílica em camundongos à morte celular e a cristais de urato monossódio (ROCK et al., 2010).

As citocinas TNF- α e IL-6 também têm papel importante no início da resposta. O TNF- α pode ser expresso tanto na membrana celular como na forma solúvel. Pode ser produzido por inúmeras células e é extremamente importante para diferenciação, proliferação e sobrevivência de células imunes. O TNF- α liga-se a dois tipos de receptores, o TNFR1 e o TNFR2 (TRACEY et al., 2008; WALLIS, 2008). O primeiro está expresso em quase todas as células do organismo e o segundo, é mais comumente encontrado em células do sistema hematopoiético. Os efeitos da ligação do TNF- α ao seu receptor podem levar à ativação do fator de transcrição NF κ B1, que controla um grande número de genes inflamatórios, ou à apoptose dependendo do estado metabólico da célula. A produção de TNF- α por macrófagos pode ser induzida por uma série de estímulos como bactérias, vírus, complexos imunes, citocinas, traumas entre outros (BALKWILL, 2009; TRACEY et al., 2008). Esse agente é considerado um dos maiores indutores da inflamação, por entre outras funções, estimular a síntese de outras citocinas responsáveis pela cascata pró-inflamatória (PARAMESWARAN; PATIAL, 2010).

A IL-6 é uma citocina pleiotrópica, podendo ter ação pró ou anti-inflamatória. É produzida por macrófagos, fibroblastos e células endoteliais de tecidos inflamados sendo induzida principalmente por LPS, IL-1 β , TNF- α e alguns interferons. É um mediador importante no estímulo de proteínas de fase aguda e por atuar na transição do recrutamento de neutrófilos para macrófagos pelo estímulo da produção de CCL2 (MCP-1), um potente quimiotático de monócitos (DESHMANE et al., 2009; GABAY, 2006; MÖLLER; VILLIGER, 2006). A IL-6 liga-se a seu receptor IL-6R que pode ser expresso na membrana de diversos tipos celulares e também na forma solúvel e essa combinação IL-6/IL-6R solúvel é comumente encontrada em exsudatos inflamatórios ricos em neutrófilos (KAPLANSKI et al., 2003). Ainda, a IL-6 mostrou ser extremamente importante para o recrutamento de monócitos em um modelo de peritonite aguda, onde nos camundongos *wild-type* houve infiltração

neutrófila seguida de infiltração monocítica e nos camundongos *knock out* para o gene da *I16* o infiltrado celular se restringiu aos neutrófilos (HURST et al., 2001).

Todas as três moléculas têm sido alvo de estudos para a aplicação clínica, no tratamento de algumas patologias inflamatórias e autoimunes nas quais os seus bloqueios têm melhorado o prognóstico (MÖLLER; VILLIGER, 2006).

1.3 RESOLUÇÃO OU CRONIFICAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA

Após o estímulo inflamatório ser eliminado o processo de resolução se inicia. A síntese de mediadores pró-inflamatórios irá cessar e junto com a liberação de fatores que previnem o tráfego de neutrófilos para os tecidos, a resposta inflamatória tende a ser resolvida. As células locais voltam para a circulação sistêmica ou morrem por apoptose (programa de morte celular induzida) e são fagocitadas por macrófagos residentes e/ou recrutados (LAWRENCE; GILROY, 2007). Moléculas da família do TNF- α sinalizando através do receptor de TNF tipo 1 geram forte sinal para apoptose das células (CHAPLIN, 2010).

A resolução da inflamação é um processo fortemente regulado por uma série de mediadores como citocinas, quimiocinas e seus receptores e é descrito como um processo ativo com ativação de programas endógenos que vão induzir o término do processo (SERHAN, 2004). Isso inclui vários mecanismos descritos. Um modelo de mediador pró-resolução são as lipoxinas, que passam a ser sintetizadas no lugar das prostaglandinas. Elas têm ação anti-inflamatória, impedindo o recrutamento de neutrófilos e recrutando macrófagos, que são os principais componentes da resolução e reparo, pela fagocitose dos restos celulares. Outros eicosanóides como protectinas e resolvinas também têm demonstrado seu papel na resolução (SERHAN, 2004; SERHAN et al., 2007; SERHAN; SAVILL, 2005,).

A própria morte celular por apoptose é um mecanismo que estimula a resolução. Trabalhos como o de Fadok et al. (1998) e Huynh, Fadok e Henson (2002), sugerem que células apoptóticas fagocitadas por macrófagos, podem desestimular a inflamação pela liberação de TGF- β e outros mediadores anti-inflamatórios. O TGF- β ou fator estimulador do crescimento β 1 é uma citocina anti-inflamatória que tem papel importante na manutenção da homeostase tecidual, que facilita a resolução e induz reparo, regulando negativamente o recrutamento e

ativação de leucócitos, recrutando fibroblastos, e estimulando a síntese dos componentes de matriz extracelular (WAHL, 1994). Os efeitos anti-inflamatórios dessa citocina têm sido enfatizados pelo fato de que camundongos *knockout* para o gene do *Tgfb* desenvolvem resposta inflamatória excessiva com morte precoce e doenças autoimunes (KULKARNI et al., 1993; LI et al., 2006).

Os mecanismos efetores da imunidade inata para destruir agentes indesejáveis são extremamente potentes e, como citado anteriormente, podem intensificar o dano tecidual causando maiores patologias. Em particular, a resposta aguda neutrofílica é considerada uma das principais causas desses eventos, como observados em estudos onde a depleção ou bloqueio dessas células diminuiu consideravelmente o desenvolvimento de algumas patologias como derrame e a hepatotoxicidade induzida por drogas (MCDONALD, KUBES, 2011; ROCK et al., 2010).

