

Camila Almeida PIRES

Discente da União das Faculdades dos Grandes Lagos - UNILAGO

Camila Garcel PANCOTE

Luciani Gaspar de TOLEDO

Docentes da União das Faculdades dos Grandes Lagos - UNILAGO

RESUMO

Os antiinflamatórios não-esteróides (AINEs) estão entre os fármacos mais prescritos e utilizados do mundo. Estes fármacos inibem as ciclooxigenases, enzimas responsáveis pela transformação do ácido araquidônico em prostaglandinas flogísticas, pela ação da enzima fosfolipase A₂. O reconhecimento das isoformas das enzimas ciclooxigenases permite, não somente o avanço na descoberta de novos agentes antiinflamatórios, de reduzida toxicidade e maior seletividade, como também auxilia na compreensão de determinadas doenças tais como câncer e Alzheimer e conseqüentemente nos respectivos tratamentos.

Palavras-chave: antiinflamatórios; ciclooxigenases; inflamação.

1. INTRODUÇÃO

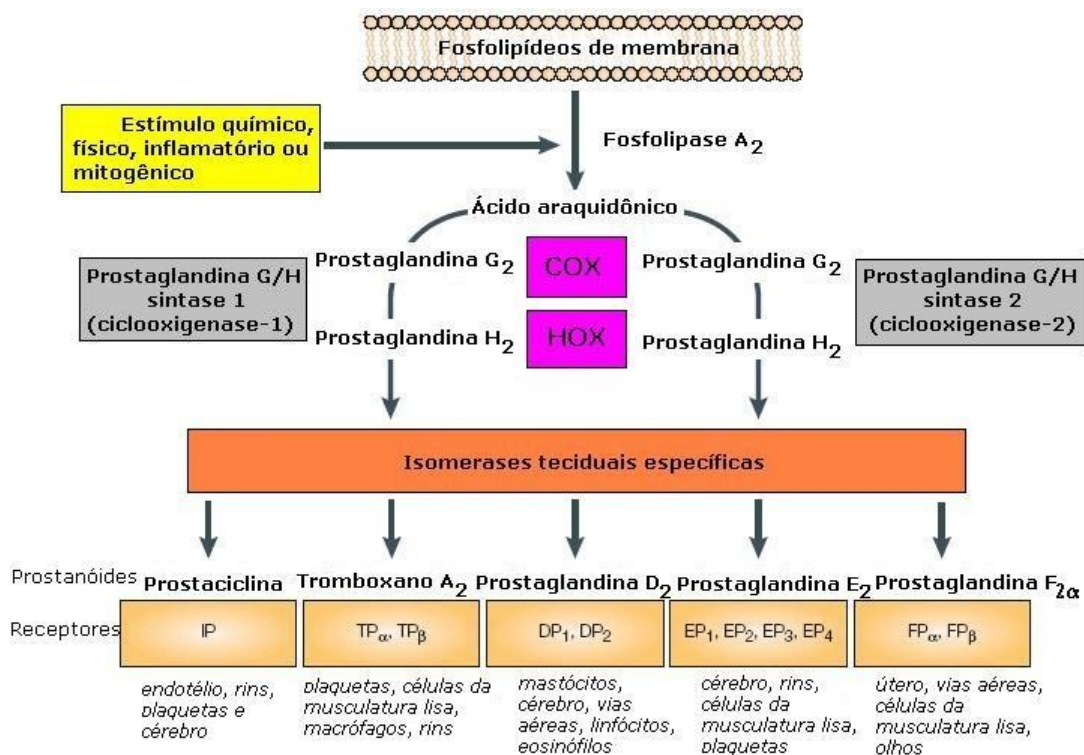
O processo inflamatório é bastante complexo e envolve grande número de células e mediadores químicos e biológicos. Esses mediadores são produzidos tanto no plasma quanto nas células e eles modificam ou regulam reações vasculares e celulares (BORNE *et al.*, 2008).

A inflamação é uma resposta essencial frente a determinados estímulos nocivos, podendo ser localizada ou sistêmica. Ocorre em três fases distintas, mediadas por diferentes mecanismos, que incluem uma fase aguda, caracterizada por vasodilatação local e aumento da permeabilidade capilar, uma fase subaguda, que consiste na infiltração de leucócitos e células fagocitárias e uma fase proliferativa crônica, na qual ocorre degeneração tissular e fibrose. Uma das causas mais importante da inflamação é o aumento na produção de prostaglandinas (PGs), sintetizadas pelas enzimas ciclooxigenases (COX) após estímulo inflamatório no tecido (SOMVANSHI *et al.*, 2007; BORNE *et al.*, 2008; SERHAN *et al.*, 2008).

