



L. Milani, A. Perra,
D. Cardani

RIASSUNTO

Il processo infiammatorio è, a tutt'oggi, un argomento molto attuale nella ricerca medica nella sua accezione multidisciplinare. Uno degli snodi principali della ricerca è stato il passaggio dell'interpretazione del fenomeno infiammatorio da evento passivo ad evento attivo, teso alla risoluzione del danno non attraverso la sola inibizione della risposta ma, al contrario, attraverso la promozione di una effettiva fase di risoluzione guidata dai *Specialized Pro-resolving Mediators (SPM)*. Attraverso la Medicina dei Sistemi, uno dei più complessi e moderni approcci per l'interpretazione di numerosi eventi fisiopatologici, è stato possibile analizzare la cronobiologia del processo infiammatorio dal punto di vista genomico focalizzando l'attenzione sulla fase finale dello stesso, la fase di pro-risoluzione (*pro-resolution phase*).

– Attraverso modelli animali dedicati di danno tissutale, in presenza o meno di trattamento con Arnica comp.-Heel/Traumeel, farmaco *multicomponent/multitarget* cardine della Medicina di Bioregolazione dei Sistemi - *Bioregulatory Systems Medicine (BrSM)*, si sono potuti raccogliere molti dati importanti sul meccanismo d'azione del farmaco stesso, in particolare circa il ruolo nella promozione della fase di pro-risoluzione.

La sempre più vasta disponibilità di letteratura scientifica sull'argomento ha fornito gli strumenti culturali opportuni per interpretare i dati ottenuti inquadrando gli stessi all'interno dei processi fisiopatologici dell'infiammazione, in coerenza con la pratica clinica.

PAROLE CHIAVE MEDICINA DEI SISTEMI, GENOMICA, ARNICA COMP.-HEEL/TRAUMEEL, MEDIATORI SPECIALIZZATI DELLA RISOLUZIONE, PGE2, MACROFAGI M1, MACROFAGI M2

SUMMARY: The inflammatory process is still a very topical subject in medical research in its multidisciplinary meaning. One of the pivotal points of the research is the transition from the interpretation of the inflammatory phenomenon from a passive event to an active one, aimed at resolving the tissue damage not through the mere inhibition of the response, but, on the contrary, through the promotion of an effective resolution phase driven by the *Specialized Pro-resolving Mediators (SPM)*.

Through, the *Systems Medicine*, one of the most innovative approaches for the interpretation of the pathophysiological events, it is possible to investigate the chronobiology of the inflammatory process from the genomic point of view, focusing on the final resolution phase.

– Through specific animal models of tissue damage, with or without treatment with Arnica comp.-Heel/Traumeel, a pivotal *multicomponent/multitarget* medication within the *Bioregulatory Systems Medicine (BrSM)*, it is possible to collect important data on the mechanism of action of the medicine itself, analyzing its role in promoting the *pro-resolution phase*.

The increasingly availability of scientific literature provides the appropriate cultural tools to evaluate the data obtained by framing them in the inflammatory pathophysiological process, in coherence with clinical practice.

KEY WORDS: SYSTEMS MEDICINE, GENOMICS, ARNICA COMP.-HEEL/TRAUMEEL, SPECIALIZED PRO-RESOLVING MEDIATORS, PGE2, MACROPHAGES M1, MACROPHAGES M2

RUOLO ATTIVO DI ARNICA COMP.-HEEL/TRAUMEEL NELLA FASE DI RISOLUZIONE DELL'INFIAMMAZIONE – UNICITÀ DEL MEDICINALE MULTICOMPONENT/MULTITARGET

*ACTIVE ROLE OF ARNICA COMP.-HEEL/TRAUMEEL
IN THE RESOLUTION PHASE OF INFLAMMATION*

– UNIQUENESS OF THE MULTICOMPONENT/MULTITARGET MEDICATION

INTRODUZIONE

I Medici del passato descrivevano le progressive manifestazioni sintomatologiche del processo infiammatorio acuto con i termini *“rubor, tumor, calor, dolor et functio laesa”* (Ciaccia, 2011).

– Tale processo, secondario a stimoli infettivi, traumatici, chimici, immunitari, ecc., è attualmente riconosciuto, dal punto di vista immunitario, come provocato da un accumulo di leucociti, mastociti e piastrine, prima linea di difesa dell'organismo, in grado di liberare

vari tipi di mediatori di natura lipidica (eicosanoidi), proteica (citochine e chemochine) e gassosa (ossido nitrico, monossido di Carbonio e specie reattive dell'Ossigeno) allo scopo di **1)** circoscrivere la sede interessata dal danno, **2)** inializzare e gestire la risposta immunitaria, **3)** eliminare il fattore scatenante e **4)** ristabilire lo stato di integrità fisica (Serhan, 2017).

– La ricerca scientifica si è concentrata sullo studio delle **fasi** che caratterizzano l'infiammazione dal punto di vista del risultato clinico, indagandone gli aspetti

più meccanicistici, in particolare genetici, attraverso opportuni modelli sperimentali allo scopo di comprenderne la fisiologia e l'azione terapeutica.

Tra i più moderni approcci allo studio del processo infiammatorio emerge la Medicina dei Sistemi, branca della Medicina basata su una visione dinamica dell'organismo umano, interpretato come un Sistema di *network* con capacità di auto-regolazione operata dalle interrelazioni dinamiche tra i *network* stessi.

- La Medicina dei Sistemi studia le interconnessioni tra elementi interconnessi e loro capacità di auto-organizzazione operata attraverso meccanismi di

- 1) **auto-regolazione**
- 2) **stabilità intrinseca**
- 3) **robustezza (*robustness*)**
- 4) **resilienza**

che fanno riferimento al concetto di **omeostasi**.

La Medicina dei Sistemi considera la manifestazione patologica la principale conseguenza della disregolazione progressiva dei *network* biologici.

La robustezza dei *network* indica la loro capacità di resistere alle disregolazioni durante le fasi di perturbazione, tornando allo stato di stabilità o garantendo la migliore stabilità possibile attraverso meccanismi di compensazione.

La Medicina di Bioregolazione dei Sistemi - *Bioregulatory Systems Medicine (BrSM)* combina l'approccio al paziente proprio della Medicina dei Sistemi con interventi terapeutici basati sulla bioregolazione dei *network*, operata attraverso misure farmacologiche e non-farmacologiche.

– Il pilastro concettuale su cui poggia la BrSM è l'approccio terapeutico mirato a trattare le disregolazioni dei *network* che sottendono la patologia, sostenendo i *network* di auto-regolazione (in particolare: il neuroendocrino, l'immu-

nitario-infiammatorio, il metabolico, l'energetico-cellulare) per promuovere il ripristino delle condizioni omeostatiche fisiologiche o il raggiungimento di uno stato di equilibrio ottimale, in caso di alterazioni fenotipiche irreversibili. Secondo il modello BrSM, la risposta infiammatoria operata dall'organismo, e i relativi effetti su di esso in fase acuta, svolgono un ruolo primario dal punto di vista omeostatico.

Quando i processi omeostatici non sono sufficienti a conservare l'equilibrio, i meccanismi di auto-regolazione avviano compensatoriamente il processo infiammatorio, che viene innescato allo scopo di mantenere o ripristinare l'omeostasi.

– Questo processo è definito **infiammazione omeostatica** (o fisiologica).

Infiammazioni persistenti o irrisolte, al contrario, possono potenzialmente provocare alterazioni del microambiente cellulare e condurre progressivamente a danni strutturali dei Tessuti, fino alla loro degenerazione.

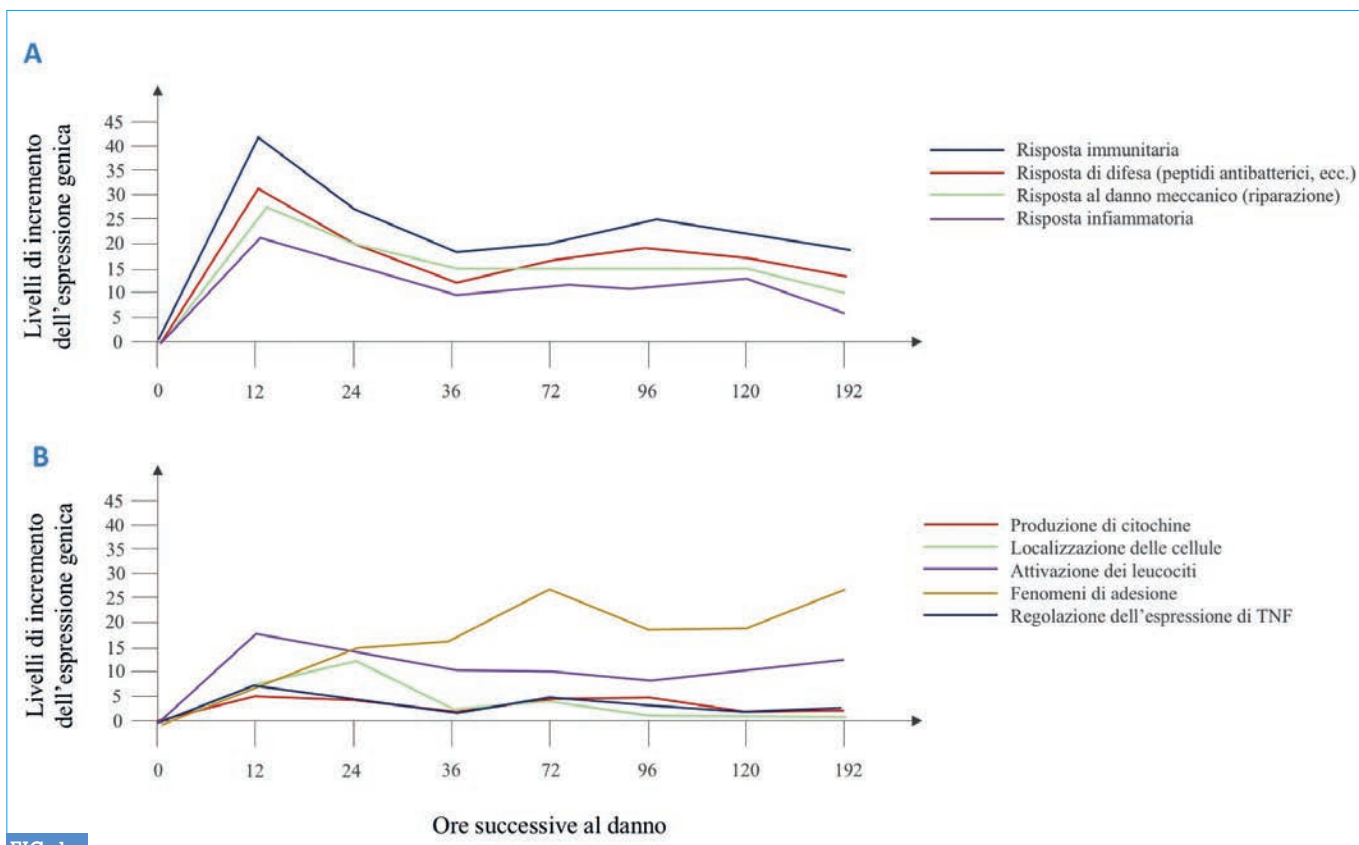


FIG. 1

Andamento dell'espressione di specifici raggruppamenti di geni (classi di ontogeni) nel periodo successivo all'insorgenza del danno tissutale.