Portanto, se o processo de resolução e reparo por algum motivo falhar, o processo inflamatório pode persistir, e então levar a uma inflamação crônica, que é o caso de muitas doenças hoje conhecidas, com o componente inflamatório como causa agravante, sejam doenças autoimunes como artrite reumatóide (SWEENEY; FIRESTEIN, 2004), infecções não resolvidas como parasitoses (RODRIGUES et al., 2009) ou tumores malignos provenientes de mutações genéticas (VISSER; EICHTEN; COUSSENS, 2006). A deficiência de um regulador negativo da inflamação, assim como a persistência de citocinas e quimiocinas inflamatórias no local, são fatores críticos para o desenvolvimento de uma doença crônica, que é proveniente da estimulação contínua da resposta imune inata, tendo como principal característica uma intensa infiltração de células mononucleares (COUSSENS; WERB, 2002; LAWRENCE; GILROY, 2007).

Os leucócitos e fagócitos continuamente estimulados produzem espécies reativas do oxigênio e do nitrogênio, que na tentativa de conter a infecção ou injúria, danificam as células hospedeiras podendo causar mutações no DNA e podendo muitas vezes levar ao desenvolvimento de tumores malignos. Por isso, algumas doenças inflamatórias crônicas aumentam a predisposição ao desenvolvimento de cânceres como é o caso de doenças inflamatórias do intestino (SZKARADKIEWICZ, 2009), hepatite C no fígado, e infecção crônica por *Helicobacter pylori*, que é a principal causa de câncer no estômago (COUSSENS; WERB, 2002; ERNST, 2000).

Um grande progresso tem sido feito para se entender os mecanismos celulares e moleculares que envolvem as respostas inflamatórias agudas ou crônicas, mas muito pouco é conhecido sobre controle genético dessas respostas. Estudos de associação genômica têm sido capazes de identificar SNPs (marcadores de polimorfismos de nucleotídeo único ou Single Nucleotide Polymorfism) associados a uma variedade de doenças comuns como o câncer de próstata, câncer de mama e diabetes e essa identificação tem permitido aos geneticistas, um melhor entendimento das variantes genéticas que tem um papel na susceptibilidade ou resistência a essas e outras desordens clínicas (HUNTER; CRAWFORD, 2008). O laboratório de Imunogenética do Instituto Butantan tem como linha de pesquisa identificar os genes que afetam a intensidade da resposta inflamatória aguda e compreender os mecanismos celulares e moleculares da inflamação, assim como, correlacionar esse fenótipo com a susceptibilidade ou resistência a várias doenças inflamatórias experimentais, como o desenvolvimento de artrite reumatóide (VIGAR et al., 2000) e carcinoma de pele (BIOZZI et al., 1998) e de pulmão (MARIA et al., 2003).

1.4 AS LINHAGENS AIRMAX E AIRMIN

Para esse estudo genético, o laboratório desenvolve e mantém linhagens de camundongos que foram geneticamente selecionados para a máxima (AIRmax) ou mínima (AIRmin) reatividade inflamatória aguda, e esses camundongos são utilizados em uma série de experimentos.

Essas linhagens foram produzidas, por seleção genética bidirecional, a partir de uma população F0, proveniente do cruzamento entre 8 linhagens isogênicas. As 8 linhagens escolhidas foram: A/J, DBA/2J, P/J, SWR/J, SJR/J, CBA/J, BALB/cJ e C57BL/6J baseadas nas origens e características de resistência ou susceptibilidade a infecções e neoplasias. Essa população F0 foi então, constituída teoricamente de uma combinação de 12,5% do genoma de cada uma das linhagens parentais (IBAÑEZ et al., 1992; RIBEIRO, 1994; STIFFEL et al., 1990).

O fenótipo da inflamação foi medido pelo influxo local de leucócitos e pelo extravasamento proteico após 24 horas de uma injeção subcutânea de poliácridamida (Biogel) no dorso dos animais. O Biogel é uma solução insolúvel,

inerte e não imunogênica que age somente como material estranho e, portanto induz uma resposta inflamatória local e estéril (IBAÑEZ et al., 1992; STIFFEL et al., 1990). Durante o processo de seleção, os animais foram caracterizados fenotipicamente, e aqueles com maior ou menor capacidade inflamatória foram separados e cruzados entre si prosseguindo os acasalamentos até alcançar a máxima separação fenotípica interlinhagens. Os animais foram cruzados, sempre com o cuidado de não acasalar irmãos e primos para evitar aumento de consanguinidade.

