



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS
INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS**

MARCIA DE MIGUEL

**ASPECTOS IMUNOLÓGICOS DE PACIENTES COM DOR
CRÔNICA**

Salvador
2013

MARCIA DE MIGUEL

**ASPECTOS IMUNOLÓGICOS DE PACIENTES COM DOR
CRÔNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção de grau de Mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

Orientador: Prof. Dr. Roberto José Meyer Nascimento

Co-orientador: Prof. Dr. Durval Campos Kraychete

Salvador
2013

M636 Miguel, Marcia de
Aspectos imunológicos de pacientes com dor crônica / Marcia de Miguel.
– Salvador: 2013.

87 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas)
– Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Roberto José Meyer Nascimento
Co-orientador: Prof. Dr. Durval Campos Kraychete

1. Dor Crônica. 2. Citocinas. 3. Linfócitos. 4. Sistema Imune. I.
Nascimento, Roberto José Meyer. II. Kraychete, Durval Campos. III.
Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. III. Título.

NLM WL704: QW504

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



ATA DA SESSÃO PÚBLICA DO COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO
PROCESSOS INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS

Aos três dias do mês de dezembro de dois mil e treze, reuniu-se em sessão pública o Colegiado do Programa de Pós- Graduação Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas com a finalidade de apreciar a **Defesa Pública de Dissertação** da Mestranda **Márcia de Miguel**, através da Comissão Julgadora composta pelos **Professores Roberto José Meyer Nascimento, Carlos Maurício Cardeal Mendes, e João Batista Santos Garcia**. O título da Dissertação apresentado foi **Perfil imunológico de pacientes com dor crônica**. Ao final dos trabalhos, os membros da mencionada Comissão Examinadora emitiram os seguintes pareceres:

Prof. Dr. Roberto José Meyer Nascimento Aprovado
Prof. Dr. Carlos Maurício Cardeal Mendes Aprovado
Prof. Dr. João Batista Santos Garcia Aprovado

Franqueada a palavra, como não houve quem desejasse fazer uso da mesma lavrou-se a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada por todos.

Salvador, 03 de dezembro de 2013

Prof. Dr. Roberto José Meyer Nascimento R. J. M.
Prof. Dr. Carlos Maurício Cardeal Mendes Cardeal
Prof. Dr. João Batista Santos Garcia João Batista

Aos meus pais, Maria Lucila e Luciano, pelo esforço da vida toda para que eu pudesse alcançar esse objetivo.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais pelo apoio incondicional em todos os momentos.

Ao meu marido Jeferson por toda a paciência e dedicação desde sempre e especialmente nos últimos dois anos críticos.

À minha família, que mesmo de longe, esteve sempre torcendo por mim.

Ao professor Roberto José Meyer Nascimento pelo esforço em estar sempre disponível.

Ao professor Durval Campos Kraychete que me estimulou em todos os momentos difíceis, nunca deixando de acreditar no meu trabalho.

A todos os funcionários do Ambulatório de Dor e do SAME do HUPES que sempre estiveram prontos para ajudar em qualquer necessidade.

A todos os funcionários do Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Instituto de Ciências da Saúde/UFBA, especialmente à colega Robércia Pimentel, que possibilitaram que a coleta de amostras e a execução dos exames corresse de forma extremamente organizada.

Aos colegas Rosa Guedes e Geraldo Pedral Sampaio que contribuíram para o estreitamento dos laços entre eu a imunologia com toda a atenção e paciência do mundo, inclusive com o trabalho “braçal intelectualizado”.

Ao meu amigo Alfredo Carlos da Silva, que, mesmo com tempo exíguo, conseguiu desvendar para mim os mistérios do mundo da estatística.

À bibliotecária Marilene Silva por toda a disposição em ajudar e pela competência em todos os momentos em que precisei.

Ao meu irmão Paulo Roberto de Miguel, revisor e tradutor da minha dissertação, que esteve sempre disponível e prestou um trabalho primoroso.

Aos meus amigos Bianca Mota, Edenia Santos, Guilliber Fonseca, Janayna Trench, Juliana Almeida, Núbia Rocha, Márcia Cristina Nascimento, Mariana Cedraz, Renata Almeida e Robson Suzart por todo apoio, especialmente nos momentos em que desistir parecia a melhor opção.

Aos meus colegas Igor Bandeira, Pedro Larocca e Martha de Jesus pela ajuda prestada em todos esses meses.

À professora Martha Castro pelas pérolas de sabedoria e pelo suporte emocional.

Ao professor Carlos Maurício Cardeal Mendes pela disponibilidade e atenção em todos os momentos em que precisei.

Ao professor Roberto Paulo Correia de Araújo que, de maneira incansável, buscou sempre aprimorar e qualificar o Programa de Pós-Graduação Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

A todas as pessoas que participaram como voluntários desta pesquisa.

A todos que, de uma forma ou de outra, contribuíram para que esse trabalho fosse realizado e que não foram citados por mero capricho da minha memória tão exigida nesses últimos meses.

Inexiste no mundo coisa mais bem distribuída que o bom senso, visto que cada indivíduo acredita ser tão bem provido dele que mesmo os mais difíceis de satisfazer em qualquer outro aspecto não costumam desejar possuí-lo mais do que já possuem. E é improvável que todos se enganem a esse respeito; mas isso é antes uma prova de que o poder de julgar de forma correta e discernir entre o verdadeiro e o falso, que é justamente o que é denominado bom senso ou razão, é igual em todos os homens; e, assim sendo, de que a diversidade de nossas opiniões não se origina do fato de serem alguns mais racionais que outros, mas apenas de dirigirmos nossos pensamentos por caminhos diferentes e não considerarmos as mesmas coisas.