– Modificata da Saint Laurent III et Al. – *Deep Sequencing Transcriptome Analysis of Murine Wound Healing: Effects of a Multicomponent, Multitarget Natural Product Therapy-Tr14*. *Front Mol Biosci.* 2017; 4:57.

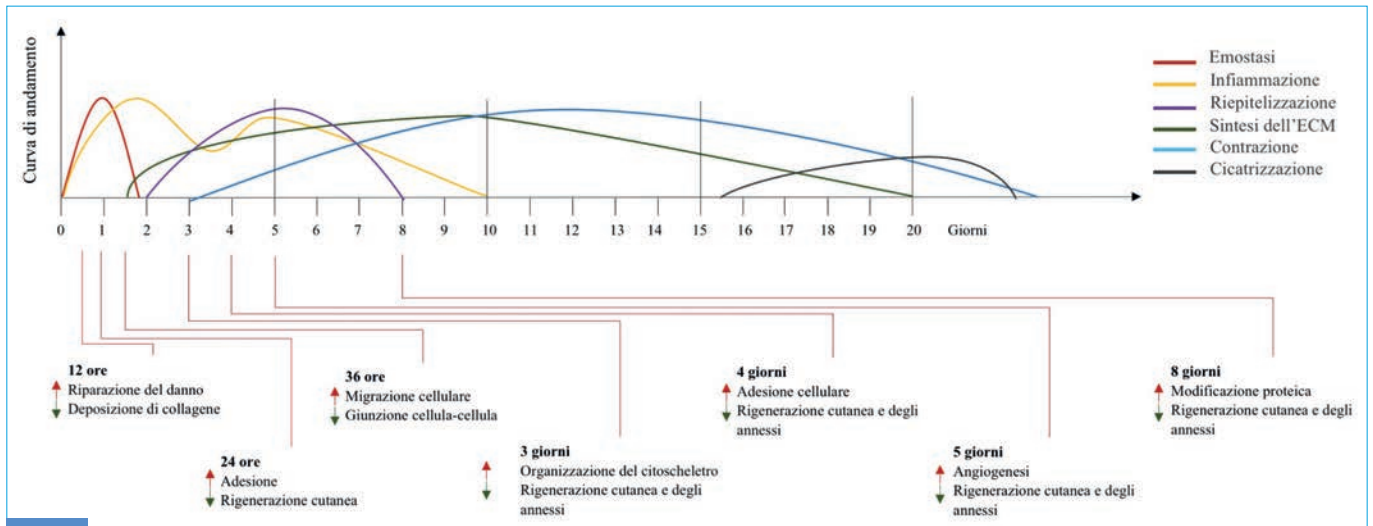


FIG. 2

Andamento temporale dell'espressione dei principali gruppi di geni coinvolti nei processi fisiologici di guarigione delle ferite.

– Modificata da Saint Laurent III et Al. – *Deep Sequencing Transcriptome Analysis of Murine Wound Healing: Effects of a Multicomponent, Multitarget Natural Product Therapy-Tr14*. *Front Mol Biosci.* 2017; 4:57.

La concezione di infiammazione come processo passivo, che si conclude con la scomparsa dei segni e dei sintomi, è stata abbandonata nel corso degli anni: attualmente l'infiammazione è considerata un **processo attivo**.

ANALISI DELL'ATTIVITÀ DI ARNICA COMP.-HEEL/TRAUMEEL (TR14) ATTRAVERSO LA GENOMICA

È stato recentemente investigato come il farmaco *multicomponent/multitarget Arnica comp.-Heel/Traumeel (Tr14)* agisca in virtù di un meccanismo d'azione diverso rispetto alla maggioranza dei farmaci antinfiammatori, attraverso un effetto di modulazione della cascata infiammatoria ed in particolare dei mediatori pro-risolutivi che favoriscono una gestione più fisiologica del processo.

– Saint Laurent III & Coll. hanno pubblicato nel 2017 un lavoro di ricerca di base (analisi dell'espressione genica) (Saint Laurent III et Al., 2017), evidenziando la capacità di Tr14 di agire positivamente sui processi di riparazione cutanea grazie ad un modello sperimentale murino di guarigione delle ferite (*wound healing*).

– I ricercatori hanno evidenziato come, attraverso l'analisi dell'espressione ge-

nica effettuata in ogni fase del processo di danno e successiva riparazione tissutale, Tr14 eserciti una profonda e progressiva azione di **modulazione dei geni coinvolti** e – conseguentemente – dell'espressione dell'mRNA (*messenger Ribonucleic Acid*) e delle proteine da essi codificate.

Le variazioni di espressione genica indicano come Tr14 agisca sulla componente infiammatoria del processo di riparazione tissutale.

La scelta di questo modello murino di danno e riparazione cutanea è stata dettata dal fatto che esso rappresenta un modello completo di processo infiammatorio; la bontà della scelta è motivata dall'evidenza che **più di 100 geni** vengono modulati da Tr14 in ogni fase del processo (ad esempio: motilità cellulare, differenziazione delle cellule staminali, controllo dei fenomeni apoptotici) al fine di controllare il processo infiammatorio acuto e di sostenere la fase di pro-risoluzione (*pro-resolution phase*).

– Come già rilevato in altri contesti, anche nell'interpretazione dei dati di questo lavoro, è fondamentale focalizzare l'attenzione sulla cronobiologia degli eventi che controllano la risposta infiammatoria a livello genico.

Come conseguenza del danno tissutale, vengono attivati numerosi gruppi di ge-

ni (classi di ontogeni), ed in particolare quelli che controllano:

- la risposta immunitaria
- la risposta di difesa (ad esempio, attraverso la sintesi di peptidi antibatterici, ecc.)
- la risposta al danno meccanico (riparazione)
- la risposta infiammatoria.

La massima attivazione per tutti i gruppi di geni avviene dopo circa **12 h** dall'insorgenza del danno tissutale ed evidenzia un andamento uniforme di tutti i gruppi di geni (FIG. 1A).

È possibile raggruppare i geni in classi ontogeniche diverse coinvolte nei fenomeni di:

- produzione di citochine
- localizzazione delle cellule
- attivazione dei leucociti
- adesione cellulare
- regolazione dell'espressione di *Tumor Necrosis Factor* (TNF).

Si rilevi come la distribuzione temporale dell'espressione dei gruppi di geni presenti un andamento temporale non più uniforme ma con importanti variazioni; a **12 h** si produce il picco per i geni responsabili dell'attivazione dei leucociti, della produzione di citochine e della regolazione dell'espressione di TNF.

Il gruppo di geni responsabile del ri-

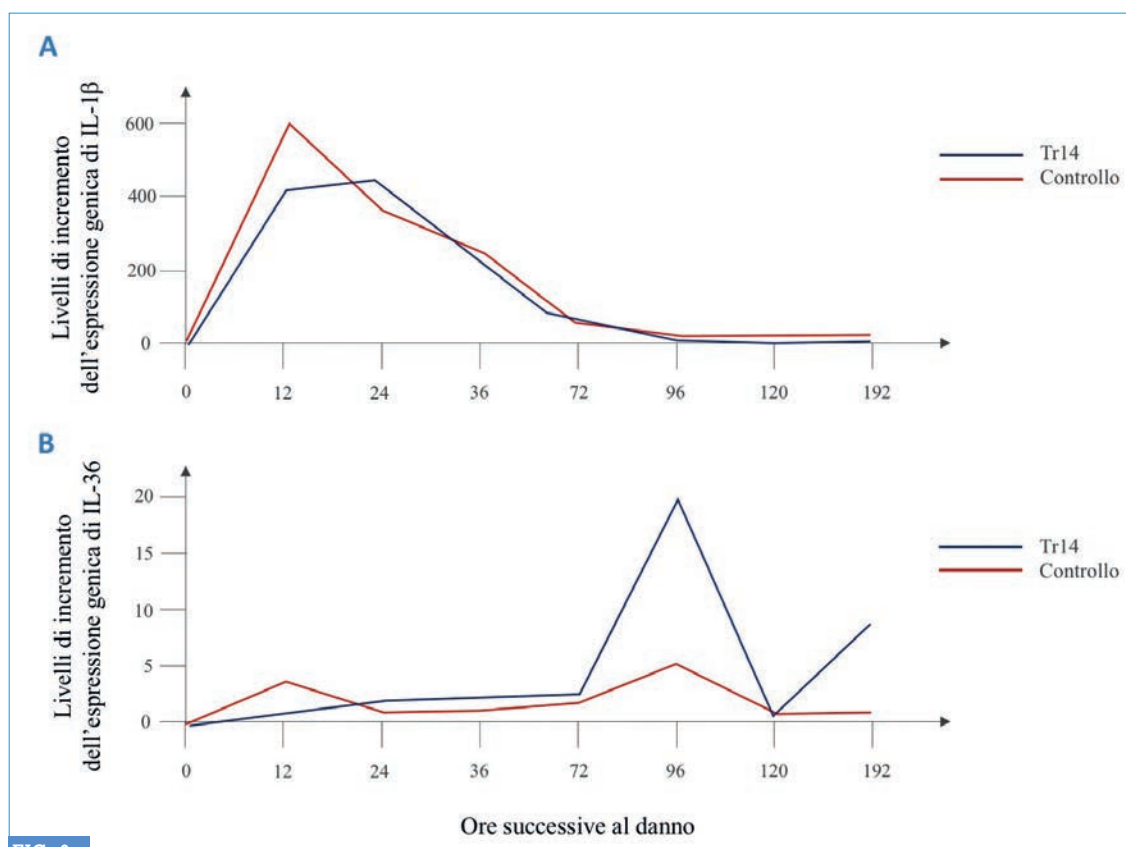


FIG. 3

Andamento temporale dell'espressione di IL-1 β (A) e IL-36 (B) nel periodo successivo all'insorgenza del danno tissutale in presenza o meno del trattamento con Tr14.