De acordo com a Figura 1 este processo se inicia por meio da liberação do ácido araquidônico para célula via hidrólise dos fosfolipídeos de membrana, quando ocorre aumento na concentração intracelular de cálcio que, então, desencadeia uma série de eventos determinantes na ativação da fosfolipase A₂. A partir da formação do ácido araquidônico, este sofre metabolização por sistemas enzimáticos distintos: prostaglandina G₂ (PGG₂) e H₂ (PGH₂) sintases. Estes sistemas enzimáticos possuem ciclooxigenases (COX) e hidroperoxidases (HOX) ativas, que catalisam a formação seqüencial de PGs endoperóxidos. Estas, por sua vez, são derivadas de ácidos graxos (C₂₀) e metabolizadas por isomerases e sintases (ex: PGE sintase), que são expressas em tecidos específicos e originam diferentes PGs capazes de ativar receptores acoplados à proteína G distintos (*G protein-coupled receptor* – GPCR) (MARNETT, KALGUTAR, 1998; SIMON, 1999; GERALD, 2003; SOMVANSHI *et al.*, 2007).

O ácido araquidônico é produzido diante de estímulo físico ou químico não específico por meio da enzima fosfolipase A₂, que posteriormente será metabolizado pelas PGG/H sintases diferenciando em inúmeras PGs. Essas ativam receptores acoplados a proteína G derivados de receptores E prostanóides (EP) (FITZGERALD, 2003).

Figura 1: Cascata da biossíntese de PGs.



Fonte: FITZGERALD, 2003

De acordo com exposto, o presente trabalho tem como principal objetivo apresentar o importante papel da COX no processo inflamatório e conseqüentemente no mecanismo de ação dos AINES. Foi realizado por meio de pesquisa bibliográfica, sendo utilizada a revisão de literatura como estratégia para sua construção.

2. ISOFORMAS DE CICLOOXIGENASES

Existem dois principais tipos de ciclooxigenases, a ciclooxigenase-1 (COX-1) e a ciclooxigenase-2 (COX-2), embora, tenha sido identificada uma terceira isoforma, a ciclooxigenase-3 (COX-3). Esta, por sua vez, é uma variante da COX-1, expressa no cérebro e coração e apresenta a mesma seqüência de aminoácidos da COX-1, porém com trinta aminoácidos extras, codificado pelo intron-1 (CHANDRASEKHARAN *et al.*, 2002; BOTTING, 2003; RAMSAY *et al.*, 2003; SCHWAB *et al.*, 2003; LÚCIO *et al.*, 2008). Segundo Simmons (2003), a COX-3 é enzimaticamente ativa na biossíntese de PGs a partir do ácido araquidônico e apresenta 20% da atividade da COX-1, quando expressa em células recombinantes de inseto. Atualmente é possível explicar a atividade biológica exercida por determinados fármacos, via inibição da biossíntese de PGs por meio do bloqueio da COX-3 no SNC, tal como o efeito analgésico e antipirético promovido pelo paracetamol (BORNE *et al.*, 2008).

A COX-1 é uma enzima constitutiva, expressa em muitos tecidos e, sob condições fisiológicas, produz PGs necessárias à modulação das funções gastrintestinais, renais e a homeostase vascular. A COX-2, descrita em 1992, está presente, principalmente, no cérebro e medula espinhal. É induzida, em células inflamatórias, tais como fibroblastos, macrófagos, monócitos e células sinoviais, quando elas são ativadas. É considerada enzima que produz os mediadores da inflamação da classe dos prostanóides. O gene da COX-2 é expresso em resposta a vários agentes pró-inflamatórios, citocinas, endotoxinas, fatores de crescimento e promotores de tumor (CHANDRASEKHARAN *et al.*, 2002; TANIURA *et al.*, 2002; BOTTING, 2003; RAMSAY *et al.*, 2003; SCHWAB *et al.*, 2003; SIMMONS, 2003; SOMVANSHI *et al.*, 2007; YAQUB *et al.*, 2008).