René Descartes

RESUMO

A dor crônica é um problema de saúde pública, pois apresenta alta prevalência ao redor do mundo e está associada a prejuízos físicos, emocionais, sociais e laborais. Seu tratamento está associado a custos elevados e, em muitos casos, a resposta às alternativas terapêuticas atuais não são adequadas. O conhecimento da relação entre a dor crônica e o sistema imune ainda não é compreendida de forma ampla a fim de possibilitar o desenvolvimento de tratamentos mais efetivos. Apesar das tentativas anteriores de desvendar essa relação, os trabalhos realizados com humanos apresentam dados controversos e limitados. **Objetivo:** Esta pesquisa tem o objetivo de comparar os níveis séricos de citocinas inflamatórias e a fenotipagem de subpopulações de linfócitos de pacientes com dor crônica do Ambulatório de Dor do Hospital Universitário Professor Edgard Santos, em Salvador, e indivíduos sem dor. **Metodologia:** Foi realizado um estudo observacional do tipo inquérito epidemiológico e foram avaliados os níveis séricos das citocinas inflamatórias IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ , TNF- α pelo método de *Cytometric Bead Array* (CBA) (eBioscience/BD®) e a fenotipagem das subpopulações de linfócitos T CD4, T CD8, células NK e linfócitos B pelo método de citometria de fluxo Lymphogram® em sangue periférico de 20 pacientes com dor crônica e 10 indivíduos sem dor. **Resultados:** Com relação às citocinas, foram encontrados níveis elevados de IFN- γ e níveis reduzidos IL-10 no grupo com dor crônica quando comparado aos indivíduos sem dor. Não houve diferença entre os grupos quanto às citocinas IL-1 β , IL-4 e TNF- α e IL-6. Com relação à fenotipagem de linfócitos, a contagem de linfócitos T CD8 foi menor nos pacientes com dor crônica, enquanto que a contagem de células NK e linfócitos B no mesmo grupo foi maior que nos indivíduos sem dor. A contagem de T CD4 foi discretamente maior nos pacientes com dor crônica e o mesmo grupo mostrou aumento da relação CD4/CD8 quando comparado aos indivíduos sem dor. **Conclusão:** Apesar do número reduzido de indivíduos avaliados e do estudo não ter sido realizado com seleção aleatória, foi possível observar diferenças entre o perfil imunológico de pacientes com dor crônica quando comparados a indivíduos sem dor, conforme descreve a literatura. No entanto, estudos posteriores são necessários para melhor compreensão da relação entre o sistema imune e a dor crônica.

Palavras-chave: Dor Crônica. Citocinas. Linfócitos. Sistema Imune.

ABSTRACT

Chronic pain is a public health problem because it is highly prevalent worldwide and is associated with physical, emotional, social and employment issues. The treatment is associated with high costs and, in many cases, the answer to current therapeutic alternatives is not appropriate. The relation between chronic pain and immune system is not yet understood enough to allow the development of more effective treatments. Despite previous attempts to unravel this relationship, studies involving humans are controversial and present limited data. **Objective:** This study aims to compare the serum levels of inflammatory cytokines and phenotyping of lymphocyte subsets of patients with chronic pain from Pain Clinic of the University Hospital Professor Edgard Santos in Salvador and subjects without pain. **Methods:** An observational study of the epidemiological survey was conducted and were evaluated serum levels of inflammatory cytokines IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ , TNF- α by Cytometric Bead Array method (CBA) (eBioscience/BD®) and phenotyping of subpopulations of CD4 T lymphocytes, CD8 T lymphocytes, NK cells and B lymphocytes by flow cytometry method (Lymphogram®) in peripheral blood of 20 patients with chronic pain and 10 subjects without pain. **Results:** About cytokines, high levels of IFN- γ and reduced levels of IL-10 were found in the group with chronic pain compared to subjects without pain. There was no difference between the groups regarding the cytokines IL-1 β , IL-4 and TNF- α and IL-6. Regarding the phenotyping of lymphocytes, CD8 lymphocyte count was lower in patients with chronic pain, while B lymphocytes and NK cells count was even higher in subjects without pain. CD4 count was slightly higher in patients with chronic pain and the same group showed an increased CD4/CD8 ratio when compared to subjects without pain. **Conclusion:** Despite the small number of subjects evaluated and lack of random selection, we observed differences between the immunological profile of patients with chronic pain compared to subjects without pain, as described in the literature. However, further studies are needed for a better understanding of the relationship between the immune system and chronic pain.

Keywords: Chronic Pain. Cytokines. Lymphocytes. Immune System.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Desenho experimental.....	38
GRÁFICO 1 – Diagnóstico dos pacientes com dor crônica.....	45
GRÁFICO 2 – Escore na Escala Visual Analógica dos pacientes com dor crônica....	45

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Características da coleta de amostras de sangue.....	40
TABELA 2 - Caracterização dos grupos.....	44
TABELA 3 - Leucograma dos grupos.....	46
TABELA 4 - Comparação dos níveis séricos de citocinas entre os grupos.....	47
TABELA 5 - Relação entre os escores da EVA e os níveis séricos das citocinas pesquisadas no grupo com dor crônica.....	48
TABELA 6 - Comparação de VHS e PCR entre os grupos.....	48
TABELA 7 - Comparação da fenotipagem de linfócitos T CD4, T CD8, linfócitos B e células NK entre os grupos.....	49
TABELA 8 - Comparação da relação CD4/CD8 entre os grupos.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS, NOTAÇÕES E SIGLAS

5-HTTLPR -	Região polimórfica promotora do transportador da serotonina
AINES -	Anti-inflamatórios não esteroidais
AMPA -	α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato
CBA -	Cytometric Bead Array
CGRP -	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
CONEP/SISNEP -	Conselho Nacional de Ética em Pesquisa/Sistema Nacional de Ética em Pesquisa
DN4 -	Questionário para Diagnóstico de Dor Neuropática
EDTA -	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ELISA -	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EVA -	Escala Visual Analógica
IASP -	International Association for Study of Pain
IFN- γ -	Interferon gama
IL-1 β -	Interleucina 1beta
IL-4 -	Interleucina 4
IL-6 -	Interleucina 6
IL-8 -	Interleucina 8
IL-10 -	Interleucina 10
IL-17 -	Interleucina 17
IMC -	Índice de massa corpórea
NMDA -	N-metil-D-aspartato
NK -	Natural killer
PCR -	Proteína C reativa
PGE2 -	Prostaglandina 2
SNC -	Sistema Nervoso Central
SP -	Substância P
SPSS -	Statistical Package for the Social Sciences
SS -	Symptom Severity (gravidade de sintomas)
TCD8 -	Linfócitos T CD8
TCD4 -	Linfócitos T CD4
TCLE -	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
Th1 -	Linfócito T helper (auxiliar) tipo 1