– Modificata da Saint Laurent III et Al. – *Deep Sequencing Transcriptome Analysis of Murine Wound Healing: Effects of a Multicomponent, Multitarget Natural Product Therapy-Tr14*. *Front Mol Biosci*. 2017; 4:57.

chiamo (localizzazione) delle cellule nel sito del danno raggiunge il picco di attivazione dopo **24 h**; dopo **72 h** si registra il primo picco del gruppo di geni che controlla l'adesione cellulare, seguito da un ulteriore picco a **192 h** dall'insorgenza del danno (FIG. 1B).

– L'espressione di questi gruppi di geni responsabili del controllo dei processi fisiologici specifici di risposta al danno è un evento di tipo **crono-sequenziale** con parziali sovrapposizioni nel caso in cui i processi stessi coesistano (FIG. 2).

- La somministrazione di Tr14 modula alcuni gruppi di geni; tra questi sono importanti quelli che controllano l'organizzazione tissutale.

– Tra le categorie ontologiche di geni *up*-regolati da Tr14 spiccano **1)** la contrazione muscolare, **2)** la risposta al danno e **3)** la modulazione citochinica.

In particolare, è interessante rilevare la capacità di Tr14 di **ridurre** l'espressione di **Interleuchina 1 beta** (IL-1 β) nelle prime 12-24 h dall'insorgenza del danno tissutale; questo dato è coerente con le note capacità di modulazione della risposta infiammatoria (comprensiva della componente algica) di Tr14.

– Muovendosi lungo la sequenza temporale dell'espressione genica si incontra, tra le 96 h e 120 h dall'inizio della risposta al danno, un gruppo di altri geni variamente regolati da Tr14 e tutti coinvolti nel processo di differenziazione delle cellule epiteliali, fenomeno cruciale nel meccanismo riparativo, dalla cui modulazione risulta un aumento delle capacità riparativa (altro punto chiave nel meccanismo d'azione di Tr14 riscontrabile nella pratica clinica).

In accordo con la pratica clinica e con le evidenze sperimentali, Tr14 modula il fenomeno infiammatorio senza sop-

primerlo; la *down*-regolazione di IL-1 β (FIG. 3A) può essere interpretata come meccanismo di compensazione all'aumento di espressione di Prostaglandina E2 (PGE2) indotto da Tr14, spesso erroneamente considerato come un evento legato esclusivamente al processo pro-infiammatorio (PGE2 non è solo mediatore dell'infiammazione, vedi oltre).

Anche l'azione di Tr14 sull'espressione di **Interleuchina 36** (IL-36) necessita di essere discussa.

Il picco molto elevato di IL-36 a 96 h dall'insorgenza del danno in presenza di trattamento con Tr14 (FIG. 3B) è particolarmente significativo: questa Interleuchina (la cui espressione elevata è generalmente associata all'insorgenza di patologie infiammatorie/autoimmuni, quali la Psoriasi) svolge un ruolo importante nei processi di riparazione dei danni cutanei, fungendo da potenziatore della proliferazione dei cheratinociti, azione che si dimostra molto importan-

te per la promozione della guarigione delle ferite.

Un alterato *signaling* cellulare controllato dal legame di IL-36 al proprio recettore (IL-36R) è connesso al rallentamento del processo di guarigione causato da un eccesso di reclutamento delle cellule immunitarie nel sito del danno (Jiang *et al.*, 2017; Saito *et al.*, 2020).

Tr14 induce un numero relativamente elevato di cambiamenti nell'espressione genica successiva al danno tissutale. Tr14 modula l'espressione dei geni coinvolti nella risposta diretta al danno nella risposta citochinica correlata con un picco positivo che si evidenzia **96-120 h** dopo l'insorgenza del danno ed il trattamento.

Notevole è il forte coinvolgimento dei geni che controllano i meccanismi di contrazione muscolare (picco a **96 h**), indispensabili per la riparazione del danno tissutale.

Altrettanto significativa è la tendenza, moderata, a **12 h** alla riduzione della risposta alle citochine, fattore essenziale per il controllo della risposta infiammatoria (FIG. 4).

È importante notare – inoltre – che in

corrispondenza della maggiore espressione a **12 h** di TNF, uno dei principali attori della polarizzazione pro-infiammatoria M1 (*classically activated macrophages*) dei macrofagi (Martinez & Gordon, 2014; Chylikova *et al.*, 2018) corrisponda un'altrettanta modulazione al ribasso dei geni coinvolti nel *sensing* delle citochine, sempre a **12 h**.

– Questa concomitanza di eventi (in linea con la cronobiologia dello *shift* M1-M2 (*alternatively activated macrophages*) dei macrofagi che vede la predominanza M1 nelle prime fasi infiammatorie, immediatamente successive al danno tissutale) (Krzyszczuk *et al.*, 2018), potrebbe rappresentare un fenomeno chiave per la comprensione dei meccanismi di modulazione (non di blocco) della risposta infiammatoria con possibile tendenza a creare un ambiente ottimale per il recupero della **piena funzionalità del Tessuto colpito**.

IL-36 – inoltre – è un potente induttore dell'attivazione non canonica dei macrofagi M2 (Moratal *et al.*, 2018) [come detto sopra, al contrario, IL-1 β attiva specificamente i macrofagi M1 (Dietrich *et al.*, 2016)]; l'attivazione cronica

di questa via di segnale è connessa all'insorgenza di malattie auto-infiammatorie quali la Psoriasi, ma la produzione di IL-36 sotto forma di singolo picco acuto può essere interpretata come un segnale di stimolazione "*una tantum*" per i macrofagi M2.

Complessivamente, la regolazione differenziale della sintesi di IL-1 β e di IL-36 indotta da Tr14 sembra descrivere un meccanismo di sostegno allo *switch* M1-M2 nell'ottica di una regolazione più generale dei meccanismi di induzione della fase di pro-risoluzione associata alla piena salvaguardia della capacità di risposta infiammatoria generale; questa sembra essere più governata in modo raffinato piuttosto che inibita drasticamente (come accade ad opera della grande maggioranza dei farmaci antinfiammatori).

Dal lavoro prodotto da Saint Laurent III & Coll. si evince come, a livello genico, Tr14 sia in grado di influenzare in senso positivo l'espressione delle classi di geni coinvolte nei processi di riparazione del danno tissu-

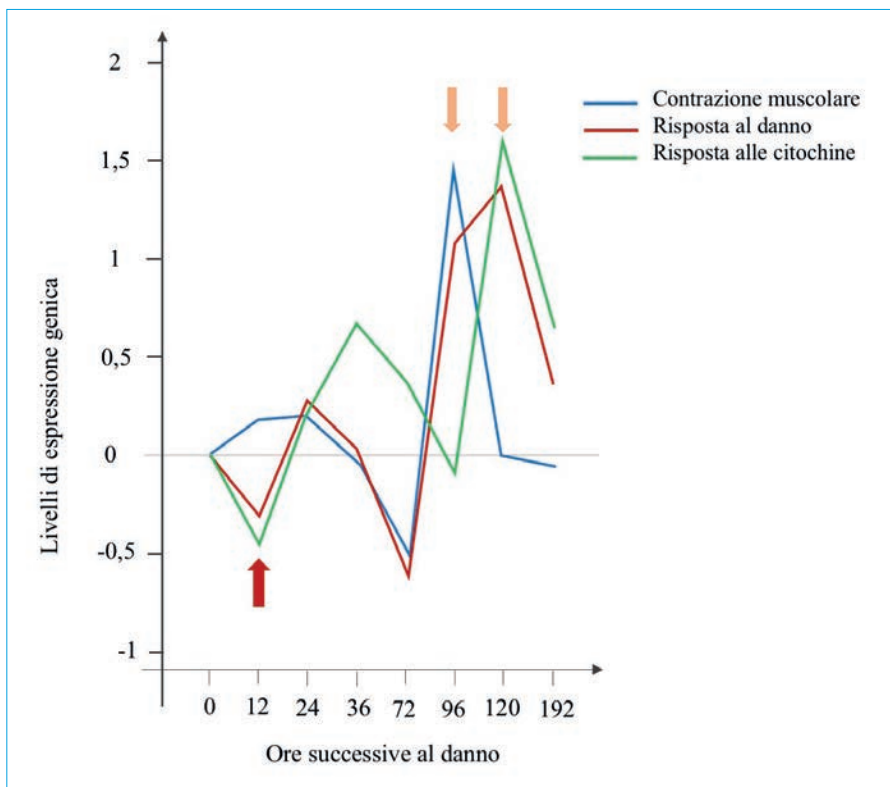


FIG. 4

Oscillazione rispetto al basale dei livelli di espressione delle classi ontologiche di geni correlati a contrazione muscolare, risposta al danno e risposta alle citochine durante l'andamento temporale in presenza del danno e del trattamento con Tr14.

– Modificata da Saint Laurent III *et al.* – *Deep Sequencing Transcriptome Analysis of Murine Wound Healing: Effects of a Multicomponent, Multitarget Natural Product Therapy-Tr14*. *Front Mol Biosci.* 2017; 4:57.

tale, creando le condizioni più favorevoli per un'efficiente risoluzione fisiologica del fenomeno infiammatorio e per un altrettanto efficiente innesco dei meccanismi di recupero funzionale del danno tissutale.

