



AVALIAÇÃO DO ENVOLVIMENTO DA CITOCINA INFLAMATÓRIA IL-1 β NA MANUTENÇÃO DA CRONICIDADE DA DOR MUSCULAR

Palavras-Chave: IL-1 β ; dor muscular; Inflamação

**Emanuele de Oliveira Dorta (FCA/Unicamp); Thamires silva dos Santos (FCA/Unicamp),
Beatriz Botasso Gomes (FCA/Unicamp), Hayla Lourenço Rodrigues (FCA/Unicamp)**

Profa. Dra. Maria Cláudia Gonçalves de Oliveira – FCA/UNICAMP

INTRODUÇÃO:

Mesmo com o enorme avanço da ciência na área da saúde, as dores agudas e crônicas ainda representam um importante problema de saúde mundial. Especificamente, as dores musculares acometem grande parte da população em algum momento da vida, dificultando a movimentação funcional para as atividades de vida diárias e, em 80% dos casos, podem durar a vida toda (Manchikanti et al., 2009). O impacto das dores crônicas vai além do indivíduo portador, ampliando-se para esferas sociais e econômicas com grande prejuízo. Apesar da relevância clínica das dores musculares crônicas, os mecanismos subjacentes à sua cronificação ainda não estão completamente elucidados. Um trabalho recentemente publicado por nosso grupo demonstrou que a dor muscular aguda e crônica de origem inflamatória é caracterizada por aumento tecidual de macrófagos com fenótipo pró-inflamatório e que na fase aguda, mas não crônica, há aumento da citocina IL-1 β (de Azambuja et al., 2021). Assim sendo, o objetivo do presente estudo foi analisar o envolvimento da IL-1 β muscular na manutenção da cronicidade da dor muscular. Especificamente, avaliar se o bloqueio do receptor IL-1ra no músculo gastrocnêmio preveniria a dor muscular crônica e se haveria aumento na expressão do receptor IL1-R1 no neurônio aferente primário durante a hiperalgesia muscular.

METODOLOGIA:

Foram utilizados camundongos machos C57BL/6 com quatro semanas de idade, obtidos do CEMIB/UNICAMP (5973-1/2022). O modelo de dor muscular utilizado foi induzido através da administração de Carragenina (Cg/100µg) no ventre do músculo gastrocnêmio direito para indução da hiperalgesia muscular aguda e, 10 dias depois, no mesmo local, foi administrada Prostaglandina E₂ (PGE₂/1µg) para evidenciar a hiperalgesia crônica. Para avaliar se o bloqueio do receptor da citocina IL-1 no músculo gastrocnêmio seria capaz de prevenir a hiperalgesia muscular, utilizamos o antagonista de receptor IL-1, IL-1ra (500ng/músculo). A quantificação da hiperalgesia muscular, entre o período de 0 e 17 dias (Dina et al., 2008) do estímulo inicial, foi realizada por meio de um analgesímetro digital (Insight, Brasil), tipo Randall-Selitto, cuja força mecânica linear com aumento gradual é aplicada no ventre do músculo gastrocnêmio da pata traseira de camundongos. O registro do limiar hiperalgésico foi quantificado pela média de 3 medidas realizadas em intervalos de 5 minutos entre cada uma, observando a resposta do animal ao estímulo mecânico realizado. A hiperalgesia quantificada pela variação no limiar nociceptivo foi calculada pela subtração da média do limiar nociceptivo mecânico registrado em diferentes tempos após administração dos estímulos inflamatórios ou veículo com os valores registrados antes do início das injeções (medida basal). A análise estatística foi realizada por ANOVA (One e Two Way) com o teste de Tukey, a Área Sob a Curva foi utilizada para avaliar o período crônico de hiperalgesia muscular e o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Como nossos resultados recentes demonstraram que o estímulo inflamatório da carragenina no tecido muscular induz aumento da concentração da citocina pró-inflamatória IL-1 β no músculo gastrocnêmio 48h após sua administração (de Azambuja et al., 2021), iniciamos o estudo administrando o antagonista de receptor IL-1 (IL-1ra) na dose de 500ng no músculo gastrocnêmio no mesmo período do seu aumento, ou seja, 48h após a administração de carragenina, e avaliamos se houve prevenção da cronificação da dor muscular. A linha temporal das administrações e quantificações está inserida na figura 1. Os resultados demonstraram que ao bloquearmos os receptores da citocina pró inflamatória IL-1 β nas 48 horas subsequentes à administração do insulto inflamatório houve uma importante redução na intensidade e na manutenção da hiperalgesia muscular na fase crônica ($p < 0,05$, Two Way ANOVA, figura 1A e

One Way ANOVA, figura 1B).

Como a temporalidade dos eventos inflamatórios é importante para sua perfeita conclusão, avaliamos na sequência se o bloqueio dos receptores da IL-1 β previamente ao insulto inflamatório resultaria na mesma redução do processo de cronificação quando comparado ao período testado. Os resultados demonstraram que IL-1ra administrado 5 minutos antes da carragenina também reduz o desenvolvimento e a manutenção da hiperalgesia muscular crônica ($p < 0,05$, Two Way ANOVA, figura 1A e One Way ANOVA, figura 1B). Entretanto, observa-se que o bloqueio dos receptores no período coincidente com seu aumento (48h após o insulto inflamatório) é mais eficiente na redução da cronicidade da dor muscular ($p < 0,05$, Two Way ANOVA, figura 1A e One Way ANOVA, figura 1B).