Th2 -	Linfócito T helper (auxiliar) tipo 2
Th17 -	Linfócito T helper (auxiliar) tipo 17
TNF- α -	Fator de necrose tumoral alfa
T reg -	Linfócito T regulador
VHS -	Velocidade de hemossedimentação
WHO -	World Health Organization
WPI -	Widespread Pain Index (Índice de Dor Difusa)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 DOR CRÔNICA	18
2.1.1 <i>Epidemiologia da dor crônica</i>	18
2.1.2 <i>Impacto da dor crônica</i>	19
2.1.3 <i>Fisiopatologia da dor crônica</i>	20
2.2 RESPOSTA IMUNE.....	21
2.3 RESPOSTA IMUNE E DOR CRÔNICA.....	23
2.3.1 <i>Citocinas</i>	23
2.3.1.1 Fator de necrose tumoral α (TNF- α).....	23
2.3.1.2 Interleucina 1 β (IL-1 β).....	24
2.3.1.3 Interleucina 6 (IL-6).....	24
2.3.1.4 Interferon γ (IFN- γ).....	25
2.3.1.5 Interleucina 4 (IL-4).....	26
2.3.1.6 Interleucina 10 (IL-10).....	26
2.3.2 <i>Linfócitos T CD4, T CD8 e células NK</i>	27
3. HIPÓTESE.....	31
4. OBJETIVOS	33
4.1 OBJETIVO GERAL.....	34
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
5. METODOLOGIA.....	35
5.1 SELEÇÃO DE INDIVÍDUOS	36
5.1.1 <i>Critérios de inclusão</i>	36
5.1.2 <i>Critérios de não inclusão</i>	37
5.1.3 <i>Grupo de indivíduos sem dor crônica</i>	37
5.2 ASPECTOS ÉTICOS.....	39
5.3 AVALIAÇÃO INICIAL	39
5.4 COLETA DE AMOSTRAS SANGUÍNEAS.....	40
5.5 HEMOGRAMA, VELOCIDADE DE HEMOSSSEDIMENTAÇÃO E PROTEÍNA C REATIVA	41
5.6 DETERMINAÇÃO DE CITOCINAS	41
5.7 FENOTIPAGEM DE LINFÓCITOS T CD4, T CD8, B E CÉLULAS NK	41
5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
6. RESULTADOS	43
7. DISCUSSÃO	51
8. CONCLUSÃO.....	58
9. REFERÊNCIAS.....	60
APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....	70
APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO PARA ENTREVISTA INICIAL	75
APÊNDICE C - FICHA DE CRITÉRIOS PARA O DIAGNÓSTICO DE FIBROMIALGIA	77
ANEXO A - FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS	81

ANEXO B - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HUPES.....	82
ANEXO C - ESCALA VISUAL ANALÓGICA DE DOR	86
ANEXO D - QUESTIONÁRIO PARA DIAGNÓSTICO DE DOR NEUROPÁTICA (DN4)	87

1. INTRODUÇÃO

A dor é definida como uma experiência sensitiva e emocional desagradável associada a lesões reais ou potenciais ou descrita em termos de tais lesões. A dor é sempre subjetiva e cada indivíduo aprende a utilizar esse termo por meio de suas experiências (MERSKEY *et al.*, 1979).

A dor crônica é um sintoma comum e, apesar da variação de sua prevalência ao redor do mundo, dados atuais apontam que aproximadamente 30% da população mundial sofrem com a dor persistente (ELZAHAF *et al.*, 2012).

A perpetuação da dor ocasiona prejuízos importantes à saúde, ao trabalho e à vida diária. Também está associada a indicadores baixos de saúde e incapacidade, interferindo na qualidade de vida, incluindo aspectos sociais, familiares e profissionais (REID *et al.*, 2011; MOULIN *et al.*, 2002; SMITH *et al.*, 2001).

A complexidade dos mecanismos fisiopatológicos que explicam o início e a manutenção da dor dificulta, muitas vezes, a avaliação, o diagnóstico e o tratamento das síndromes dolorosas, que podem apresentar componentes inflamatórios, neuropáticos ou mistos.

O conhecimento sobre os mediadores e moduladores periféricos da dor e sua capacidade de ativação dos neurônios sensitivos foi o foco do estudo dos cientistas e contribuiu para que opções terapêuticas pudessem ser desenvolvidas. No entanto, é notório que as possibilidades farmacológicas de tratamento atual para a dor crônica apresentam limitações quanto à efetividade (MARCHAND *et al.*, 2005).

Na década passada surgiram evidências de que mediadores, como as citocinas, produzidos por células não neuronais, especialmente células imunológicas e gliais, estão envolvidos no aparecimento e na perpetuação dos estados dolorosos crônicos e desempenham um importante papel na modulação central e periférica da nocicepção (MCMAHON *et al.*, 2005; KOCH *et al.*, 2007).

A interação entre mediadores inflamatórios produzidos em neurônios aferentes e a ativação do sistema imune estão presentes em estados de dor persistente como na síndrome da dor complexa regional (SDCR) (BIRKLEIN *et al.*, 2001; SCHINKEL *et al.*, 2006).

Os sistemas de transporte das citocinas permitem a passagem dessas proteínas através da barreira hematoencefálica, afetando diretamente a função do sistema nervoso central (SAMAD *et al.*, 2001). As citocinas pró-inflamatórias provenientes do sangue periférico agem como mediadores humorais, levando à sensibilização central pela indução da ciclooxigenase 2 (COX-2) e da sintetase da prostaglandina E nas células da barreira hematoencefálica (KOCH *et al.*, 2007).

Alterações nos níveis séricos de citocinas são encontradas em quadros de dor neuropática, fibromialgia, enxaqueca e lombalgia, sugerindo que a intensidade da dor estaria relacionada diretamente à elevação das citocinas pró-inflamatórias no sangue periférico (ALEXANDER *et al.*, 2012; RODRIGUEZ-PINTÓ *et al.*, 2014; KRAYCHETE *et al.*, 2010, KOCH *et al.*, 2007).

Assim como os mediadores periféricos encontram-se alterados nos estados de dor crônica, as subpopulações de linfócitos associadas à produção de citocinas inflamatórias também parecem relacionar-se com a dor persistente, incluindo linfócitos T CD4, CD8 e células *natural killer* (NK) (KAUFMANN *et al.*, 2007b).

A despeito do conhecimento já disponível, os estudos em humanos ainda são escassos e apresentam resultados controversos, o que ainda gera conclusões inconsistentes.

Dessa forma, a melhor compreensão de como o sistema imune influencia na perpetuação da dor crônica é imprescindível para buscarmos respostas para a inefetividade dos tratamentos atuais, entendermos os motivos da refratariedade de um expressivo número de pacientes e encontrarmos novos alvos para o desenvolvimento de opções terapêuticas eficazes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DOR CRÔNICA

2.1.1 Epidemiologia da dor crônica

De acordo com a International Association for the Study of Pain (IASP), a dor crônica é definida como a dor sem valor biológico aparente, que persiste além do tempo normal de recuperação do tecido, usualmente até os três meses (IASP, 1986).

A dor crônica é um problema de saúde comum, no entanto, os estudos epidemiológicos mostram ampla variação da sua prevalência no mundo. A revisão sistemática sintetizada pela IASP (HARSTALL; OSPINA, 2003), que inclui o estudo multinacional conduzido pela Organização Mundial de Saúde (GUREJE *et al.*, 1998), estima a média ponderada de prevalência de dor crônica em 35,5%, com variação entre 11,5% e 55,2%.