Figura 1 – Divergência entre as linhagens AIR quanto à resposta inflamatória

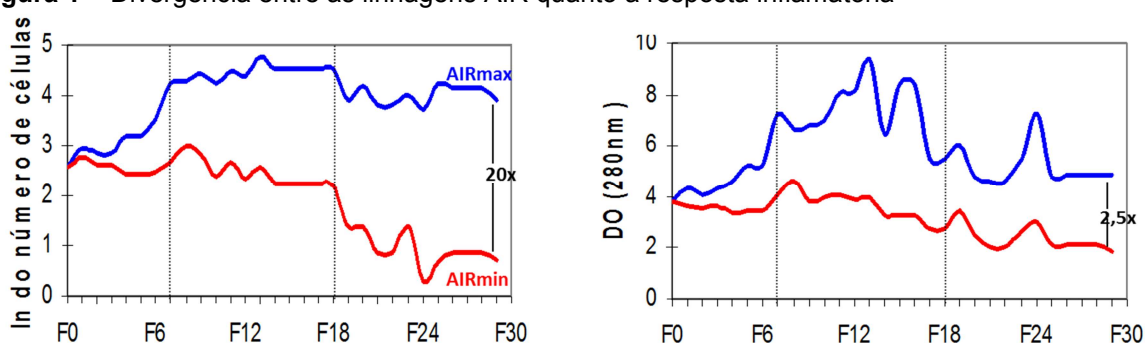


Gráfico representativo da divergência entre as linhagens AIR quanto ao número médio de células infiltrantes e extravasamento proteico no local de aplicação de Biogel

Fonte: Modificado de Biozzi et al. (1998). Com permissão.

O ponto máximo de separação fenotípica entre as duas linhagens revelou que a intensidade da reação inflamatória aguda (AIR) é dependente do efeito aditivo de vários genes de baixa penetrância, ou seja, de uma regulação poligênica. Assim, ao final do processo de seleção, considerou-se que os alelos para máxima resposta inflamatória aguda foram fixados em homozigose nos animais AIRmax, e os alelos para mínima resposta inflamatória aguda, nos animais AIRmin, porém, mantendo um fundo genético heterogêneo nesses animais (IBAÑEZ et al., 1992). Atualmente a divergência das linhagens é cerca de 25 e 2,5 vezes de diferença para leucócitos (com predominância de células polimorfonucleares) e proteínas, respectivamente. Foram estimados cerca de 7 a 11 loci reguladores para o caráter selecionador (BIOZZI et al., 1998).

De acordo com Ribeiro et al. (2003), essa diferença interlinhagens a favor dos animais AIRmax, é consequência do aumento da produção de fatores quimiotáticos atraentes de neutrófilos no local de aplicação do Biogel, maior produção dessas

células na medula óssea e maior resistência dessas células à apoptose no local de extravasamento.

A capacidade inflamatória foi testada em animais também desenvolvidos no nosso laboratório, que diferem na alta ou baixa capacidade de produzir anticorpos, e o resultado demonstrou um nível variável de inflamação, independentemente da resposta imune, provando que a capacidade de produção de anticorpos (imunidade adquirida) e inflamatória (imunidade inata) são controladas por genes independentes (RIBEIRO, 1994).

Esse modelo animal demonstrou inúmeras diferenças de resposta frente a patologias, como no caso de infecção por *Salmonella Typhimurium* (ARAÚJO et al., 1998) e indução química de carcinogênese de pele por DMBA (iniciador) e TPA (promotor), onde os AIRmax se mostraram mais resistentes do que os animais AIRmin (BIOZZI et al., 1998) e doença autoimune como artrite induzida por pristane, onde nesse caso os animais AIRmin foram os mais resistentes (VIGAR et al., 2000). Um perfil distinto entre as duas linhagens também pôde ser observado quando os animais foram desafiados com outros agentes inflamatórios como a carragenina e o zymosan (VASQUEZ-BRAVO, 1996) e o veneno de *Bothrops jararaca* (CARNEIRO et al., 2002), além de uma distinta resposta de regeneração tecidual (DE FRANCO et al., 2007), demonstrando claramente uma relação da capacidade inflamatória com cada um desses fenótipos.

Até o presente momento dois dos 11 QTLs (Quantitative Trait Loci) estimados para o fenótipo de seleção (número de células infiltrantes) foram detectados através da análise de polimorfismos com marcadores SNP. Um desses loci chamado de *Irm1* foi encontrado no cromossomo 7 (VORRARO et al., 2010). Este locus contém cerca de 230 genes e mostrou estar envolvido com o número de células infiltradas no exsudato e com a produção de IL-1 β ex vivo. O outro locus, o *Irm2* foi mapeado no cromossomo 5 e também mostrou estar envolvido com ambos os fenótipos (GALVAN et al., 2011). Além disso, o trabalho de Galvan et al. (2011) detectou outros QTLs sugestivos nos cromossomos 2, 4, 5, 6, 7, 11, 13 e 16 para o número de células infiltrantes e nos cromossomos 1, 5, 7, 8, 10, 13, 14 e 17 para a produção de IL-1 β . Dois SNPs mapeados no locus *Irm1*, que foram altamente associados com a produção de IL-1 β , apareceram também entre os SNPs sugestivos para o número de células infiltrantes. A detecção desses QTLs envolvidos no controle da resposta

inflamatória aguda foi realizada por ensaio de co-segregação em intercruzamentos de camundongos das linhagens AIRmax X AIRmin (segregantes F2), por avaliação dos níveis variáveis de resposta inflamatória.

A resposta inflamatória aguda (AIR), divergente nessas linhagens está bem estabelecida, e foi baseada em inúmeros experimentos mostrando diferenças quanto à produção de células, produção de citocinas, de quimiocinas, expressão de genes entre outros fenótipos. No entanto diferenças na resposta inflamatória tardia ou crônica ao Biogel ainda não foi descrita.