In particolare, la modulazione in senso negativo e positivo rispettivamente dell'espressione di IL-1 β e di IL-36 disegna un quadro favorevole alla risoluzione del processo infiammatorio.

Circa la ricaduta pratica, gli Autori dello studio precisano che, dal punto di vista delle tempistiche e delle modalità del processo di guarigione delle ferite, non si evidenziano sostanziali differenze tra animali dei gruppi controllo e trattati.

– Questo dato potrebbe apparire limitante; in realtà esso non è tanto relazionato al trattamento quanto – piuttosto – al modello utilizzato.

Tuttavia, rileviamo che:

- il modello murino di guarigione delle ferite cutanee è standardizzato, molto riproducibile e particolarmente adatto al tipo di studio compiuto;
- il topo possiede meccanismi di riparazione del danno molto efficienti che possono mascherare gli effetti macroscopici di un trattamento, in particolar modo se quest'ultimo è disegnato per realizzare una regolazione fine dell'intero processo infiammatorio e non una sua drastica soppressione;
- il grande valore dello studio risiede nell'insieme dei dati che evidenziano inequivocabilmente la capacità di Tr14 di **influenzare profondamente la risposta infiammatoria**;
- i risultati ottenuti chiariscono come Tr14 moduli in maniera decisiva l'intero processo infiammatorio fin dalle sue fasi iniziali mantenendo la responsabilità necessaria all'innesco del processo stesso e, durante lo sviluppo della risposta, gestendo in modo equilibrato la dualità tra infiammazione e processi di riparazione;
- dallo studio emerge – inoltre – una forte correlazione tra cronobiologia

del fenomeno infiammatorio e azione di Tr14. Ciò potrebbe indurre a pensare che, nella prassi, sia richiesto un uso temporalmente accuratissimo del medicinale, con tutte le limitazioni e difficoltà operative che ne potrebbero derivare.

Va tenuta in forte considerazione la natura preclinica dello studio e la particolarità del modello murino scelto.

Le tempistiche vanno lette come indicative e atte a descrivere un *trend* temporale, **non** a fornire uno schema cronobiologico d'azione.

Questo studio è servito come piattaforma per un'ulteriore *step* della ricerca di base nell'analisi del comportamento di Tr14 in presenza di danno cutaneo, sempre nel topo (Saint Laurent III et Al., 2018).

– In questo lavoro, Tr14 è stato confrontato con Diclofenac al fine di valutare i cambiamenti trascrittomici dopo la somministrazione dei due medicinali, con particolare enfasi sui *pathway* di segnale che controllano il rilascio dei fattori che controllano la fase di risoluzione dell'infiammazione (*Specialized pro-resolving mediators - SPM*) tra i quali le Resolvine e le Protectine (vedi oltre).

Tr14 e Diclofenac evidenziano una propria peculiare modalità di attivazione della risposta all'infiammazione (FIG. 5). Tr14 evidenzia un picco di attività sulla modulazione genica dopo **72-96 h** dalla somministrazione rispetto a Diclofenac che si dimostra più attivo nelle prime ore (**12-36 h**) dopo la somministrazione.

Complessivamente Tr14 mostra, da 72 h a 192 h dalla somministrazione, la tendenza ad agire a livello genico sui regolatori del *turnover* della matrice extracellulare, dell'infiammazione e dell'immunità innata.

In dettaglio, nelle prime **12-36 h** gli animali trattati con Tr14 e, in misura minore, quelli trattati con Diclofenac, hanno evidenziato una marcata induzione di 3 mRNA dell'enzima Lipossigenasi coin-

volti nella sintesi dei SPM.

Coerentemente con i livelli elevati di enzimi che regolano la sintesi dei SPM e dei relativi recettori, si evidenzia una diminuzione dei livelli di mRNA della subunità p65 di NF-kB (*Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) a **72-96 h**.

– Come noto, NF-kB è il fattore di trascrizione critico nell'infiammazione.

Sia negli animali controllo sia in quelli trattati con Tr14 si evidenzia, sempre nelle prime **12-36 h**, un marcato incremento di Ciclossigenasi 2 (COX2) (il trattamento con Diclofenac, bloccando il rilascio di COX2, ostacola la sintesi di PGE2).

Tr14 consente la normale autoinduzione di COX2 controllata da PGE2.

Tr14 e Diclofenac hanno avuto effetti molto diversi sulla via di sintesi dei SPM nel modello di guarigione delle ferite.

- Tr14 ha stimolato i livelli di mRNA di diversi regolatori chiave della sintesi dei SPM ed ha avuto un effetto marcato sui livelli di mRNA dei recettori SPM.
- Tr14, ma non Diclofenac, ha ridotto i livelli di mRNA per la subunità p65 di NF-kB, il che spiega alcune sue proprietà antinfiammatorie ed inducenti la risoluzione.

La peculiarità dell'azione di Tr14 consiste nella dimostrata capacità di promuovere la fase di risoluzione dell'infiammazione, mantenendo il fenomeno entro i limiti della fisiologia e riducendo – così – le opportunità di cronicizzazione dell'infiammazione stessa.

All'inizio del processo infiammatorio acuto, i mediatori lipidici come le Prostaglandine ed i Leucotrieni svolgono un ruolo di primo piano nell'orchestrare i cambiamenti emodinamici utili ad attrarre, nella sede della lesione, i granulociti neutrofili, vari altri elementi e a produrre molteplici composti, dando luogo al classico quadro infiammatorio (Serhan et Al., 2008; Serhan & Levy, 2018).

Subito dopo – tuttavia – si innesca, per un meccanismo ancora poco conosciuto, ma che fa ipotizzare l'esistenza di un

“orologio biologico personale” (con alcune caratteristiche specifiche di ogni individuo), il viraggio nella produzione da Prostaglandine e di Leucotrieni a Lipossine.

– Queste iniziano la cessazione del richiamo dei neutrofili, l’apoptosi e la sintesi, a partire dagli Acidi grassi Omega-3 (Vigna & De Giorgi, 2014), di altri mediatori lipidici antinfiammatori (Resolvine, Protectine e Maresine) (Basil & Levy, 2016) che concorrono a ridurre l’infiltrazione di neutrofili, potenziare l’apoptosi, innescare la fagocitosi dei neutrofili apoptotici da parte dei macrofagi e determinare la *clearance* dei neutrofili e il rilascio di citochine antinfiammatorie e riparative quali il *Transforming Growth Factor beta-1* (TGF- β 1). Il “programma” antinfiammatorio si conclude con la migrazione, attraverso i vasi linfatici, dei macrofagi dalla sede in via di guarigione (Dalli & Serhan, 2017).

► Il bivio tra risoluzione del processo infiammatorio e cronicizzazione dello stesso è lo snodo fondamentale della terapia antinfiammatoria: la strada imboccata ne decreta il successo o il fallimento.

– È evidente che qualsiasi trattamento antinfiammatorio dovrebbe avere come traguardo il raggiungimento della **fase di risoluzione** (con il fine ultimo del recupero morfo-funzionale del Tessuto danneggiato).

Molto è stato chiarito circa le basi molecolari che attivano i mediatori chimici dell’infiammazione e della risoluzione del processo infiammatorio, da sempre considerato un processo passivo che si conclude quando vengono a mancare gli stimoli pro-infiammatori e i mediatori lipidici, quali i Leucotrieni e le Prostaglandine. Per tale motivo, la gran parte dei farmaci antinfiammatori è stata realizzata contro i mediatori lipidici responsabili del processo infiammatorio.

Solo recentemente è stata evidenziata l’esistenza di meccanismi attivi che modulano l’evento infiammatorio con la sintesi ed il rilascio di mediatori antinfiammatori (Sugimoto *et Al.*, 2016).

• Paradossalmente, moltissimi farmaci antinfiammatori sono ancora configurati come soppressori dell’infiammazione e, nel caso in cui abbiano una qualche azione attiva sull’innesco del processo di risoluzione, essa è comunque secondaria al processo principale di soppressione della risposta infiammatoria (es. il meccanismo d’azione dell’Acido acetil-salicilico).

LA FASE DI RISOLUZIONE DELL’INFIAMMAZIONE

Nonostante la progressione delle conoscenze, i meccanismi sull’evoluzione dell’infiammazione sono rimasti alquanto vaghi fino a quando è emerso chiaramente che, subito dopo l’inizio del processo infiammatorio, si innesca anche un programma di risoluzione del processo stesso.

– Con l’identificazione delle Lipossine, molecole prodotte a partire dagli *Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids* (PUFA), delle Resolvine, Protectine e Maresine, prodotte a partire dagli *Omega-3 PUFA* (Caramia, 2010; 2012; Ji *et Al.*, 2011) attualmente si iniziano ad esplorare in modo concreto sia i meccanismi biologici alla base della risoluzione attiva del processo infiammatorio sia i possibili risvolti positivi che il controllo di questo fenomeno può avere nella te-

rapia delle malattie infiammatorie.

– Questo fermento nel campo della ricerca scientifica conferma che la risoluzione del processo infiammatorio è un **processo attivo fondamentale**, anche se non sono stati ancora del tutto chiariti i meccanismi che lo determinano.

Dalla ricerca emerge che lo squilibrio metabolico degli Acidi grassi essenziali a favore delle molecole proinfiammatorie o la carenza di mediatori antinfiammatori sarebbero responsabili della cronicizzazione dello stato infiammatorio.

LIPOSSINE

A seguito dell’innesco della risposta infiammatoria e subito dopo la produzione di mediatori lipidici e citochine proinfiammatorie, (o, secondo alcuni A.A., in concomitanza con questi), inizia, a partire dall’Acido arachidonico (AA), la sintesi delle Lipossine (**LX**) A4 e B4 (LXA4 e LXB4) attraverso vie di segnale controllate da reazioni enzimatiche a livello di numerosi tipi cellulari; infatti, le LX possono derivare sia da leucociti attivati, sia da cellule tissutali a fronte della presenza di patologie immuno-infiammatorie (Chandrasekharan & Sharma-Walia, 2015).