Estudos realizados em Portugal, Canadá, Noruega, Irlanda, Dinamarca, Alemanha e Suécia revelam prevalências de 17,1%, 18,5%, 26%, 35,5%, 36,2%, 40% e 54,7% respectivamente (HARKER *et al.*, 2012; LANDMARK *et al.*, 2012; PERELMAM *et al.*, 2012; RAFTERY *et al.*, 2011; REITSMA *et al.*, 2011; FRIESSEM *et al.*, 2009). Uma revisão sistemática recente, que incluiu a análise da prevalência da dor crônica ao redor do mundo, concluiu que aproximadamente 30% da população mundial sofrem com essa queixa (ELZAHAF *et al.*, 2012).

Estudos conduzidos no Brasil, de forma geral, estão associados a condições específicas, conforme descreve Dellaroza e colaboradores (2013), que encontraram, em São Paulo, 29,7% da população idosa com dor crônica.

Em São Luís do Maranhão, 50% das mulheres e 28,36% dos homens são afetados pela dor crônica (VIEIRA *et al.*, 2012) e, em Salvador, um estudo transversal que utilizou uma amostra probabilística da população da cidade revelou a prevalência de 41,4% (SÁ *et al.*, 2009).

Mesmo considerando a variabilidade das medidas apuradas, é possível entender que o problema constitui uma questão de saúde pública.

A discrepância das taxas mencionadas pode ser atribuída a diversos fatores que incluem a divergência entre os conceitos de dor crônica adotados (HARSTALL; OSPINA, 2003), os vieses de seleção de indivíduos (WONG; FIELDING, 2011), as variações populacionais (WONG; FIELDING, 2011), a condução do estudo em situações específicas,

como clínicas especializadas (SÁ *et al.*, 2009), a localização, a etiologia e a intensidade da dor crônica pesquisadas (ELLIOTT *et al.*, 1999) e até mesmo as características culturais da população em questão (SÁ *et al.*, 2009).

2.1.2 Impacto da dor crônica

É também notório o elenco de prejuízos individuais e coletivos associados à dor crônica. Um estudo de revisão na população holandesa revelou que 54% das pessoas com dor crônica de moderada a intensa tinham algum prejuízo funcional, 46% não eram capazes de cuidar de si mesmas e 19% tinham o diagnóstico de depressão (BREIVIK *et al.*, 2006 *apud* BEKKERING *et al.*, 2011).

Vieira e colaboradores (2012) constataram que mulheres com dor crônica referiram trabalhar e divertir-se menos e, sentirem mais tristeza associada à dor. Isso gerou prejuízo à autoestima, aparecimento de isolamento social e redução das atividades de vida diária

Um grupo de pesquisadores alemães analisou a situação dos pacientes com dor crônica em seis serviços de atenção primária na cidade de Bochum em 2006, e descobriram que o lazer era prejudicado pela dor em 63,1% dos indivíduos, os cuidados com a casa em 54% e as atividades de higiene pessoal em 19% dos pacientes (FRIESSEM *et al.*, 2009).

A interferência nas atividades profissionais também aparece entre os prejuízos associados à dor crônica, promovendo o absenteísmo ao trabalho, a incapacidade temporária ou permanente e a elevação dos custos do sistema de saúde no cuidado de trabalhadores afetados (GUREJE *et al.*, 1998; PICALET; SCHOUTEN, 2003 *apud* SÁ *et al.*, 2009).

Portanto, é possível identificar a interferência direta da dor crônica na qualidade de vida, especialmente quando são realizadas avaliações com instrumentos específicos, que permitem a discriminação dessa interferência nos diversos domínios, como: capacidade funcional, aspectos físicos, dor propriamente dita, estado geral de saúde, vitalidade, aspectos sociais, aspectos emocionais e saúde mental (SMITH *et al.*, 2001).

A avaliação de custos associados à dor crônica também evidenciou dados relevantes. A comparação de custos diretos e indiretos de doenças associadas à dor crônica, como fibromialgia, lombalgia e espondilite anquilosante na Holanda, revelou um custo médio

anual por paciente de 7.813 euros para fibromialgia, 8.533 euros para lombalgia e 3.205 euros para espondilite anquilosante (BOONEN *et al.*, 2005).

Nos Estados Unidos, o custo total estimado relacionado à dor crônica ultrapassa 210 bilhões de dólares ao ano (NATIONAL RESEARCH COUNCIL MUSCULOSKELETAL DISORDERS AND THE WORKPLACE, 2001) e, no Reino Unido, estima-se que somente a dor lombar custe à sociedade de 26 a 49 bilhões de libras ao ano (MANIADAKIS; GRAY, 2000). No oeste da Irlanda, o custo anual por paciente foi de 24.043 dólares (GANNON *et al.*, 2013).

No Brasil há poucos trabalhos que avaliaram os custos relacionados ao tratamento da dor crônica. Estima-se que o custo médio mensal por paciente com medicamentos para o alívio da dor seja de 127,74 reais (de 5 a 780 reais) (VLAINICH *et al.*, 2010).

No caso da fibromialgia, o custo anual apurado por paciente em serviços de saúde privados nos Estados Unidos foi de 10.199 dólares, o dobro quando comparado ao grupo controle saudável (WHITE *et al.*, 2008).

Especificamente relacionado aos custos relacionados à dor neuropática, Parsons e colaboradores (2013) constataram que cada paciente teve custos diretos anuais de 11.846 dólares, entre medicamentos e hospitalizações, e 29.617 dólares, incluindo perda de produtividade devido ao prejuízo funcional.

2.1.3 Fisiopatologia da dor crônica

Sob condições normais, o processamento da dor consiste numa gama de eventos químicos que se iniciam com estímulos agressivos térmicos, mecânicos ou químicos que ativam as terminações nervosas das fibras sensitivas periféricas, ou seja, os nociceptores. Isso gera impulsos excitatórios pelos axônios aferentes até o corno posterior da medula espinhal, onde as fibras sensitivas se cruzam e ascendem até o córtex cerebral. No entanto, o processamento do estímulo doloroso constitui um sistema dinâmico com diversos caminhos, no qual a supressão ou amplificação pode ocorrer em qualquer um dos níveis de comunicação sináptica (MILLIGAN; WATKINS, 2009).

A dor aguda tem função protetora e adaptativa, induzindo a mudanças comportamentais e fisiológicas compatíveis com a recuperação e a preservação do indivíduo. Quando a lesão ou inflamação for prolongada, a excitação permanente dos neurônios

primários causará uma resposta patológica, que é a dor crônica, sem aparente valor biológico e que persistirá além do tempo normal de recuperação tecidual (MILLIGAN; WATKINS, 2009).

A história de trauma, de infecções virais, de doenças vasculares, de distúrbios endócrinos ou metabólicos, de deficiência nutricional e de processos inflamatórios ou autoimunes contribui para a lesão ou estimulação das vias nociceptivas. Assim, alterações em canais iônicos, receptores e sinapses nervosas, bem como na distribuição de neurotransmissores e neuromediadores, permitem que os neurônios periféricos e centrais atinjam o limiar de despolarização de forma precoce, gerando descargas ectópicas que se amplificam e ativam células vizinhas, caracterizando a dor crônica (KRAYCHETE *et al.*, 2006).