Baseado nessas informações, uma questão nos veio em mente: será que genes que interferem com a AIR podem afetar o desenvolvimento de uma inflamação crônica às partículas de poliacrilamida? Para responder a essa pergunta nós procuramos avaliar primeiramente o exsudato local quanto a diferenças no infiltrado celular e presença de algumas citocinas inflamatórias. Posteriormente, nós avaliamos a expressão gênica global e relativa e as condições histológicas do tecido subcutâneo de ambas as linhagens, todos os experimentos sendo realizados após um período agudo de 48 horas e um período que nós consideramos crônico, de 30 dias. Com esses resultados, nós procuramos fazer uma associação dos fenótipos encontrados nas linhagens com a expressão de genes na pele e da expressão desses genes com as regiões previamente mapeadas. Como muitos trabalhos com doenças inflamatórias crônicas têm demonstrado que mediadores envolvidos com o início de respostas inflamatórias, podem ter participação importante na progressão e manutenção de tais doenças, nós acreditamos que tais genes podem não estar somente envolvidos com o desenvolvimento de uma resposta inflamatória aguda, mas que também podem ter uma participação importante no controle genético de uma resposta inflamatória crônica.

6 CONCLUSÕES

- O estímulo com Biogel induziu uma forte resposta inflamatória local nos animais AIRmax, caracterizado por uma maior infiltração celular não só em 48 horas mas também aos 30 dias, com maior detecção de citocinas no exsudato e maior ativação de transcritos de genes no tecido dessa linhagem do que na linhagem AIRmin após 48 horas.
- Em ambas as linhagens, após o estímulo com Biogel por 48 horas, nos ensaios de microarray, os genes ativados estiveram agrupados principalmente nas categorias de transdução de sinal, resposta imune e resposta inflamatória.
- Nos animais AIRmax experimentais, um grupo de genes principalmente envolvidos com transdução de sinal, resposta inflamatória, resposta imune e adesão celular foram pelo menos 2 vezes mais expressos que na linhagem AIRmin.
- Entre as categorias de genes sobre-representados e mais expressos nos animais AIRmin após a injeção de Biogel, estão alguns genes envolvidos com resposta imune, regulação da contração muscular e organização do citoesqueleto. Essas duas últimas categorias biológicas apareceram mais expressas nos camundongos AIRmin provavelmente devido à repressão observada na linhagem AIRmax.
- A presença do Biogel no subcutâneo dos animais AIRmax foi capaz de induzir a formação de um possível granuloma, observado ao exame macroscópico após 30 dias.
- A expressão de *Tnfa*, *Ccl2*, *Itgb2* e *Vcam1* está aumentada na linhagem AIRmax após 30 dias do tratamento, que também mostrou intenso infiltrado inflamatório de neutrófilos, macrófagos e células gigantes multinucleadas, à análise do tecido.

- A expressão da citocina anti-inflamatória *Tgfb* apareceu aumentada na linhagem AIRmax somente após 30 dias da aplicação de Biogel, mesmo período em que outra citocina anti-inflamatória, a IL-10 foi detectada em concentrações elevadas no soro da mesma.

REFERÊNCIAS¹

ARAÚJO, L. M.; RIBEIRO, O. G.; SIQUEIRA, M.; DE FRANCO, M.; SATAROBINAS, N.; MASSA, S.; CABRERA, W. H.; MOUTON, D.; SEMAN, M.; IBAÑEZ, O. M. Innate resistance to infection by intracellular bacterial pathogens differs in mice selected for maximal or minimal acute inflammatory response. **Eur. J. Immunol.**, v. 28, p. 2913-2920, 1998.

ARMSTRONG, D. A.; MAJOR, J. A.; CHUDYK, A.; HAMILTON, T. A. Neutrophil chemoattractant genes KC and MIP-2 are expressed in different cell populations at sites of surgical injury. **J. Leukoc. Biol.**, v. 75, p. 641-648, 2004.

AWOMOYI, A. A. The human solute carrier family11member1protein (SLC11A1): linking infections, autoimmunity and cancer? **FEMS Immunol. Med. Microbiol.**, v. 49, p. 324–329, 2007.

BALKWILL, F. Tumour necrosis factor and cancer. **Nat. Rev. Cancer**, v. 9, p. 361-371, 2009.

BIOZZI, G.; RIBEIRO, O. G.; SARAN, A.; ARAÚJO, M. L.; MARIA, D. A.; DE FRANCO, M.; CABRERA, W. H.; SANT'ANNA, O. A.; MASSA, S.; COVELLI, V.; MOUTON, D.; NEVEU, T.; SIQUEIRA, M.; IBAÑEZ, O. M. Effect of genetic modification of acute inflammatory responsiveness on tumorigenesis in the mouse. **Carcinogenesis**, v. 18, p. 337-346, 1998.

BORREGO, A.; PETERS, L. C.; JENSEN, J. R.; RIBEIRO, O. G.; A, CABRERA, W. H. K.; STAROBINAS, N.; SEMAN, M.; IBAÑEZ, O. M.; DE FRANCO, M. Genetic determinants of acute inflammation regulate Salmonella infection and modulate Slc11a1 gene (formerly Nramp1) effects in selected mouse lines. **Microbes Infect.**, v. 8, p. 2766–2771, 2006.

CARABEO, R. A.; GRIESHABER, S. S.; ISCHER, E.; HACKSTADT, T. Chlamydia trachomatis Induces Remodeling of the Actin Cytoskeleton during Attachment and Entry into HeLa Cells. **Infect. Immun.**, v. 70, n. 7, p. 3793–3803, 2002.