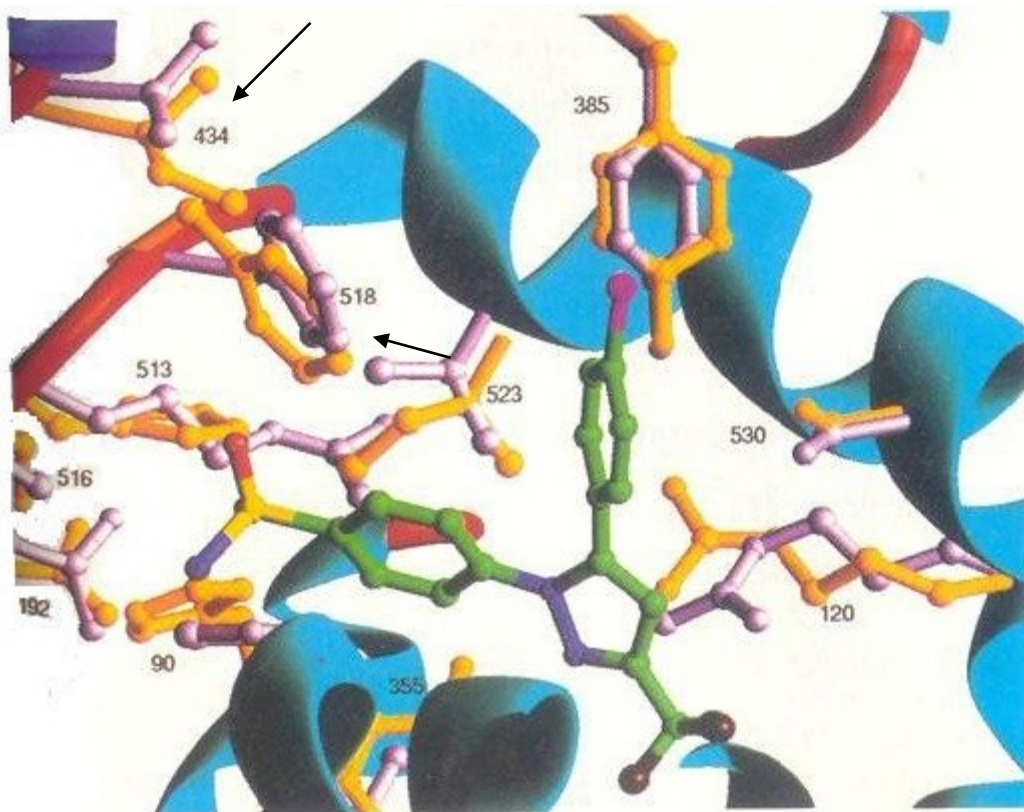
Segundo Khan e colaboradores (2002), a COX-2 é também uma enzima constitutiva, expressa em regiões glomerulares e pequenos vasos sanguíneos nos rins, confirmando assim sua importância na manutenção das funções fisiológicas cardiovasculares e renovasculares. Sugeriu-se, então, que a inibição da COX-2 por AINES acarretaria efeitos colaterais renais e cardiovasculares (KROTZ *et al.*, 2005; SOMVANSHI *et al.*, 2007). Mais tarde esses efeitos foram comprovados por meio de estudos utilizando roedores tratados com inibidores seletivos de COX-1 e COX-2, resultando em redução da pressão arterial, mediada pela Angiotensina II, com o primeiro grupo e, em contrapartida, o tratamento com inibidores seletivos de COX-2

gerou aumento do efeito pressor da Angiotensina II. Este estudo comprova a hipótese de que as PGs derivadas da COX-2 contribuem para redução da pressão arterial, enquanto que as PGs derivadas da COX-1 contribuem para elevação da pressão arterial (GUAN *et al.*, 2007).

A COX-1 e COX-2 são similares quanto à estrutura tridimensional e atividade enzimática. São proteínas hemodiméricas, contendo grupo heme e apresentam massa molecular de 71 KDa. A COX é composta de três domínios independentes: domínio do fator de crescimento epidérmico (*epidermal growth factor* - EGF) e dois domínios funcionais, o de ligação à membrana (*membrane binding domain* – MBD) e o catalítico. Este último, o maior deles contém os sítios peroxidase e ciclooxygenase (CHANG, JAHNG, 1998; VANE *et al.*, 1998; SOMVANSHI *et al.*, 2007).

A homologia entre a COX-1 e COX-2 aproxima-se de 90%. A estrutura tridimensional da COX-2 humana pode ser sobreposta a da COX-1 (Figura 2).