A literatura indica que as células imunes têm um importante papel como moduladoras da dor não somente em tecidos inflamados, mas também em nervos periféricos lesionados e no sistema nervoso central (SNC). Destaca-se também que as células da glia, além das funções de nutrição, proteção e isolamento dos neurônios do SNC, podem, quando ativadas, agir como células imunorresponsivas ou exercer efeito neuroprotetor. As células da glia podem contribuir para o surgimento e manutenção da dor crônica por meio da liberação de moléculas de sinalização glial e neuronal, como as citocinas IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α e IFN- γ (CALVO *et al.*, 2012; KRAYCHETE *et al.*, 2008; LEUNG; CAHILL, 2010; MARCHAND *et al.*, 2005; MILLIGAN; WATKINS, 2009; SCHOMBERG; OLSON, 2012; VALLEJO *et al.*, 2010; ZHU *et al.*, 2009).

2.2 RESPOSTA IMUNE

A defesa do corpo humano contra os micro-organismos é mediada pela resposta inicial da imunidade natural ou inata e pela resposta tardia da imunidade adquirida. Entre os principais atores da imunidade natural estão o epitélio e seu arsenal químico com potencial antibacteriano, as células fagocitárias (neutrófilos, macrófagos), as células NK (*natural killer*) – uma subpopulação de linfócitos, as proteínas do sistema complemento e outros mediadores de inflamação, e as citocinas – pequenas proteínas que regulam e coordenam as atividades das células da imunidade natural. A imunidade adquirida tem características de maior especificidade e diversidade, assim como memória a microorganismos já enfrentados

anteriormente, diferentemente da imunidade natural. A imunidade adquirida está essencialmente relacionada aos linfócitos e seus produtos, como os anticorpos. As substâncias estranhas que induzem respostas imunológicas específicas são chamadas de antígenos. (ABBAS *et al.*, 2012).

Os linfócitos têm a capacidade de reconhecer e responder especificamente a antígenos e dividem-se em duas subpopulações: as células B, que produzem anticorpos e são responsáveis pela imunidade humoral, e as células T, responsáveis pela imunidade mediada por células, sem a indução da produção de anticorpos. As células T podem ser subdivididas em pelo menos duas grandes classes que modulam a reação imunológica: os linfócitos T CD8 ou citotóxicos, que destroem a célula infectada por apoptose, e os linfócitos T CD4 ou auxiliares (*T helper*), que são intermediários na resposta imune. Ainda, os linfócitos T CD4 podem se diferenciar em células T auxiliares da classe 1 (LTCD4 Th1) ou da classe 2 (LTCD4 Th2) (ABBAS *et al.*, 2012).

As células Th1 secretam, predominantemente, a citocina interferon gama (IFN- γ), que ativa macrófagos, e, por consequência, estimula a produção de IL-1 β , IL-6 e o fator de necrose tumoral α (TNF- α), com potente efeito inflamatório local e sistêmico. As células T CD4 Th2 estão envolvidas na secreção de citocinas, como interleucina 4 (IL-4), interleucina 5 (IL-5), interleucina 13 (IL-13). No caso da interleucina 10 (IL-10), essa citocina é majoritariamente produzida por linfócitos T reguladores (T reg) e, eventualmente, por células TCD4 Th2. As citocinas IL-4 e IL-10 induzem a produção de anticorpos e apresentam perfil anti-inflamatório (MOALEM *et al.*, 2004). As células T CD8 e a maioria das células T CD4 Th1 deixam dos tecidos e ganham a circulação sistêmica (ABBAS *et al.*, 2012).

Além dos linfócitos circulantes, há também as células NK, que de acordo com o estímulo que recebem, produzem citocinas, principalmente IFN- γ , ativadora de macrófagos. O IFN- γ cria um sistema de retroalimentação positiva que amplia a resposta inflamatória, associada à ativação das células T. Agentes físicos e químicos também podem ser desencadeadores da resposta inflamatória (ABBAS *et al.*, 2012).

2.3 RESPOSTA IMUNE E DOR CRÔNICA

Dentre as citocinas e as células do sistema imune mais estudadas quanto à gênese e à perpetuação da dor crônica estão IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ , linfócito T CD4, linfócito T CD8 e células NK (AUSTIN; MOALEM-TAYLOR, 2010).

2.3.1 Citocinas

As citocinas são proteínas de baixo peso molecular, expressas na superfície celular na forma de precursores que, quando submetidos à clivagem, permitem a liberação rápida e a difusão para ação em outras células. Fisiologicamente, as citocinas anti-inflamatórias atuam como reguladores de retroalimentação negativa, mantendo o equilíbrio da resposta imune. Dessa forma, as síndromes de dor crônica podem correlacionar-se fortemente com o balanço entre citocinas pró e anti-inflamatórias.

Estudos prévios mostraram que pacientes com síndrome da dor complexa regional, neuropatia periférica e dor neuropática associada à lesão medular têm níveis séricos IL-6 e TNF- α aumentados e níveis de IL-4 e IL-10 reduzidos (DAVIES *et al.*, 2007; ÜÇEYLER *et al.*, 2007a; ÜÇEYLER *et al.*, 2007b). Os níveis séricos de IL-1 β , IL-2, IL-6, INF- γ e TNF- α aumentados se correlacionaram com o aumento da intensidade da dor em pacientes com dor crônica (KOCH *et al.*, 2007). Também foram encontrados níveis séricos de TNF- α e IL-6 aumentados em pacientes com lombociatalgia (KRAYCHETE *et al.*, 2010).

2.3.1.1 Fator de necrose tumoral α (TNF- α)

TNF- α é o protótipo da citocina pró-inflamatória pela capacidade de iniciar a cascata de ativação de outras citocinas e de fatores tróficos (KRAYCHETE *et al.*, 2006). Produzida por monócitos, macrófagos, linfócitos T, neurônios e células da glia, desempenha funções importantes tanto na hiperalgesia inflamatória quanto na neuropática (OLIVEIRA,

2011) e, nessa última, está envolvida nos estágios inicial e crônico (AUSTIN; MOALEM-TAYLOR, 2010).

As mudanças eletrofisiológicas resultantes da aplicação de TNF- α estão associadas à indução da hiperalgesia térmica e alodínia mecânica (ZELENKA, 2005 *apud* AUSTIN; MOALEM-TAYLOR, 2010).