CARNEIRO, A. S.; RIBEIRO, O. G.; DE FRANCO, M.; CABRERA, W. H.; VORRARO, F.; SIQUEIRA, M.; IBAÑEZ, O. M.; STAROBINAS, N. Local inflammatory reaction induced by bothrops jararaca venom differs in mice selected for acute inflammatory reaction. **Toxicon**, v. 40, p. 1571-1579, 2002.

CARNEIRO, P. S.; PETERS, L. C.; VORRARO, F.; BORREGO, A.; RIBEIRO, O. G.; STAROBINAS, N.; JENSEN, J. R.; CABRERA, W. H. K.; IBAÑEZ, O. M.; DE FRANCO, M. Gene expression profiles of bone marrow cells from mice phenotype-selected for maximal or minimal acute inflammations: searching for

¹ De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

genes in acute inflammation modifier loci. **Immunology**, v. 128, p. 562–571, 2009.

CHAPLIN, D. D. Overview of the Immune Response. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 125, n.2, p. S3-23, 2010. Suppl. 2.

CHEN, G. Y; NUÑEZ, G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 10, p. 827-837, 2010.

COUSSENS, L. M.; WERB, Z. Inflammation and cancer. **Nature**, v. 420, p. 860-867, 2002.

DE FRANCO, M.; CARNEIRO, P. S.; PETERS, L. C.; VORRARO, F.; BORREGO, A.; RIBEIRO O. G.; STAROBINAS, N.; CABRERA, W. H.; IBAÑEZ, O. M. *Slc 11a1 (Nramp1)* alleles interact with acute inflammation loci to modulate wound-healing traits in mice. **Mamm. Genome**, v. 18, p. 263-269, 2007.

DESHMANE, S. L.; KREMLEV, S.; AMINI, S.; SAWAYA, B. E. Monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1): an overview. **J. Interferon Cytokine Res.**, v. 29, n. 6, p. 313–326, 2009.

DINARELLO, C. A. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 27, p. 519–50, 2009.

DI PACE, R. F.; MASSA, S.; RIBEIRO, O. G.; CABRERA, W. H. K.; DE FRANCO, M.; STAROBINAS, N.; SEMAN M.; IBAÑEZ, O. C. M. Inverse genetic predisposition to colon versus lung carcinogenesis in mouse lines selected based on acute inflammatory responsiveness. **Carcinogenesis**, v. 27, n. 8, p. 1517-1525, 2006.

ERNST, P. B. The disease spectrum of helicobacter pylori: The immunopathogenesis of Gastroduodenal Ulcer and Gastric Cancer. **Annu. Rev. Microbiol.**, v. 54, p. 615–40, 2000.

FADOK, V. A.; BRATTON, D. L.; KONOWAL, A.; FREED, P. W.; WESTCOTT, J. Y.; HENSON, P. M. Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF β , PGE $_2$, and PAF. **J. Clin. Invest.**, v. 101, p. 890–898, 1998.

FERNANDES, J. G. **Análise comparativa dos processos inflamatórios agudo e crônico no tecido subcutâneo e exsudato de camundongos selecionados para máxima ou mínima inflamação.** 2012. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

FLYNN, J. L.; CHAN, J.; LIN, P. L. Macrophages and control of granulomatous inflammation in tuberculosis. **Mucosal Immunol.**, v. 4, n. 3, p. 271-278, 2011.

FORSSMANN, U.; UGUCCIONI, M.; LOETSCHER, P.; DAHINDEN, C. A.; LANGEN, H.; THELEN, M.; BAGGIOLINI, M. Eotaxin-2, a novel CC chemokine that is selective for the chemokine receptor CCR3, and acts like eotaxin on human eosinophil and basophil leukocytes. **J. Exp. Med.**, v. 185, n. 12, p. 2171–2176, 1997.

FRÉNAL, K.; SOLDATI-FAVRE, D. Role of the Parasite and Host Cytoskeleton in Apicomplexa Parasitism. **Cell Host Microbe**, v. 5, p. 602-611, 2009.

GABAY, C. Interleukin-6 and chronic inflammation. **Arthritis Res. Ther.**, v. 8, p. 1-6, 2006.

GALVAN, A.; VORRARO, F.; CABRERA, W.; RIBEIRO, O. G.; STAROBINAS, N.; JENSEN, J. R.; CARNEIRO, P. S.; DE FRANCO, M.; GAO X.; IBAÑEZ, O. C. M.; DRAGANI, T. A. Association study by genetic clustering detects multiple inflammatory response loci in non-inbred mice. **Genes Immun.**, v. 12, p. 390-394, 2011.

GIULIETTI, A.; OVERBERGH, L.; VALCKX, D.; DECALLONNE, B.; BOUILLON, R.; MATHIEU, C. An overview of real-time quantitative PCR: applications to quantify cytokine gene expression. **Methods**, v. 25, p. 386-40, 2001.

GONLUGUR, U.; GONLUGUR, T. E. Non-allergic eosinophilic inflammation. **Immunol. Invest.**, v. 35, p. 29-45, 2006.

HASEL, K. W.; SUTCLIFFE, J. G. Nucleotide sequence of a cDNA coding for mouse Cyclophilin. **Nucleic Acids Res.**, v. 18, n. 13, p. 4019, 1990.

HIGGINS, D. M.; BASARABA, R. J.; HOHNBAUM, A. C.; LEE, E. J.; GRAINGER, D. W.; GONZALEZ-JUARRERO, M. Localized immunosuppressive environment in the foreign body response to implanted biomaterials. **Am. J. Pathol.**, v. 175, n. 1, p. 160–170, 2009.