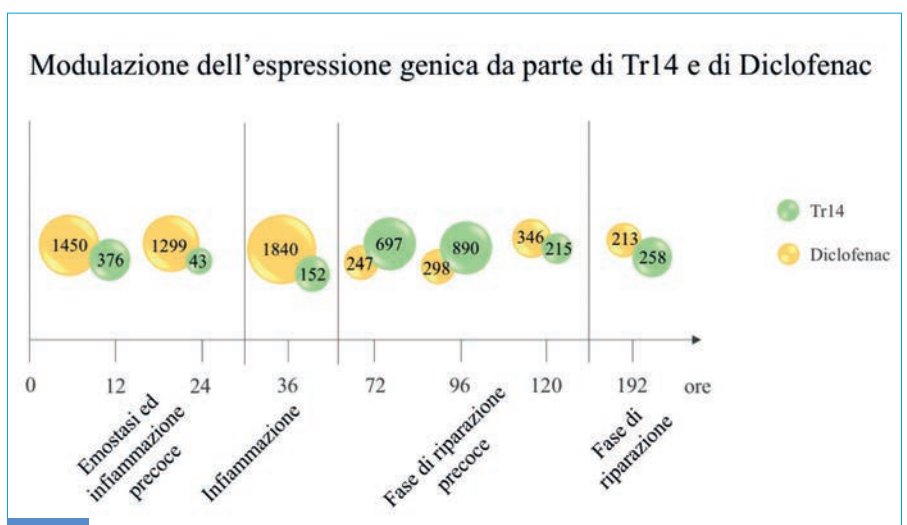


FIG. 5

Rappresentazione sinottica dell’andamento quali-quantitativo dell’espressione genica indotta da Tr14 e da Diclofenac. Le aree di sovrapposizione rappresentano i geni attivati contemporaneamente da entrambi gli agenti (dal 10% al 50% dei geni espressi da Tr14).

– Le LX esercitano una potente azione antinfiammatoria e immunomodulante che si sviluppa a vari livelli:

- intervengono su eosinofili, macrofagi, cellule dendritiche, linfociti T-helper 1 e 2 (Th1 e Th2) riducendo l'afflusso di nuovi neutrofili negli essudati; bloccano la migrazione delle cellule T;
- inibiscono il Fattore di crescita endoteliale vascolare (*Vascular Endothelial Growth Factor* - VEGF), la secrezione di IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ , l'adesione alle cellule endoteliali nella sede dell'infiammazione e la permeabilità vascolare;
- favoriscono l'infiltrazione non flogistica dei monociti, utili per la risoluzione delle lesioni, e stimolano i macrofagi.

I macrofagi, oltre ad inibire la produzione di citochine pro-infiammatorie e a produrre citochine antinfiammatorie (TGF- β), inglobano ed eliminano i neutrofili in apoptosi (efferocitosi) drenandoli, attraverso i vasi linfatici, verso i linfonodi satellite, *sterilizzando* – così – la sede d'infiammazione (Ji *et Al.*, 2011; Chandrasekharan & Sharma-Walia, 2015).

Partecipano – così – alla risoluzione del processo infiammatorio, prevenendo e/o favorendo la normalizzazione delle patologie croniche immunitarie.

RESOLVINE

A seguito dell'innesco della risposta infiammatoria e subito dopo la produzione di mediatori lipidici e citochine pro-infiammatorie, (o, secondo alcuni A.A., in concomitanza con questi), inizia, con meccanismi programmati anche geneticamente, dapprima la produzione delle LX e, subito dopo, a partire dall'Acido eicosapentaenoico (EPA), la formazione di mediatori denominati Resolvine serie E (**RvE**) e, a partire dall'Acido docosae-saenoico (DHA) le Resolvine serie D (**RvD**) ad azione antinfiammatoria.

– Le Resolvine della serie D (RvDs) sono potenti regolatrici dell'afflusso di cellule

polimorfonucleate (**PMN**) nella sede di infiammazione; la riduzione della infiltrazione neutrofila viene aumentata dalla presenza contemporanea delle RvE1 e delle RvD1 (Caramia, 2010; 2012).

La Resolvina D2 (RvD2) in particolare:

- riduce l'afflusso di neutrofili nella sede di infiammazione (Dalli *and* Serhan, 2017);
- riduce l'aderenza dei leucociti nei capillari venosi e le interazioni leucociti-endotelio con la produzione di Ossido nitrico (Spite *et Al.*, 2009);
- implementa la fagocitosi da parte dei macrofagi e dei PMN, favorendo la risoluzione del processo infiammatorio (Chiang *et Al.*, 2015);
- è, soprattutto, dotata di un potente effetto antinfiammatorio a livello dell'endotelio vascolare (Zuo *et Al.*, 2018).

Sembra – infine – che anche la RvD2 svolga un'azione analgesica in virtù della sua azione antinfiammatoria e che non presenti effetti collaterali, come i farmaci antinfiammatori tradizionali, per cui sono in corso dei test in varie situazioni patologiche.

PROTECTINE

Anche in questo caso, contemporanea o subito dopo la produzione delle LX, nel processo di risoluzione dell'infiammazione, intervengono prima le Resolvine della serie E, soprattutto le RvE1, seguite dalle Resolvine della serie D, in particolare le RvD1 ed infine inizia la produzione delle Protectine (**PD**) e delle Neuroprotectine (**NPD** - denominazione che le PD assumono quando vengono prodotte dalle cellule nervose) (Caramia, 2010; 2012).

Le PD/NPD svolgono un'azione immunoregolatoria e protettiva su vari parenchimi, in particolare sul Polmone.

Le PD, primi metaboliti della classe dei Docosatrieni, prodotte dai neutrofili nella fase risolutiva dell'infiammazione acuta, e le NPD dai neuroni:

- riducono l'afflusso e il numero dei PMN negli essudati contrastandone l'attivazione (Serhan *and* Levy, 2018);

- bloccano la migrazione delle cellule T (Ariel *et Al.*, 2005);
- inibiscono la secrezione di TNF- α e di IFN- γ (Frigerio *et Al.*, 2018);
- promuovono l'apoptosi e la risoluzione del processo infiammatorio (Caramia, 2010; 2012).

MARESINE

Le Maresine (*Maresin*: acronimo di *MACROPHAGES RESolving INflammation*) sono tra gli ultimi mediatori identificati della fase di risoluzione (Caramia, 2010; 2012; Tang *et Al.*, 2018).

Le Maresine sono derivate dal DHA da parte dei macrofagi attraverso un processo che prevede l'intervento sequenziale delle 12-LOX e 5-LOX (10- e 5-Lipossigenasi) al fine di derivare dal DHA il 14 S-HDHA (*14(S)-Hydroxy Docosahexaenoic Acid*) trasformato enzimaticamente in MaR1 (*Maresin 1*).

– Le Maresine promuovono azione simile alle Resolvine, riducono l'infiltrazione dei PMN, stimolano la fagocitosi aumentando la capacità dei macrofagi di rimuovere, dalla sede dell'infiammazione, le cellule apoptotiche, le cellule necrotiche e gli eventuali residui dei patogeni distrutti.

La modulazione dell'infiltrazione dei PMN riduce i tempi di innesco dei processi di risoluzione proteggendo allo stesso tempo i Tessuti da ulteriori danni e dallo stress ossidativo che accompagna l'infiammazione e l'infezione.

La scoperta di nuovi metaboliti bioattivi come le Maresine evidenzia ulteriormente il ruolo importante degli Acidi grassi della serie Omega-3 nella modulazione della risposta fisiopatologica nel decorso di numerose situazioni patologiche.

Dalla scoperta delle LX, e quindi dei primi composti endogeni deputati alla risoluzione fisiologica del processo infiammatorio, molti studiosi hanno ipotizzato il loro possibile impiego come farmaci in moltissimi processi infiammatori acuti, spesso in sostituzione ai cortisonici e ai FANS.

– Inoltre, tenendo presente le molte malattie infiammatorie croniche (Diabete Mellito di Tipo 2, Iperensione arteriosa, Malattia aterosclerotica cardiovascolare, Malattie infiammatorie croniche intestinali, Colite ulcerosa, Fegato Grasso non-Alcolico, Lupus sistemico, ecc.) molti ricercatori hanno pensato di dirigere la ricerca in ambito farmacologico non solo verso l'antagonismo dei mediatori pro-infiammatori, ma anche verso la realizzazione di composti antinfiammatori analoghi a quelli normalmente prodotti dall'organismo e sfruttare – così – questa nuova possibile via terapeutica (Caramia, 2010; 2012).

– Per tale motivo, onde aumentare l'emivita della LXA4 e della ATL e la resistenza all'ossidazione, dopo il primo composto, il 15-epi-16- (para-fluoro) phenoxy-LXA4, sono stati messi a punto e sperimentati nel corso degli anni diversi analoghi, tra i quali il 3-oxa LXA4, fino al più recente, l'analogo aromatico, la benzo-LXA4, che ha un importante profilo terapeutico (O'Meara *et al.*, 2008). È stato così confermato che gli analoghi stabili delle LX e dell'ATL (Guilford *et al.*, 2004; Guilford & Parkinson, 2005) sviluppano una potente attività antinfiammatoria e anti-fibrotica in varie condizioni patologiche nell'ani-

male da esperimento, per cui vi sono concrete prospettive per iniziare il loro uso sperimentale anche nell'uomo.

Per quanto riguarda le Resolvine e le Protectine, si è cercato dapprima di migliorare le varie condizioni clinico-patologiche facilitando la biosintesi ed il contenuto endogeno di Omega-3 con elevati apporti di EPA e di DHA: si sono – così – ottenuti discreti risultati *in vitro*, nell'animale da esperimento e negli organi umani compreso il Fegato e il Cervello, favorendo la sopravvivenza cellulare e l'espressione di geni protettivi. Questo sarebbe dovuto al ristabilito ed adeguato contenuto di Omega-3, in precedenza alterato per un ridotto apporto o per particolari condizioni clinico-patologiche.

La sintesi organica delle RvE1, RvD1, PD1/NPD1, e delle loro forme attivate dall'Acido acetil-salicilico (Guilford *et al.*, 2004; Dalli *et al.*, 2013), hanno dato luogo a prodotti analoghi che hanno confermato la potente azione sia *in vitro* sia *in vivo*, alcuni dei quali, evolutisi nel tempo, hanno dimostrato una sempre maggiore stabilità chimica e metabolica, per cui sono in programma sperimentazioni anche nell'uomo.