Observa-se também que a sensibilidade do gânglio da raiz dorsal aumenta com o TNF- α exógeno após uma lesão em nervo periférico, mostrando que uma concentração prévia abaixo do limiar excitatório torna-se capaz de provocar dor de início muito mais rápido e na ausência de dor prévia (SCHAFERS *et al.*, 2003 *apud* AUSTIN; MOALEM-TAYLOR, 2010).

2.3.1.2 Interleucina 1 β (IL-1 β)

A IL-1 β é uma citocina pluripotente, produzida e secretada pelas células imunes incluindo macrófagos, monócitos e microglia sob condições de estresse. Essa citocina é um dos muitos agentes algio gênicos envolvidos na dor neuropática e, na periferia, a IL-1 β resulta em hiperalgesia prolongada e alodínia após administração intraplantar, intraperitoneal e intraneural (THACKER *et al.*, 2007).

A IL-1 β e o TNF- α liberados pelos astrócitos aumentam a excitabilidade sináptica e a condutividade dos receptores AMPA (α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato) e NMDA (N-metil-D-aspartato), como número desses receptores na superfície dos neurônios (BEATTIE *et al.*, 2002; STELLWAGEN; MALENKA, 2006).

2.3.1.3 Interleucina 6 (IL-6)

A IL-6 é uma citocina proeminentemente pró-inflamatória secretada por mastócitos, macrófagos, linfócitos, neurônios e células da glia, no entanto, em certas situações, ela pode modular respostas anti-inflamatórias (AUSTIN; MOALEM-TAYLOR, 2010). A literatura documenta a cascata de citocinas pró-inflamatórias iniciando com TNF- α ,

seguida pela estimulação de IL-1 β e a subsequente liberação de IL-6 (MCMAHON *et al.*, 2005) No entanto, essa sequência de eventos tem sido questionada desde que, após a ativação de células gliais da medula espinal, o bloqueio de IL-6 por anticorpos neutralizadores preveniu o aumento de IL-1 β e TNF- α na medula espinal lombar e no líquido cefalorraquidiano ao redor da mesma região (SCHOENIGER-SKINNER *et al.*, 2007). Dessa forma, parece que a IL-6 pode ter um papel mais proeminente na cascata de citocinas do que se pensou inicialmente.

Alguns experimentos também sugerem que a mediação da sensibilização do gânglio da raiz dorsal e do corno posterior da medula espinhal pode ser resultado da ação combinada, mas também independente das citocinas IL-1 β , TNF- α e IL-6 (KAWASAKI *et al.*, 2008; OZAKTAY *et al.*, 2006).

Apesar de o mecanismo exato pelo qual citocinas pró-inflamatórias aumentam a excitabilidade neuronal ainda não ter sido totalmente elucidado, os dados atuais sugerem que a sinalização tradicional do sistema imune, como a IL-1 β , o TNF- α e a IL-6, promove a comunicação neurônio-glia, resultando na dor patológica (SCHOLZ; WOOLF, 2007).

O estudo conduzido por Zhu e colaboradores (2009) revelou que os pacientes com herpes zóster que desenvolveram neuralgia pós-herpética posteriormente tiveram dor mais intensa e maiores concentrações séricas de IL-6 na fase aguda da infecção, quando comparados aos pacientes que não desenvolveram a dor neuropática.

2.3.1.4 Interferon γ (IFN- γ)

O IFN- γ é produzido predominantemente pelas células NK, bem como pelos linfócitos TCD4 Th1 e TCD8 (SCHOENBORN, 2007). No caso dos linfócitos TCD4, o IFN- γ está associado à diferenciação do LTCD4 Th0 em Th1, que produz mais IFN- γ , gerando uma retroalimentação positiva. Essa citocina ainda promove o aumento da excitabilidade no corno posterior da medular espinal pela redução dos estímulos inibitórios e, após a lesão em nervo periférico de ratos, o IFN- γ é secretado pelos astrócitos e neurônios danificados, bem como pela medula espinhal infiltrada por LTCD4 Th1, produzindo dor neuropática (AUSTIN; MOALEM-TAYLOR, 2010).

2.3.1.5 Interleucina 4 (IL-4)

A IL-4 é o protótipo da citocina anti-inflamatória, secretada por células T ativadas, mastócitos e granulócitos, e é conhecida por inibir IL-1 β , IL-6 e TNF- α . Ainda estimula a ativação de linfócitos B, a proliferação de linfócitos T e sua diferenciação no fenótipo Th2, bem como a supressão da ativação de macrófagos (AUSTIN; MOALEM-TAYLOR, 2010). Vários estudos sugerem que a IL-4 tem efeito anti-nociceptivo nos modelos de dor crônica. O pré-tratamento com IL-4 atenuou a resposta álgica à bradicinina e TNF- α e o efeito antinociceptivo foi associado à diminuição na produção de TNF- α e IL-1 β por macrófagos. Animais pré-tratados com IL-4 tiveram a hipersensibilidade à dor retardada quando submetidos à ligadura do nervo espinal e o pós-tratamento pôde reverter a dor pré-estabelecida. Esses efeitos foram acompanhados de diminuição da liberação de IL-1 β e prostaglandina E2 (PGE2). A IL-4 também promove a expressão de receptores opioides, o que pode explicar seu efeito analgésico (AUSTIN; MOALEM-TAYLOR, 2010).

2.3.1.6 Interleucina 10 (IL-10)

A IL-10 é secretada por células T e B ativadas, por macrófagos e por mastócitos e é considerada a mais poderosa citocina anti-inflamatória, inibindo a secreção de IL-1 β , IL-6 e TNF- α . Após lesão em nervo periférico em modelo animal, ocorre um aumento inicial da expressão de IL-10 uma hora após a lesão no nervo ciático e 24 horas após a lesão no gânglio da raiz dorsal. No entanto, ao longo do tempo ocorre uma elevação gradual na expressão da citocina que atinge seu pico após seis semanas (AUSTIN; MOALEM-TAYLOR, 2010).

A citocina IL-10 suprime os genes que codificam as citocinas pró-inflamatórias, prevenindo sua tradução e provocando uma regulação negativa sobre seus receptores (STRLE *et al.*, 2001 *apud* AUSTIN; MOALEM-TAYLOR, 2010).