HINSBERGH, V. W. M. V.; KOOLWIJK, P. Endothelial sprouting and angiogenesis: matrix metalloproteinases in the lead. **Cardiovasc Res.**, v. 78, p. 203–212, 2008.

HOSACK, D. A.; DENNIS, G. JR.; SHERMAN, B. T.; LANE, H. C.; LEMPICKI, R. A. Identifying biological themes within lists of genes with EASE. **Genome Biol.**, v. 4, p. R70, 2003.

HUNTER, K. W.; CRAWFORD, N. P. S. The future of mouse QTL mapping to diagnose in mice in the age of role genome association studies. **Annu. Rev. Genet.**, v. 42, p. 131–41, 2008.

HURST, S.M.; WILKINSON, T. S.; MCLOUGHLIN, R. M.; JONES, S.; HORIUCHI, S.; YAMAMOTO, N.; ROSE-JOHN, S.; FULLER, G. M.; TOPLEY, N.; JONES, S. A. IL-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation. **Immunity**, v. 14, p. 705–714, 2001.

HUYNH, M. L.; FADOK, V. A.; HENSON, P. M. Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF β 1 secretion and the resolution of inflammation. **J. Clin. Invest.**, v. 109, p. 41-50, 2002.

IBANHEZ, O. M.; STIFFEL, C.; RIBEIRO, O. G.; CABRERA, W. H.; MASSA, S.; DE FRANCO, M.; SANT'ANA, O. A.; DECREUSENFOND, C.; MOUTON, D.; SIQUEIRA, M.; BIOZZI, G. Genetics of nonspecific immunity: I. Bidirectional selective breeding of lines of mice endowed with maximal or minimal inflammatory responsiveness. **Eur. J. Immunol.**, v. 22, p. 2555-2563, 1992.

JIANG, D.; LIANG, J.; FAN, J.; YU, S.; CHEN, S.; LUO, Y.; PRESTWICH, G. D.; MASCARENHAS, M. M.; GARG, H. G.; QUINN, D. A.; HOMER, R. J.; GOLDSTEIN, D. R.; BUCALA, R.; LEE, P. J.; MEDZITOV, R.; NOBLE, P. W. Regulation of lung injury and repair by toll-like receptors and hyaluronan. **Nature**, v. 11, n. 11, p. 1173-1179, 2005.

KAPLANSKI, G.; MARIN, V.; JULIAN, F. M.; MANTOVANI, A.; FARNARIER C.; IL-6: A regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation. **Trends Immunol.**, v. 24, p. 25-29, 2003.

KORN, T.; BETTELLI, E.; OUKKA, M.; KUCHROO, V. K. IL-17 and Th17 Cells. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 27, p. 485-517, 2009.

KULKARNI, A. B.; HUH, C. G.; BECKER, D.; GEISER, A.; LYGH, M.; FLANDERS, K. C.; ROBERTS, A. B.; SPORN, M. B.; WARD, J. M.; KARLSSON, S. Transforming growth factor 181 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 90, p. 770-774, 1993.

LANGER, H. F.; CHAVAKIS, T. Leukocyte-endothelial interactions in inflammation. **J. Cell. Mol. Med.**, v. 13, n. 7, p. 1211-1220, 2009.

LAWRENCE, T.; GILROY, D. W. Chronic inflammation: a failure of resolution? **Int. J. Exp. Pathol.**, v. 88, p. 85-94, 2007.

LEEMANS, J.C.; CASSEL, S. L.; SUTTERWALA, F. S. Sensing damage by the NLRP3 Inflammasome. **Immunol Rev.**, v. 243, p. 152-162, 2011.

LEY, K.; LAUDANNA, C.; CYBULSKY, M. I.; NOURSHARGH, S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. **Nat. Immunol.**, v. 7, p. 678-689, 2007.

LI, A. G.; LU, S. L.; HAN, G.; HOOT, K. E.; WANG, X. J. Role of TGF- β in Skin Inflammation and Carcinogenesis. **Mol. Carcinog.**, v. 45, p. 389-396, 2006.

LINT, P. V.; LIBERT, C. Matrix metalloproteinase-8: cleavage can be decisive. **Cytokine Growth Factor Rev.**, v. 17, p. 217-223, 2006.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. **Methods**, v. 25, p. 402-408, 2001.

LUSTER, A. D.; ALON, R.; ANDRIAN, U. H. V. Immune cell migration in inflammation: present and future therapeutic targets. **Nat. Immunol.**, v. 6, p. 1182-1190, 2005.

MALEFYT, R. DE W.; ABRAMS, J.; BENNETT, B.; FIGDOR, C. G.; DE VRIES, J. E. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. **J. Exp. Med.**, v. 174, p. 1209-20, 1991.

MARIA, D. A; MANENTI, G.; GALBIATI, F.; RIBEIRO, O. G.; CABRERA, W. H. K.; BARRERA, R. G.; PETTINICCHIO, A.; DE FRANCO M.; STAROBINAS, N.; SIQUEIRA, M.; DRAGANI, T.A.; IBAÑEZ, O. M. Pulmonary adenoma susceptibility 1 (Pas1) locus affects inflammatory response. **Oncogene**, v. 22, p. 426-432, 2003.

MARTINON, F.; MAYOR, A.; TSCHOPP, J. The inflammasomes: guardians of the body. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 27, p. 229-265, 2009.