– Da quanto fin qui riportato, vi sono solidi motivi per ritenere che, con la scoperta dei mediatori lipidici antinfiammatori, si è aperta una nuova era non solo nella comprensione dei meccanismi biochimici alla base dei processi infiammatori ma anche nella ricerca per realizzare composti attivi nuovi e più efficaci, soprattutto contro quello che è stato definito “*the silent killer*”: il processo infiammatorio cronico.

Nonostante il fermento nell'ambito della ricerca di base e clinica, nessun farmaco di sintesi o semi-sintesi francamente attivo nel promuovere la fase di pro-risoluzione dell'infiammazione è attualmente in commercio.

– In questo evidente *vacuum* terapeutico si inserisce Arnica comp. -Heel/Traumeel (Tr14), capostipite dei farmaci *low dose multicomponent/multitarget*, ad azione antinfiammatoria e pro-risolutiva.

A differenza di altri farmaci antinfiammatori, Tr14 dimostra essere attivo anche nella **fase di risoluzione dell'infiammazione**.

L'unicità di Tr14 risiede nella propria capacità di promuovere la sintesi delle mo-

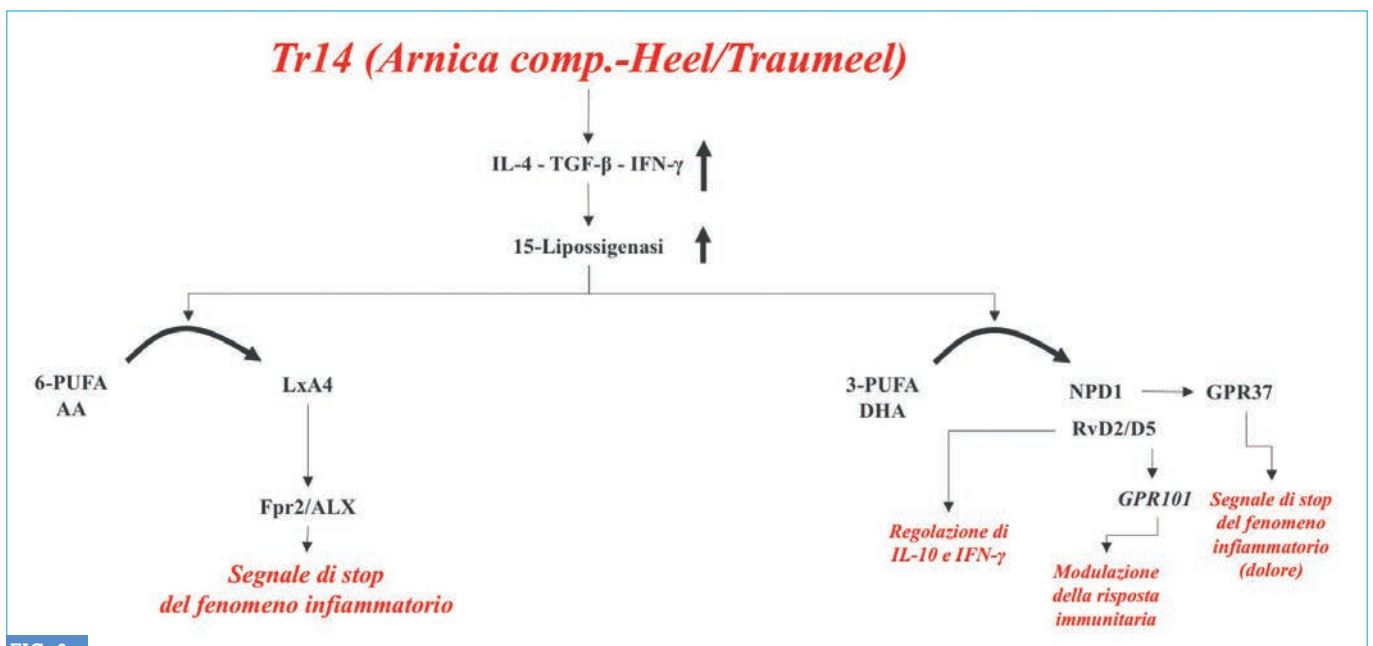
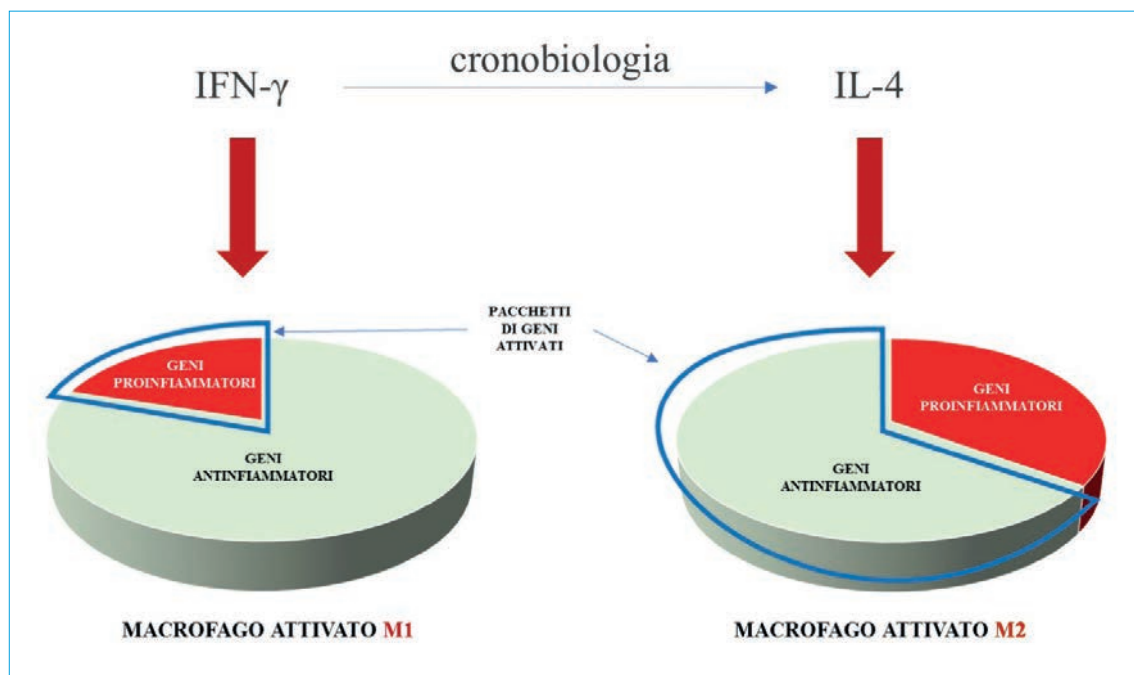


FIG. 6

Interleuchina-4, TGF-β e IFN-γ sono regolatori fisiologici dell'espressione della Lipossigenasi e suggeriscono un legame importante tra la funzione della 15-Lipossigenasi e la risposta immunitaria/infiammatoria.

FIG. 7

Rappresentazione grafica delle espressioni prevalenti dei geni attivati esprimenti mediatori pro-infiammatori e pro-risolutivi da parte dei macrofagi M1 e M2, rispettivamente.



lecole segnale pro-risolutive senza deprimere la risposta infiammatoria iniziale, non interferendo con la cascata dell'Acido arachidonico e – conseguentemente – con la sintesi di Prostaglandine. In un modello sperimentale di Peritonite acuta (<https://patents.google.com/patent/WO2020089205A1/en>), Tr14 accelera la riduzione numerica dei neutrofili al termine della prima fase di reazione infiammatoria e – contestualmente – aumenta il numero di macrofagi, in accordo con i meccanismi di risoluzione sopra descritti.

– Tr14 è in grado, inoltre, di promuovere attivamente l'espressione delle seguenti SPM (FIG. 6):

- LXA4
- RvD2/D5
- NPD1.

A differenza di altri farmaci antinfiammatori come l'Acido acetil-salicilico (Romano *et Al.*, 2015), Tr14 non controlla l'espressione dei SPM attraverso la via dell'acetilazione della COX2 (che blocca la fisiologica via infiammatoria) ma agisce a monte di questo punto di controllo attraverso i mediatori immunitari che abbiamo già incontrato – in questo elaborato – nelle analisi di biologia molecolare dei componenti, quali IL-4, TGF- β e IFN- γ , molecole segnale

attive nel controllo della cascata enzimatica che porta alla sintesi dei SPM. L'espressione di uno degli enzimi chiave, la 15-Lipossigenasi (15-LO) è controllata positivamente appunto da IL-4, TGF- β e IFN- γ .

► Tr14 è in grado di sostenere i meccanismi di risoluzione dell'infiammazione attraverso la promozione delle vie di sintesi di alcuni dei principali mediatori specializzati della pro-risoluzione, senza interferire con il processo di infiammazione fisiologica.

– Tr14 non interferisce con le cascate di segnale delle Prostaglandine (in particolare PGE2), garantendo – così – la cronobiologia della risposta infiammatoria, la quale prevede che, in concomitanza della comparsa dell'evento *trigger*, le Prostaglandine svolgano il proprio ruolo di innesco della reazione infiammatoria per poi *shiftare* la loro azione in senso pro-risolutivo, una volta risolto l'evento acuto.

Si ricorda che PGE2 è uno dei principali attori dello *shift* M1→M2 dei macrofagi (Martinez & Gordon, 2014) e che questi ultimi sono fondamentali nella fase di risoluzione dell'infiammazione esprimendo in modo prevalente i mediatori specifici della fase di pro-risoluzione.

L'ATTIVAZIONE DEI MACROFAGI – LO *SHIFT* M1-M2

Poiché i macrofagi sono elementi cruciali della risposta immunitaria, la loro attivazione si riflette sugli altri componenti del Sistema Immunitario e ne è a propria volta influenzata.

– Il termine "attivazione del macrofago" è stato introdotto da MacKness (MacKness, 1960) per indicare l'innesco della sua attività microbica non specifica antigene-dipendente; questo meccanismo è stato poi definito "attivazione classica" legata all'azione dei mediatori Th1-derivati (es.: IFN- γ).

In seguito, è stata identificata la cosiddetta "via alternativa" di attivazione macrofagica guidata da mediatori Th2-derivati (es.: IL-4).