2.3.2 Linfócitos T CD4, T CD8 e células NK

A identificação de linfócitos T no local da lesão nervosa em diversos estudos em animais sugere o envolvimento dessas células na gênese da dor neuropática (THACKER *et al.*, 2007). Em ratos congenitamente atímicos, com ausência de linfócitos T, observou-se a atenuação da alodínia e da hiperalgesia mecânicas e térmicas (MOALEM *et al.* 2004). Um estudo recente também mostrou a redução da alodínia mecânica em camundongos com os genes suprimidos para linfócitos T funcionais e submetidos à lesão do nervo ciático com preservação do ramo sural (COSTIGAN *et al.*, 2009). No entanto, por conta da heterogeneidade dos linfócitos T, com subpopulações de auxiliares (CD4) e citotóxicos (CD8), subdivididas em tipo 1 e tipo 2, de acordo com o perfil de citocinas expressas, o papel dessas células na dor neuropática ainda não parece muito claro. A transferência de linfócitos T auxiliares do tipo 1, produtores de citocinas pró-inflamatórias, aumentou a dor em ratos atímicos submetidos à lesão por constrição crônica. Por outro lado, a transferência de linfócitos T auxiliares tipo 2 produziu uma discreta redução da dor (MOALEM *et al.*, 2004). Outro estudo mostrou a ausência da alodínia mecânica em camundongos deficientes em linfócitos T e a discreta diminuição da alodínia mecânica em camundongos deficientes em linfócitos T CD4. No entanto, os efeitos geralmente são moderados e não parecem ser exclusivamente atribuíveis à ausência dos linfócitos T, mas provavelmente às alterações secundárias relacionadas à deficiência genética dessa célula, como a expressão de outros tipos celulares (MACHELSKA, 2011). Recentemente foi observada a ausência de correlação entre o limiar mais elevado de sensibilidade mecânica e a expressão de linfócitos T em camundongos com imunodeficiência combinada grave após lesão pelo modelo de constrição crônica (LABUZ *et al.*, 2010).

Com relação à contagem de linfócitos TCD4 e TCD8 em sangue periférico, um estudo mais antigo revelou aumento nas porcentagens de linfócitos TCD4 e TCD8 na fase aguda do herpes zóster, sem alteração de linfócitos TCD3+, resultando na redução da relação CD4/CD8 (HIGA *et al.*, 1992). Já o estudo de Zhu e colaboradores (2009) revelaram redução significativa das porcentagens de TCD4 e TCD8 em pacientes com herpes zóster quando comparados aos controles saudáveis. No entanto, não houve diferença na população de linfócitos entre os pacientes que, posteriormente, desenvolveram ou não neuralgia pós-herpética. Recentemente Xing e colaboradores (2013) mostraram que as porcentagens de linfócitos LTCD4 foram significativamente menores nos pacientes com qualquer grau de dor

na fase aguda da infecção por herpes zóster quando comparados aos controles saudáveis. Entre os pacientes com intensidades diferentes de dor na fase aguda, aqueles com dor mais intensa apresentaram porcentagens menores de linfócitos TCD4 quando comparados aos grupos com dor de grau leve e moderado. Ainda, os pacientes que desenvolveram neuralgia pós-herpética mostraram redução dos linfócitos TCD4 quando comparados aos pacientes sem dor neuropática e aos do grupo controle. A porcentagem de linfócitos TCD8 nos pacientes com herpes zóster foi discretamente maior que no grupo controle, porém não foi observada diferença significativa, em valores absolutos, entre os grupos de pacientes com herpes na fase aguda e também com relação ao grupo controle. A relação CD4/CD8 na fase aguda foi significativamente menor quando comparada ao grupo controle e também menor ainda no grupo com dor mais intensa. Os pacientes que desenvolveram dor neuropática posteriormente mostraram redução da relação CD4/CD8 quando comparados aos que não apresentaram a complicação tardia.

Em relação às células NK, Xing e colaboradores (2013) encontraram um aumento significativo nos pacientes com herpes zóster na fase aguda quando comparados ao controle. Os pacientes que, posteriormente, desenvolveram neuropatia pós-herpética apresentaram níveis mais elevados dessas células quando comparados aos que não desenvolveram a dor neuropática e ao grupo controle. Ao final, as evidências desse estudo indicaram que a redução de linfócitos T CD4 foi mais comum nos pacientes que tiveram dor intensa na fase aguda da infecção e que esses são mais propensos ao desfecho crônico da dor neuropática.

Com relação à fibromialgia, um estudo brasileiro avaliou a possibilidade de variações genéticas estarem associadas à heterogeneidade do quadro clínico apresentado pelos pacientes com esse diagnóstico. Foi analisada a expressão da região polimórfica promotora do transportador da serotonina (5-HTTLPR) e os pacientes foram subdivididos em grupo L (homozigoto LL) e grupo S (genótipo LS e SS), com avaliação do número absoluto de células NK, linfócitos TCD4 e linfócitos TCD8. Observou-se que não houve diferença significativa entre os grupos com fibromialgia e o grupo controle com relação ao CD4 e ao CD8. Em relação às células NK, somente os pacientes do grupo S mostraram níveis reduzidos e observou-se maior associação com a depressão (CARVALHO *et al.*, 2008). No entanto, alguns outros estudos associam a elevação dos níveis das células NK com maior prevalência da alteração de humor (ALCIATI *et al.*, 2007; IRWIN; GILLIN, 1987; SCHLEIFER *et al.*, 1999; SCHLEIFER *et al.*, 2006).

Entre as alterações neuronais responsáveis pela dor neuropática está a geração de impulsos ectópicos, o brotamento de fibras nervosas degeneradas em locais não usuais, o

brotamento de fibras do sistema nervoso periférico simpático, a diminuição da atividade ou perda dos neurônios inibitórios, a intensificação da atividade facilitadora descendente e a diminuição da atividade inibitória descendente da transmissão dolorosa (LEONARD *et al.*, 2009).

Essas alterações são acompanhadas por mudanças na síntese de neurotransmissores e na expressão e na sinalização de receptores e canais iônicos, levando à sensibilização periférica e central, que se caracteriza pela diminuição do limiar doloroso e aumento da resposta aos estímulos centrais e periféricos (MACHELSKA, 2011).

As alterações estruturais e químicas das fibras nervosas não são as únicas responsáveis pela perpetuação da dor neuropática. Por algum tempo se considerou que os mediadores inflamatórios produzidos pelas células imunológicas poderiam contribuir para a persistência da dor, porém evidências dessa relação emergiram apenas recentemente (MARCHAND *et al.*, 2005), indicando uma comunicação entre os sistemas imunológico e nervoso descrita anteriormente (SAFIEH-GARABEDIAN *et al.*, 2002). A interferência das células imunológicas no processo de inflamação, caracterizado por calor, rubor, edema e dor, há muito foi compreendida e, a partir de então, os anti-inflamatórios passaram a fazer parte do arsenal terapêutico com sucesso. No entanto, dados mais recentes indicam que tais células podem desempenhar importante papel na modulação da dor associada a lesões em nervos periféricos e no sistema nervoso central (MARCHAND *et al.*, 2005). A lesão inicial de uma fibra nervosa também obedece à cascata inflamatória que resulta no aumento da perfusão local, no aumento da permeabilidade capilar e na concentração e ativação das células imunológicas inatas. No entanto, substâncias imunoativas liberadas no local da lesão podem iniciar uma reação imunológica sistêmica pela ativação das células da micróglia e dos astrócitos, células gliais localizadas na medula espinhal e no cérebro, que parecem ter grande importância na nocicepção (KRAYCHETE; SAKATA, 2011; VALLEJO *et al.*, 2010). A ativação de mastócitos no nervo periférico lesionado desencadeia a liberação de histamina, proteases, citocinas e fatores neurotróficos capazes de excitarem diretamente os nociceptores e as células do gânglio da raiz dorsal e de facilitarem a ação de produtos algio gênicos, como a substância P (SP) e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), provocando assim dor espontânea em queimação (KRAYCHETE *et al.*, 2008). A depleção de neutrófilos circulantes antes da lesão experimental em nervo periférico atenua a hiperalgesia (ZUO *et al.*, 2003, *apud* KRAYCHETE *et al.*, 2008).