MATZER, S. P.; BAUMANN, T.; LUKACS, N. W.; RÖLLINGHOFF, M.; BEUSCHER, H. U. Constitutive expression of macrophage-inflammatory Protein 2 (MIP-2) mRNA in bone marrow gives rise to peripheral neutrophils with preformed MIP-2 protein. **J. Immunol.**, v. 167, p. 4635-4643, 2001.

MCDONALD, B.; KUBES, P. Cellular and molecular choreography of neutrophil recruitment to sites of sterile inflammation. **J. Mol. Med.**, v. 89, p. 1079-1088, 2011.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, n. 24, p. 428-435, 2008.

MEDZHITOV, R. Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame. **Cell**, v. 140, p. 771-776, 2010.

MEDZHITOV, R.; JANEWAY, C. Innate Immunity. **N. Engl. J. Med.**, v. 343, p. 338-344, 2000.

MOGENSEN, T. H. Pathogen Recognition and Inflammatory Signaling in Innate Immune Defenses. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 22, n. 2, p. 240-273, 2009.

MÖLLER, B.; VILLIGER, P. M. Inhibition of IL-1, IL-6, and TNF- α in immune-mediated inflammatory diseases. **Springer Semin. Immun.**, v. 27, p. 391-408, 2006.

MORAIS, J. M.; PAPADIMITRAKOPOULOS, F; BURGESS, D. J. Biomaterials/tissue interactions: possible solutions to overcome foreign body response. **AAPS J.**, v. 12, n. 2, p. 188-196, 2010.

MOUSE GENOMIC INFORMATICS. Genes, genome, features & maps. 2012. Disponível em <<http://www.informatics.jax.org/marker/MGI:105303>>. Acesso em: 02 Feb 2012.

MURPHY, G.; NAGASE, H. Progress in matrix metalloproteinase research. **Mol. Aspects Med.**, v. 29, p. 290–308, 2008.

NATHAN, C. Points of control in inflammation. **Nature**, v. 420, p. 19-26, 2002.

NOWAK, D.; POPOW-WOŹNIAK, A.; RAŹNIKIEWICZ, L.; MALICKA-BLASKIEWICZ, M. Actin in the wound healing process. **Postepy Biochem.**, v. 55, n. 22, p. 138-44, 2009.

PARAMESWARAN, N.; PATIAL, S. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. **Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.**, v. 20, n. 2, p. 87–103, 2010.

PARKS, W.C.; WILSON, C. L.; LOPEZ-BOADO, Y. S. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. **Nat. Immunol.**, v. 4, p. 617-629, 2004.

PERRETI, M. Endogenous mediators that inhibit the leukocyte–endothelium interaction. **Trends Pharmacol Sci.**, v. 18, p. 418-425, 1997.

PETERS, L.C.; JENSEN, J. R.; BORREGO, A.; CABRERA, W.H. K.; BAKER, N.; STAROBINAS, N.; RIBEIRO, O. G.; IBAÑEZ, O. M.; DE FRANCO, M. Slc11a1 (formerly NRAMP1) gene modulates both acute inflammatory reactions and pristane-induced arthritis in mice. **Genes Immun.**, v. 8, p. 51–56, 2007.

PRINCE, L. R.; WHYTE, M. K.; SABROE, I.; PARKER, L. C. The role of TLRs in neutrophil activation. **Cur. Opin. Pharmacol.**, v. 11, p. 397–403, 2011.

RIBEIRO, O. G. F. **Controle genético da inflamação**. 1994. 85 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia e Imunologia) - Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1994.

RIBEIRO, O. G.; MARIA, D. A.; ADRIOUCH, S.; PECHBERTY, S.; CABRERA, W. H. K.; MORRISSET, J.; IBAÑEZ O. M.; SEMAN, M. Convergent alteration of granulopoiesis, chemotactic activity, and neutrophil apoptosis during mouse selection for high acute inflammatory response. **J. Leukoc. Biol.**, v. 74, p. 497-506, 2003.

RIBEIRO, O. G.; CABRERA, W. H. K.; MARIA, D. A.; DE FRANCO, M.; MASSA, S.; DI PACE, R. F.; SOUZA, V. R. C.; STAROBINAS, N.; SEMAN, M.; IBAÑEZ, O. M. Genetic selection for high acute inflammatory response confers resistance to lung carcinogenesis in the mouse. **Exp. Lung Res.**, v. 31, p. 105–116, 2005.

ROCHE, J. K.; KEEPERS, T. R.; GROSS, L. K.; SEANER, R. M.; OBRIG, T. G. CXCL1/KC and CXCL2/MIP-2 Are Critical Effectors and Potential Targets for

Therapy of Escherichia coli O157:H7-Associated Renal Inflammation. **Am. J. of Pathol.**, v. 170, n. 2, p. 526-537, 2007.

ROCK, K. L.; LATZ E.; ONTIVEROS, F.; KONO, H. The Sterile Inflammatory Response. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 28, p. 321–42, 2010.

RODRIGUES, G. C.; LACERDA, D. C.; GUSMÃO, E. DA S.; COLARES, F. A.; MOTA, V. T. Pseudotumoral presentation of chronic pulmonary schistosomiasis without pulmonary hypertension. **J. Bras. Pneumol.**, v. 35, n. 5, p. 484-488, 2009.

ROTHENBERG, M. E.; HOGAN, S. P. The Eosinophil. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 24, p. 147–74, 2006.

RYAN, G. B.; MAJNO, G. Acute inflammation. A review. **Am. J. Pathol.**, v. 86, n. 1, p. 183-276, 1977.