Le due vie presero il nome di attivazione M1 e M2 per analogia con gli stimoli Th1 e Th2 che le guidano.

– In seguito altri mediatori si sono aggiunti come *driver* delle rispettive risposte di attivazione: attivatori M1 sono anche TNF- α , LPS (Lipo-polisaccaridi) e ATL (Acido lipoteicoico), i virus ed il *Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor* (GM-CSF); mentre le Immunoglobuline G (IgG), la IL-10, i Glucocorticoidi ed il *Macrophage-Co-*

lony-Stimulating Factor (M-CSF) spingono la via alternativa M2 (Dalli & Serhan, 2012; 2016).

È importante segnalare che le due vie sono entrambe attivatorie e non una soppressiva dell'altra; inoltre, nei processi infiammatori la loro attivazione è di tipo sequenziale, prima M1 e poi M2.

Lo *shift* M1-M2 è fondamentale: è il corretto passaggio dal fenotipo pro-infiammatorio M1 a quello antinfiammatorio M2, il quale accelera i processi di risoluzione del fenomeno infiammatorio (FIG. 7).

Tra tutte le molecole segnale coinvolte nella risposta infiammatoria, e conseguentemente anche nell'attivazione dei macrofagi, la PGE₂, come detto sopra, svolge un ruolo fondamentale, in ragione della sua azione gianica (a 2 facce), strettamente legata alla cronobiologia dell'infiammazione.

PGE₂ non svolge solo la funzione di mediazione dell'attivazione della rispo-

sta immunitaria, ma anche quella di auto-regolazione della risposta stessa, grazie alla sua attività autocrina e paracrina rispettivamente sulla cellula immunitaria che produce la PGE₂ stessa e sulle cellule vicine.

Il meccanismo di *feedback* negativo di auto-regolazione (Cheon *et Al.*, 2006; MacKenzie *et Al.*, 2013; Tang *et Al.*, 2017; Samiea *et Al.*, 2020) prevede che la PGE₂ agisca attraverso i recettori specifici *Prostaglandin EP2 receptor* (EP₂) e *Prostaglandin EP4 receptor* (EP₄) innescando una cascata di *signaling* intracellulare che termina con l'aumentata espressione di **IL-10** la quale esercita la sua funzione primaria di *down*-regolazione della risposta pro-infiammatoria inibendo l'attività della COX2, chiudendo così il *loop* nel *network* di auto-regolazione. IL-10, inoltre, è responsabile del mantenimento dell'espressione di EP₄ favorendo il corretto funzionamento dei *loop* di segnale di regolazione centrato su PGE₂ (FIG. 8).

CONCLUSIONI

L'utilizzo di un classico antinfiammatorio disegnato per bloccare la cascata di segnale lungo l'asse COX-PGE₂ ottiene unicamente il risultato di inibire drasticamente la risposta infiammatoria fisiologica **senza** indurre la fase di riparazione, correndo – altresì – il rischio di portare alla cronicizzazione l'infiammazione stessa (fattore di rischio per numerose malattie a base infiammatoria) a causa della perturbazione del *network* di auto-regolazione della risposta infiammatoria.

- Se questo effetto è accettabile per il trattamento dell'evento infiammatorio acuto di elevata intensità, per il quale nella pratica clinica si ricorre massivamente ai FANS ed ai derivati corticosteroidi, lo è **molto meno** per la gestione del fenomeno infiammatorio cronico di bassa intensità (LGCI).

I meccanismi d'azione di Arnica comp-

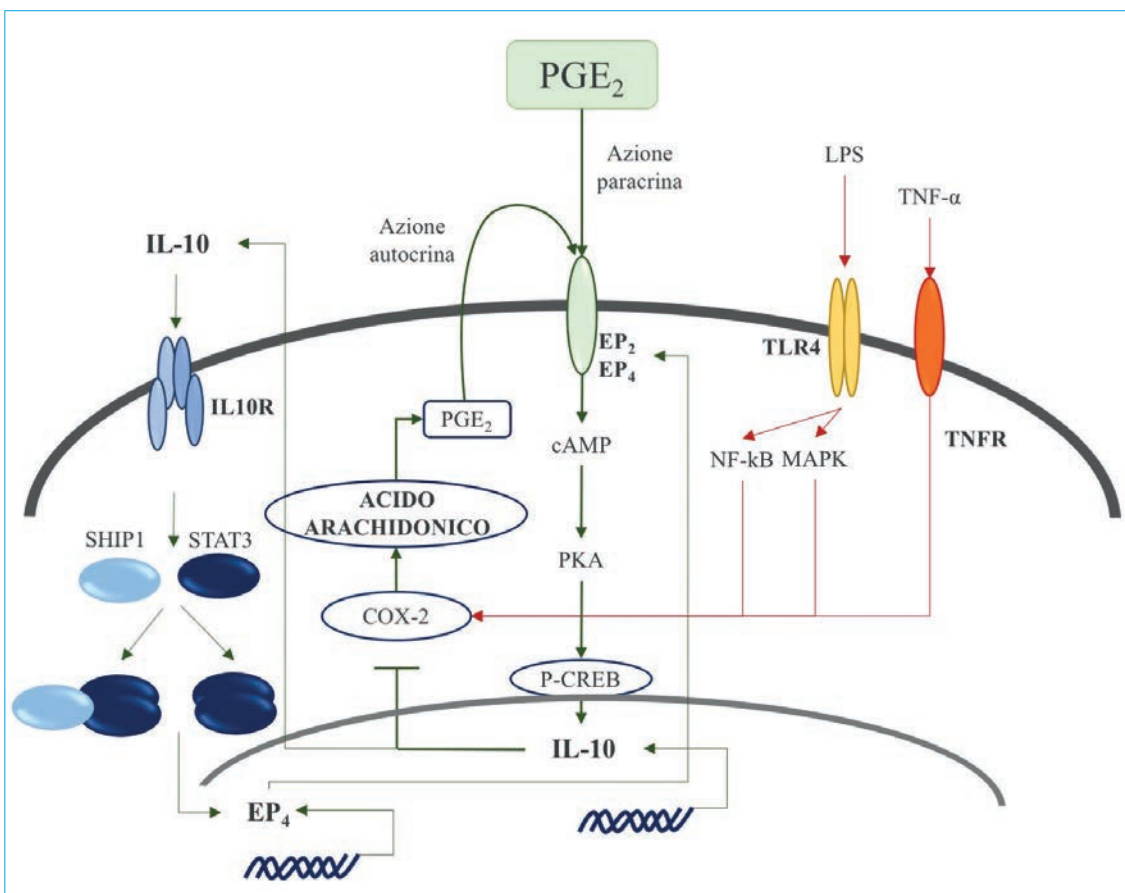


FIG. 8

Rappresentazione grafica dei pathway di auto-regolazione della risposta infiammatoria controllati da PGE₂.

Heel/Traumeel, illustrati dai recenti studi sull'espressione genica approfonditi in questo elaborato, si affiancano all'analisi dell'attività biologica dei componenti del farmaco (Milani, 2018) e caratterizzano ancor meglio la natura *multi-component/multitarget* del farmaco stesso.

- Unitamente alle già note caratteristiche di sicurezza, di possibilità di utilizzo in acuto, in terapie *long-term* e di associazione (*overlapping* terapeutico) con farmaci convenzionali, lo studio dell'attività di Arnica comp.-Heel/Traumeel dal punto di vista della genomica rafforza il sogno di un farmaco efficace ed in grado di promuovere la fase di risoluzione dell'infiammazione **senza comprometterne** il ruolo fisiologico di meccanismo volto alla limitazione del danno e all'eliminazione del *trigger*, caratteristiche che, ad oggi, lo rendono un *unicum* nel ventaglio degli strumenti farmacologici a disposizione del medico.

L'ARTICOLO IN 3 DOMANDE

1) Perché è stato studiato il modello della guarigione delle ferite?

– È stato scelto il modello della guarigione delle ferite perché è un modello completo di processo infiammatorio; lo scopo della ricerca preclinica sul modello animale è dimostrare come Tr14 operi su tutte le fasi del processo, motilità cellulare, differenziazione delle cellule staminali e anti-apoptosi, al fine, soprattutto, di enfatizzare la sua unicità come farmaco di risoluzione dell'infiammazione, farmaco della fase di risoluzione.

2) Perché è stato disegnato uno studio comparativo Tr14 vs Diclofenac?

– È particolarmente interessante che lo studio sia stato disegnato vs Diclofenac. Diclofenac ha azione antinfiammatoria per inibizione delle COX/LOX ma, come noto, inibisce anche il processo di risoluzione dell'infiammazione e di riparazione.

Tra i tantissimi dati (*big data*) emersi dallo studio, un *marker* particolarmente interessante, indagato dallo studio, è quello della PGE2; PGE2 ha un'attività gianica: nelle prime fasi dell'infiammazione essa ha attività pro-infiammatoria (per esempio attiva i macrofagi M1, pro-infiammatori) ma fin da subito inizia anche a far shiftare gli M1 verso gli M2 (implicati nella fase di risoluzione dell'infiammazione), unitamente a molte altre molecole come le Risolvine, le Protectine, le Maresine e le Lipossine.

Grazie alla Genomica si deriva che, mentre Diclofenac riduce l'espressione di PGE2 mRNA, Tr14 aumenta l'espressione di PGE2 mRNA, soprattutto qualche ora dopo l'onset dell'infiammazione.

3) Tr14 è attivo sull'infiammazione acuta oltreché sulla fase di pro-risoluzione?