Figura 2. Sítios ativos das enzimas COX-1 e COX-2 sobrepostos.



Fonte: KURUMBAIL *et al.*, 1996.

Sobreposição da COX-1 (amarelo) e COX-2 (rosa) e SC-558 (diarilheterociclo - inibidor das ciclooxygenases, com maior seletividade para COX-2). Acesso restrito na COX-1 devido ao resíduo de isoleucina 523 (KURUMBAIL *et al.*, 1996).

Comparando o sítio ativo da COX-1 ao da COX-2, mais especificamente onde ocorre interação com ácido araquidônico ou os respectivos AINEs, foi observado que todos os resíduos de aminoácidos (aa) estão presentes em ambas as enzimas, exceto pela substituição do aminoácido isoleucina (Ile ou I), nas posições 434 e 523, presentes na COX-1, pelo aminoácido valina (Val ou V), na COX-2. Essa diferença poderia levar a alteração no tamanho da cavidade em que se ligariam os fármacos. Diante dessa hipótese, tornou-se possível o planejamento de novas classes de antiinflamatórios não esteróides (AINEs), mais especificamente os derivados diarilheterociclos (COXIBEs) (SIMON, 1999; SALTER *et al.*, 2001; PDB, 2003).

O sítio ativo da COX é formado, principalmente, por resíduos hidrofóbicos e se conecta com a membrana por meio de um extenso canal apolar, que possibilita o acesso dos substratos/inibidores (SOMVANSI *et al.*, 2007).

Na estrutura co-cristalizada da COX-1, o aminoácido arginina 120 (Arg120), localizado próximo ao canal de entrada da enzima, participa da interação (ligação covalente) com o íon carboxilato, presente nos AINEs convencionais. Em contrapartida, este mesmo resíduo não interage com inibidores seletivos da COX-2, permitindo, assim, o avanço na descoberta de novos agentes antiinflamatórios, buscando redução da toxicidade e aumento da seletividade (BHATTACHARYA *et al.*, 1996; LÚCIO *et al.*, 2008).

3. CONCLUSÃO

O reconhecimento das diferenças morfológicas entre as duas isoformas da enzima ciclooxigenase (COX-1 e COX-2) permitiu o desenvolvimento de inibidores seletivos da COX-2, como estratégia para obter-se efeito antiinflamatório desprovido de efeitos colaterais ao nível gastrintestinal (Marnett, Kalgutkar, 1998; Salter *et al.*, 2001; Borne *et al.*, 2008; Lúcio *et al.*, 2008).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORNE, R. F., LEVI, M., WILSON, N. Nonsteroid Anti-inflammatory Drugs. *In*: FOYE, W. O., LEMKE, T. L. **Principles of Medicinal Chemistry**. USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2008. 6ed., p. 954-1003.

BOTTING, R. COX-1 and COX-3 inhibitors. **Thrombosis Research**, v. 110, p. 269-272, 2003.

CHADRASEKHARAN, N. V., DAI, H., ROOS, K. L. T., EVANSON, N. K., TOMSIK, J., ELTON, T. S., SIMMONS, D. L. Cox-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other

analgesic / antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **Proceedings of the National academy of sciences of the United States of America**, v. 99, n. 21, p. 13926-13931, 2002.

CHANG, H. W., JAHNG, Y. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors as anti-inflammatory agents. **J. Med. Chem.**, v. 8, p. 48-79, 1998.

FITZGERALD, G. A. Cox-2 and beyond: approaches to prostaglandin inhibition in human disease. **Nature rev. drug. discov.**, v. 2, p. 879-890, 2003.

GERALD, G. A. F. Cox-2 and beyond: approaches to prostaglandin inhibition in human disease. **Nature Reviews**, v. 2, p. 879-890, 2003.

GUAN, Y., ZHANG, Y., WU, J., QI, Z., YANG, G., DOU, D., GAO, Y., CHEN, L., ZHANG, X., DAVIS, L. S., WEI, M., FAN, X., CARMOSINO, M., HAO, C., IMIG, J. D., BREYER, R. M., BREYER, M. D. Anthihypertensive Effects of Selective Prostaglandin E₂ Receptor Subtype 1 Targeting. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 9, p. 2496-2505, 2007.

KHAN, K. N. M., PAULSON, S. K., LEFKOWITH, J., VERBURG, K., MAZIASZ, T. Fetal and neonatal renal aspects of cyclooxygenase (COX) inhibition – Reply. **Kidney International**, v. 62, n. 4, p. 1477-1478, 2002.