SABAT, R.; GRU, G.; WARSZAWSKA, K.; KIRSCH, S.; WITTE, E.; WOLK, K.; GEGINAT, J. Biology of interleukin-10. **Cytokine Growth Factor Rev.**, v. 21, p. 331-344, 2010.

SERHAN, C. N. A search for endogenous mechanisms of anti-inflammation uncovers novel chemical mediators: missing links to resolution. **Histochem. Cell Biol.**, v. 122, p. 305–321, 2004.

SERHAN, C. N.; SAVILL, J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. **Nat. Immunol.**, v. 6, p. 1191-1197, 2005.

SERHAN, C. N.; BRAIN, S. D.; BUCKLEY, C. D.; GILROY, D. W.; HASLETT, C.; O'NEILL, L. A. J.; PERRETTI, M.; ROSSI, A. G.; WALLACE, J. L. Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms. **Faseb J.**, v. 21, p. 325-332, 2007.

SOROKIN, L. The impact of the extracellular matrix on inflammation. **Nat. Immunol.**, 2010. 10: 217 – 223.

STIFFEL, C.; IBAÑEZ, O.M.; RIBEIRO, O.G.; DECREASEFOND, C.; MOUTON, D.; SIQUEIRA, M.; BIOZZI, G. Genetics of acute inflammation: inflammatory reactions in inbred lines of mice and their interline crosses. **Expl. Clin. Immunogenet.**, v. 7, p. 221-233, 1990.

SUMAGIN, R.; LOMAKINA, E.; SARELIUS, I. H. Leukocyte-endothelial cell interactions are linked to vascular permeability via ICAM-1-mediated signaling. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 295, p. H969–H977, 2008.

SWEENEY, S. E.; FIRESTEIN, G. S. Rheumatoid arthritis: regulation of synovial inflammation. **Int. Journal of Biochem. Cell Biol.**, v. 36, p. 372–378, 2004.

SZKARADKIEWICZ, A.; MARCINIAK, R.; STRUGALA, I. C.; WASILEWSKA, A.; DREWS, M.; MAJEWSKI, P.; KARPIŃSKI, T.; ZWOŹDZIAK, B. Proinflammatory

cytokines and IL-10 in inflammatory bowel disease and colorectal cancer patients. **Arch. Immunol. Ther. Exp.**, v. 57, p. 291–294, 2009.

TRACEY, D.; KLARESKOG, L.; SASSO, E. H.; SALFELD, J. G.; TAK, P. P. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: A comprehensive review. **Pharmacol Ther.**, v. 117, p. 244-279, 2008.

VASQUEZ-BRAVO, Y. L. A. R. **Aspecto da resposta inflamatória aguda em linhagens de camundongos com reatividade máxima (AIRmax) e mínima (AIRmin) obtidas por seleção genética bidirecional.** 1996. 50 f. Tese (Doutorado em Imunologia) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

VIDAL, S.; TREMBLAY, M. L.; GOVONI, G.; GAUTHIER, S.; SEBASTIANI, G.; MALO, D.; SKAMENE, E.; OLIVIER, M.; JOTHY, S.; GROS, P. The Ity/Lsh/Bcg Locus: Natural Resistance to Infection with Intracellular Parasites Is Abrogated by Disruption of the Nramp1 Gene. **J. Exp. Med.**, v. 182, p. 655-666, 1995.

VIGAR, N. D.; CABRERA, W. H.; ARAÚJO, L. M.; RIBEIRO, O. G.; OGATA, T. R.; SIQUEIRA, M.; IBAÑEZ, O. M.; DE FRANCO, M. Pristane-induced arthritis in mice selected for maximal or minimal acute inflammatory reaction. **Eur J. Immunol.**, v. 30, p. 431-437, 2000.

VISSER, K. E. De.; EICHTEN, A.; COUSSENS, L. M. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. **Nat. Rev. Cancer**, v. 6, p. 24-37, 2006.

VORRARO, F.; GALVAN, A.; CABRERA, W. H. K.; CARNEIRO, P. S.; RIBEIRO, O. G.; DE FRANCO, M.; STAROBINAS, N.; JENSEN, J. R.; SEMAN, M.; DRAGANI, T. A.; IBAÑEZ, O. C. M. Genetic Control of IL-1 β Production and Inflammatory Response by the Mouse Irm1 Locus. **J. Immunol.**, v. 185, p. 1616-1621, 2010.

WAHL, S.M. Transforming Growth Factor/3: The Good, the Bad, and the Ugly. **J. Exp. Med.**, v. 180, p. 1587-1590, 1994.

WALLIS, R. S. Tumour necrosis factor antagonists: structure, function, and tuberculosis risks. **Lancet Infect. Dis.**, v. 8, p. 601-611, 2008.

WALLIS, R. S.; EHLERS, S. Tumor Necrosis Factor and Granuloma Biology: Explaining the Differential Infection Risk of Etanercept and Infliximab. **Semin. Arthritis Rheum.**, v. 34, p. 34-38, 2005.

WEBER, A.; WASILIEW, P.; KRACHT, M. Interleukin-1 (IL-1) Pathway. **Sci Signal.**, v. 3, n. 105, p. 1-6, 2010.

ZHANG, X.; ANGKASEKWINAI, P.; DONG, C.; TANG, H. Structure and function of interleukin-17 family cytokines. **Protein Cell**, v. 2, n. 1, p. 26–40, 2011.