– Nelle prime ore dall'inizio del processo infiammatorio, Tr14 riduce l'espressione di IL-1 beta mRNA, il *marker* delle prime fasi del processo infiammatorio. La non soppressione totale di PGE2 operata da Tr14 non inficia l'attività antinfiammatoria operata dall'induzione della *down*-regolazione delle citochine pro-infiammatorie. ■

Bibliografia

- A** – Ariel A., Li P.L., Wang W., Tang W.X., Fredman G., Hong S., Gotlinger K.H., Serhan C.N. – The docosatriene protectin D1 is produced by TH2 skewing and promotes human T cell apoptosis via lipid raft clustering. *J Biol Chem.* **2005**; 280(52):43079-86.
- B** – Basil M.C., Levy B.D. – Specialized pro-resolving mediators: endogenous regulators of infection and inflammation. *Nat Rev Immunol.* **2016**; 16(1):51-67.
- C** – Caramia G. – Omega-6 and omega-3: from discovery of prostaglandins to new anti-inflammatory lipid mediators: therapeutic perspectives. *Progress in Nutrition* **2010**; 12(2):137-159.
- Caramia G. – Essential fatty acids and lipid mediators. *Endocannabinoids. Med. Surg. Ped.* **2012**; 34: 65-72.
- Chandrasekharan J.A., Sharma-Walia N. – Lipoxins: nature's way to resolve inflammation. *J Inflamm Res.* **2015**; 8:181-92.

Cheon H., Rho Y.H., Choi S.J., Lee Y.H., Song G.G., Sohn J., Won N.H., Ji J.D. – Prostaglandin E2 augments IL-10 signaling and function. *J Immunol.* **2006**; 177(2):1092-100.

Chiang N., Dalli J., Colas R.A., Serhan C.N. – Identification of resolvin D2 receptor mediating resolution of infections and organ protection. *J Exp Med.* **2015** Jul 27; 212(8):1203-17. doi: 10.1084/jem.20150225. Epub 2015 Jul 20. PMID: 26195725; PMCID: PMC4516788.

Chylikova J., Dvorackova J., Tauber Z., Kamarad V. – M1/M2 macrophage polarization in human obese adipose tissue. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* **2018**; 162(2):79-82.

Ciaccia L. – Fundamentals of Inflammation. *Yale J Biol Med.* **2011**; 84(1):64-65.

D – Dalli J., Serhan C.N. – Specific lipid mediator signatures of human phagocytes: microparticles stimulate macrophage efferocytosis and pro-resolving mediators. *Blood.* **2012** Oct 11;120(15):e60-72.

Dalli J., Serhan C. – Macrophage Proresolving Mediators—the When and Where. *Microbiol Spectr.* **2016** Jun; 4(3):10.1128/microbiolspec.MCHD-0001-2014.

Dalli J., Serhan C.N. – Pro-Resolving Mediators in Regulating and Conferring Macrophage Function. *Front Immunol.* **2017**; 8:1400.

Dalli J., Winkler J.W., Colas R.A., Arnardottir H., Cheng C.Y., Chiang N., Petasis N.A., Serhan C.N. – Resolvin D3 and aspirin-triggered resolvin D3 are potent immunoresolvents. *Chem Biol.* **2013**; 20(2):188-201.

Dietrich D., Martin P., Flacher V., Sun Y., Jarrossay D., Brembilla N., Mueller C., Arnett H.A., Palmer G., Towne J., Gabay C. – Interleukin-36 potentially stimulates human M2 macrophages, Langerhans cells and keratinocytes to produce pro-inflammatory cytokines. *Cytokine.* **2016**; 84:88-98.

F – Frigerio F., Pasqualini G., Craparotta I., Marchini S., van Vliet E.A., Foerch P., Vandenplas C., Leclercq K., Aronica E., Porcu L., Pistorius K., Colas R.A., Hansen T.V., Perretti M., Kaminski R.M., Dalli J., Vezzani A. – n-3 Docosapentaenoic acid-derived protectin D1 promotes resolution of neuroinflammation and arrests epileptogenesis. *Brain.* **2018**; 141(11):3130-3143.

G – Guilford W.J., Bauman J.G., Skuballa W., Bauer S., Wei G.P., Davey D., Schaefer C., Mallari C., Terkelsen J., Tseng J.L., Shen J., Subramanyam B., Schottelius A.J., Parkinson J.F. – Novel 3-oxa lipoxin A4 analogues with enhanced chemical and metabolic stability have anti-inflammatory activity in vivo. *J Med Chem.* **2004**; 47(8):2157-65.

Guilford W.J., Parkinson J.F. – Second-generation beta-oxidation resistant 3-oxa-lipoxin A4 analogs. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* **2005** Sep-Oct;73(3-4):245-50. doi: 10.1016/j.plefa.2005.05.012. PMID: 15985364.

J – Ji R.R., Xu Z.Z., Strichartz G., Serhan C.N. – Emerging roles of resolvins in the resolution of inflammation and pain. *Trends Neurosci.* **2011**; 34(11):599-609.

Jiang Z., Liu Y., Li C., Chang L., Wang W., Wang Z., Gao X., Ryffel B., Wu Y., Lai Y. – IL-36γ Induced by the TLR3-SLUG-VDR Axis Promotes Wound Healing via REG3A. *J Invest Dermatol.* **2017**; 137(12):2620-2629.

K – Krzyszczyk P., Schloss R., Palmer A., Berthiaume F. – The Role of Macrophages in Acute and Chronic Wound Healing and Interventions

to Promote Pro-wound Healing Phenotypes. *Front Physiol.* **2018**; 9:419.

- M**–MacKanness G.B. – The phagocytosis and inactivation of Staphylococci by macrophages of normal rabbits. *J. Exp. Med.*, **1960**, 112, 35.
- MacKenzie K.F., Clark K., Naqvi S., McGuire V.A., Nöhren G., Kristariyanto Y., van den Bosch M., Mudaliar M., McCarthy P.C., Pattison M.J., Pedrioli P.G., Barton G.J., Toth R., Prescott A., Arthur J.S. – PGE(2) induces macrophage IL-10 production and a regulatory-like phenotype via a protein kinase A-SIK-CRTC3 pathway. *J Immunol.* **2013**; 190(2):565-77.
- Martinez F.O., Gordon S. – The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000Prime Rep.* **2014**; 6:13.
- Milani L. – Arnica comp.-Heel. Dalle Materie Mediche Omeopatiche alla Biologia molecolare e alla Genomica. *La Med. Biol.* **2018**/4; 39-54.
- Moratal C., Raffort J., Arrighi N., Rekima S., Schaub S., Dechesne C.A., Chinetti G., Dani C. – IL-1 β - and IL-4-polarized macrophages have opposite effects on adipogenesis of intramuscular fibro-adipogenic progenitors in humans. *Sci Rep.* **2018**; 8(1):17005.
- O**–O'Meara S.J., Rodgers K., Godson C. – Lipoxins: update and impact of endogenous pro-resolution lipid mediators. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* **2008**; 160:47-70.
- R**–Romano M., Cianci E., Simiele F., Recchiuti A. – Lipoxins and aspirin-triggered lipoxins in resolution of inflammation. *Eur J Pharmacol.* **2015**; 760:49-63.
- S**–Saint Laurent G. III, Seilheimer B., Tackett M., Zhou J., Shtokalo D., Vyatkin Y., Ri M., Toma I., Jones D., McCaffrey T.A. – Deep Sequencing Transcriptome Analysis of Murine Wound Healing: Effects of a Multicomponent, Multitarget Natural Product Therapy-Tr14. *Front Mol Biosci.* **2017**; 4:57.
- Saint Laurent G., Toma I., Tackett M. *et Al.* – Differential effects of tr14 versus diclofenac on pro-resolving lipid mediators revealed by rnaseq. *Annals of the Rheumatic Diseases* **2018**; 77:1237-1238.
- Saito K., Iwata Y., Fukushima H., Watanabe S., Tanaka Y., Hasegawa Y., Akiyama M., Sugiura K. – IL-36 receptor antagonist deficiency resulted in delayed wound healing due to excessive recruitment of immune cells. *Sci Rep.* **2020**;10(1):14772.
- Samiea A., Yoon J.S.J., Cheung S.T., Chamberlain T.C., Mui A.L. – Interleukin-10 contributes to PGE2 signalling through upregulation of EP4 via SHIP1 and STAT3. *PLoS One.* **2020**; 15(4):e0230427.
- Serhan C.N. – Treating inflammation and infection in the 21st century: new hints from decoding resolution mediators and mechanisms. *FASEB J.* **2017**; 31(4):1273-1288.
- Serhan C.N., Levy B.D. – Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators. *J Clin Invest.* **2018**; 128(7):2657-2669.
- Serhan C.N., Yacoubian S., Yang R. – Anti-inflammatory and proresolving lipid mediators. *Annu Rev Pathol.* **2008**; 3:279-312.
- Spite M., Norling L.V., Summers L., Yang R., Cooper D., Petasis N.A., Flower R.J., Perretti M., Serhan C.N. – Resolvin D2 is a potent regulator of leukocytes and controls microbial sepsis. *Nature.* **2009**; 461(7268):1287-91.
- Sugimoto M.A., Sousa L.P., Pinho V., Perretti M., Teixeira M.M. – Resolution of Inflammation:

What Controls Its Onset? *Front Immunol.* **2016**; 7:160.

- T**–Tang T., Scambler T.E., Smallie T., Cunliffe H.E., Ross E.A., Rosner D.R., O'Neil J.D., Clark A.R. – Macrophage responses to lipopolysaccharide are modulated by a feedback loop involving prostaglandin E2, dual specificity phosphatase 1 and tristetraprolin. *Sci Rep.* **2017**; 7(1):4350.
- Tang S., Wan M., Huang W., Stanton R.C., Xu Y. – Maresins: Specialized Proresolving Lipid Mediators and Their Potential Role in Inflammation-Related Diseases. *Mediators Inflamm.* **2018**; 2018:2380319.
- V**–Vigna G.B., De Giorgi A. – Omega-3 fatty acids: evidences, novelties and perspectives. *Giornale Italiano dell'Arteriosclerosi* **2014**; 5 (3): 51-66.
- Z**–Zuo G., Zhang D., Mu R., Shen H., Li X., Wang Z., Li H., Chen G. – Resolvin D2 protects against cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. *Mol Brain.* **2018**;11(1):9.

Riferimento bibliografico

MILANI L., PERRA A., CARDANI D. – Ruolo attivo di Arnica comp.-Heel/Traumeel nella fase di risoluzione dell'infiammazione. – Unicità del medicinale *multicomponent/multitarget*. *La Med. Biol.*, **2021**/4; 3-15.

primo autore

Prof. Leonello Milani

– Direttore Scientifico de La Medicina Biologica e di *Physiological Regulating Medicine*

Via Palmanova, 71
I – 20132 Milano