KRÖTZ, F., SCHIELE, T. M., KLAUSS, V., SOHIN, H. Y. Selective COX-2 inhibitors and risk of myocardial infarction. **Journal of vascular research**, v.42, p.312-324, 2005.

KURUMBAIL, R. G., STEVENS, A. M., GIERSE, J. K., McDONALD, J. J., STEGEMAN, R. A., PAK, J. Y., GILDEHAUS, D., MIYASHIRO, J. M., PENNING, T. D., SEIBERT, K., ISAKSON, P. C., STALLINGS, W. C. Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents. **Nature**, v. 384, p. 644-648, 1996.

LÚCIO, M., BRINGEZU, F., REIS, S., LIMA, J. L. F. C., BREZESINSKI, G. Binding of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs to DPPC: Structure and Thermodynamic Aspects. **Langmuir**, v. 24, p. 4132-4139, 2008.

MARNETT, L. J., KALGUTKAR, A. S. Design of selective inhibitors of cyclooxygenase-2 as nonulcerogenic anti-inflammatory agents. **Current Opinion in Chemical Biology**, USA, v. 2, p. 482-490, 1998.

PDB. Protein Data Bank. **Crystal structure of arachidonic acid bound in the cyclooxygenase active site of Pghs-1**. Disponível em: <http://w.w.w.rcsb.org/pdb/>. Acesso em: 26 novembro 2003.

PDB. Protein Data Bank. **Crystal structure of arachidonic acid bound to the cyclooxygenase active site of Cox-2**. Disponível em: <http://w.w.w.rcsb.org/pdb/>. Acesso em: 26 novembro 2003.

RAMSAY, R. G., CIZNADIJA, D., VANEVSKI, M., MANTAMADIOTIS, T. Transcriptional regulation of cyclo-oxygenase: Three pillars of control. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, Austrália, v. 16, n.2: 59-67 suppl., 2003.

SCHWAB, J. M., SCHLUESENER, H. J., MEYERMANN, R., SERMAN, C. N. Cox-3 the enzyme and the concept: steps towards highly specialized pathways and precision therapeutics? **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, Alemanha, v. 69, n. 5, p. 339-343, 2003.

SERHAN, C. N. CHIANG, N., DYKE, T. E. V. Resolving Inflammation: Dual Anti-inflammatory and Pro-resolution Lipid Mediators. **Nature Reviews**, v. 8, p. 349-361, 2008.

SIMMONS, D. L. Variants of cyclooxygenase-1 and their roles in medicine. **Thrombosis Research**, USA, v. 110, p. 265-268, 2003.

SIMON, L. S. *Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation*. **Am. J. Med., Massachusetts**, v. 106, n. 5B, p. 37S-42S, 1999.

SOMVANSHI, R. K., KUMAR, A., KANT, S., GUPTA, D., SINGH, S. B., DAS, U., SRINIVASAN, A., SINGH, T. P., DEY, S. Surface Plasmon Resonance Studies and Biochemical Evaluation of a Potent Peptide Inhibitor Against Cyclooxygenase-2 as an Anti-inflammatory Agent. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 361, p. 37-42, 2007.

SOMVANSHI, R. K., KUMAR, A., KANT, S., GUPTA, D., SINGH, S. B., DAS, U., SRINIVASAN, A., SINGH, T. P., DEY, S. Surface Plasmon Resonance Studies and Biochemical Evaluation of a Potent Peptide Inhibitor Against Cyclooxygenase-2 as an Anti-inflammatory Agent. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 361, p. 37-42, 2007.

TANIURA, S., KAMITANI, H., WATANABE, T., ELING, T. E. Transcriptional regulation of cyclooxygenase-1 by histone deacetylase inhibitors in normal human astrocyte cells. **J. Biol. Chem.** Japão, v. 277, n. 19, p. 16823-16830, 2002.

VANE, J. R., BAKHLE, Y. S. BOTTING, Y. M. Cyclooxygenase 1 and 2. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 38, p. 97-120, 1998.

YAQUB, S., HENJUM, K., MAHIC, M., JANSEN, F. L., AANDAHL, E. M., BJORNETH, B. A., TASKÉN, K. Regulatory T Cells in Colorectal Cancer Patients Suppress Anti-tumor Immune Activity in a COX-2 Dependent Manner. **Cancer Immunol. Immunother.**, v. 57, p. 813-821, 2008.