Figura 1

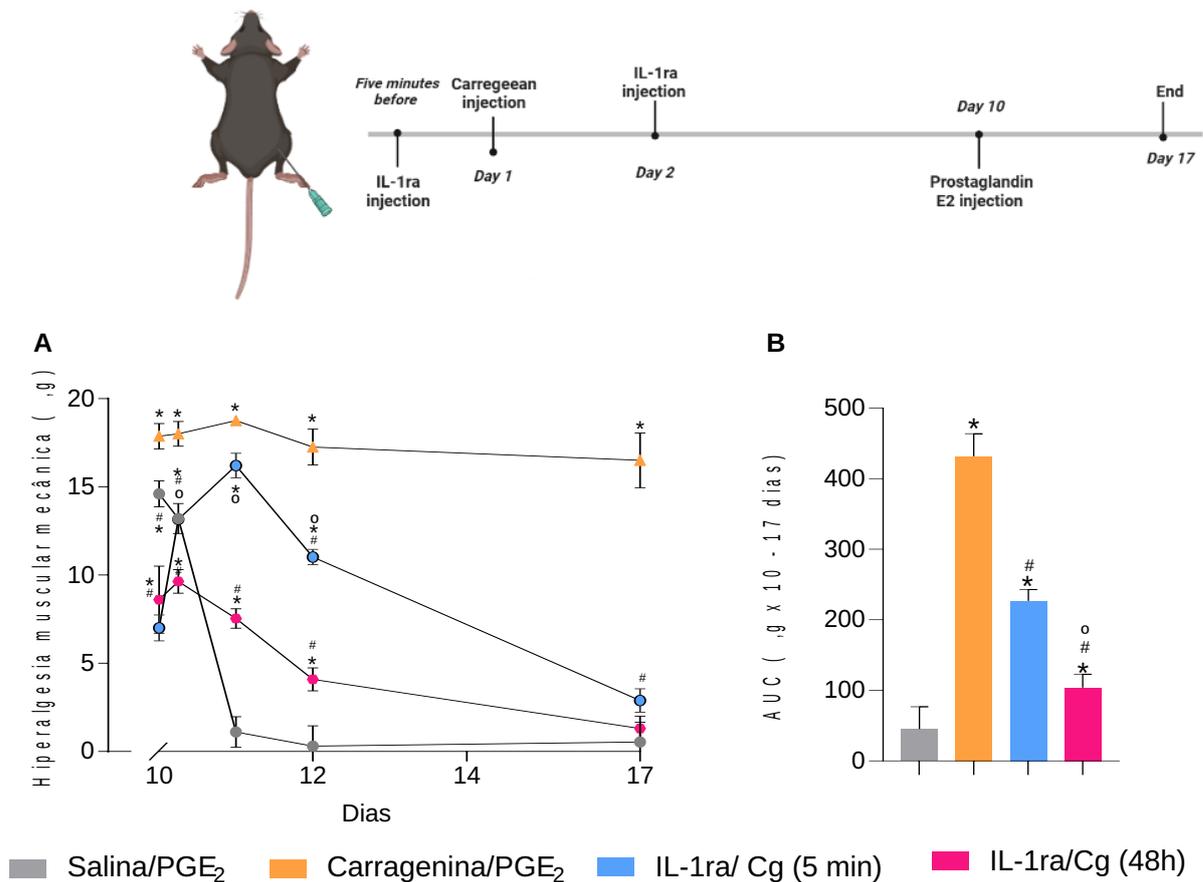


Figura 1. Envolvimento do antagonista IL-1ra no desenvolvimento e manutenção da dor muscular crônica. (A) A administração de PGE₂ em animais previamente sensibilizados pela carragenina (Cg) induz hiperalgesia muscular mecânica crônica quando comparado ao grupo controle tratado com salina+PGE₂. Os animais que receberam IL-1ra intramuscular 48h após ou 5 minutos antes da Cg

apresentaram redução da resposta hiperalgésica em todo período avaliado (10 a 17 dias após a administração de PGE₂) quando comparados aos animais controle tratados apenas com Cg. Há diferença entre os dois tratamentos quanto a intensidade da hiperalgesia durante o período avaliado. (B) Área sob a curva dos dados prévios. Os símbolos “*” indicam diferenças com o grupo salina+PGE₂, os símbolos “#” indicam diferenças com o grupo Cg+ PGE₂ e os símbolos “o” indicam diferença entre os grupos com IL-1ra.

O segundo objetivo específico do presente projeto era avaliar se haveria aumento na expressão do receptor IL1-R1 no neurônio aferente primário durante as fases aguda e crônica da hiperalgesia muscular. Para isso coletamos tecidos e iniciamos a padronização das análises de *Western Blotting*, entretanto, até o momento, não obtivemos resultados confiáveis.

CONCLUSÕES:

O presente estudo demonstrou que a citocina pró-inflamatória IL-1 β liberada na fase aguda da dor muscular de origem inflamatória está envolvida no desenvolvimento e, especialmente, manutenção da cronificação da dor muscular. Esse resultado é bastante interessante e evidencia a citocina IL-1 β como um possível alvo terapêutico para controle das dores musculares crônicas.

BIBLIOGRAFIA

- de Azambuja G, Jorge CO, Gomes BB, Lourenço HR, Simabuco FM, Oliveira-Fusaro MCG. Brain Behav Immun. (2021) Jul;95:462-476;
- Dina OA, Levine JD, Green PG (2008). J Pain 9:457–462
- Manchikanti L, et al., American Society of Interventional Pain Physicians (2009) Pain Physician 12:E35-70