Apesar de o sistema inicial para a ativação da micróglia não estar totalmente esclarecido, com a persistência do estímulo agressivo local, as células gliais não seriam mais

capazes de manter a homeostase bioquímica, gerando a disfunção celular. Na dor neuropática, a microglia é ativada por vários neuromediadores, porém, acredita-se que existam algumas possibilidades para explicar o aparecimento da dor após essa ativação, entre elas a liberação de neurotransmissores excitatórios como prostaglandinas, óxido nítrico e as citocinas, com a ativação direta do aferente sensitivo. Ainda pode haver ativação do lado contralateral do corpo, por propagação de ondas de cálcio entre as junções neurais, facilitando a liberação de mediadores excitatórios (SPATARO, 2004 *apud* KRAYCHETE *et al.*, 2008). Novas pesquisas que estabelecem a relação entre a função neuroimune e a nocicepção estão focadas na compreensão do papel das citocinas e linfócitos no início e na manutenção da dor neuropática (KRAYCHETE; SAKATA, 2011).

3. HIPÓTESE

Pacientes com dor crônica, de etiologia neuropática ou fibromiálgica, com duração superior a três meses, apresentam alterações de resposta imune observadas nas concentrações séricas de citocinas, bem como nas subpopulações de linfócitos quando comparados a indivíduos sem dor crônica.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os níveis séricos de citocinas inflamatórias e realizar a fenotipagem de subpopulações de linfócitos de pacientes atendidos no Ambulatório de Dor do Hospital Universitário Professor Edgard Santos da Universidade Federal da Bahia (HUPES/UFBA) com dor crônica de etiologia neuropática ou fibromiálgica em comparação a indivíduos sem dor crônica.

Os pacientes com dor crônica foram selecionados entre aqueles com indicação de submeter-se ao tratamento com infusão intravenosa de lidocaína, uma vez que a avaliação realizada nesse estudo constitui-se na primeira parte da pesquisa que irá avaliar os níveis séricos de citocinas inflamatórias e realizar a fenotipagem de subpopulações de linfócitos antes, durante e após o tratamento com o anestésico local.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever características demográficas e sociais do grupo de pacientes com dor crônica e do grupo de voluntários sem dor crônica – sexo, idade, estado civil, fonte de renda, peso, altura, tabagismo, etilismo.
- Determinar o nível sérico das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6, TNF- α e IFN- γ nos dois grupos.
- Determinar o nível sérico das citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10 nos dois grupos.
- Realizar a fenotipagem de linfócitos T CD4, linfócitos T CD8, linfócitos B e células NK nos dois grupos.
- Relacionar a presença de dor crônica ao perfil imunológico encontrado.

5. METODOLOGIA

5.1 SELEÇÃO DE INDIVÍDUOS

Entre julho e setembro de 2013 os pacientes que aguardavam pelo tratamento com a lidocaína intravenosa (n=51) foram contatados via telefone e convidados a comparecer ao ambulatório para participar do estudo.

No momento da entrevista inicial, os pacientes foram esclarecidos verbalmente sobre os aspectos metodológicos e sobre a relevância do trabalho. Dessa forma, procedeu-se à entrevista com o objetivo de identificar critérios de não inclusão que, posteriormente também foram verificados com a consulta ao prontuário. Durante a entrevista também foi realizada a avaliação da intensidade de dor. Ao final dessa avaliação, os pacientes que preencheram os critérios de inclusão foram examinados pela equipe médica, com o objetivo de confirmar o diagnóstico informado pelo paciente e constante em prontuário.

Posteriormente foi confirmado o desejo do paciente em participar do estudo, esclarecidas suas possíveis dúvidas e feito um alerta sobre a possibilidade de desistência da participação a qualquer tempo, se assim fosse desejado. Ao final, todos os pacientes selecionados assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Posteriormente à seleção, foi agendada uma data conveniente ao paciente para a coleta de sangue, sempre no período da manhã, em jejum de 12 horas.

Foi garantido aos pacientes com dor crônica não selecionados ou que não aceitaram participar do estudo que não haveria prejuízo no tratamento.

Dessa forma, trata-se de um estudo observacional do tipo inquérito epidemiológico comparando o perfil imunológico de pacientes com dor crônica e indivíduos sem dor crônica.

Este inquérito é um estudo aninhado à pesquisa em andamento, que tem por objetivo avaliar o perfil imunológico dos pacientes submetidos ao tratamento com lidocaína intravenosa.

5.1.1 Critérios de inclusão

Foram selecionados os pacientes com dor crônica (mais de três meses), com intensidade de dor ≥ 4 na Escala Visual Analógica (EVA) de dor e que tinham sido tratados

por, pelos menos, três semanas com anticonvulsivantes e antidepressivos, em doses ótimas, sem alívio adequado.

Quanto à etiologia, foram selecionados os pacientes com dor de origem neuropática, confirmada por instrumento específico (Questionário para Diagnóstico de Dor Neuropática - DN4), traduzido e validado para o português por Santos e colaboradores (2010) ou com diagnóstico de fibromialgia, confirmada segundo os critérios do Colégio Americano de Reumatologia de 2010 (WOLFE *et al.*, 2010).

5.1.2 Critérios de não inclusão

Foram excluídos os pacientes com doenças inflamatórias ou sistêmicas, doenças autoimunes, história de alergia, história de discrasias sanguíneas, gravidez, infecções ativas, doença neoplásica, doenças endócrinas sem controle adequado.

Também foram excluídos os pacientes em uso de analgésicos opioides, anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) e corticosteroides, bem como aqueles com indisponibilidade para comparecer ao hospital para avaliação.

5.1.3 Grupo de indivíduos sem dor crônica

A fim de contar com a possibilidade de comparação dos parâmetros imunológicos avaliados, foi constituído um grupo de voluntários saudáveis que não sofriam de dor crônica. Esse grupo foi submetido à entrevista inicial, com o objetivo de atender aos critérios de exclusão e posteriormente às demais avaliações quanto ao perfil imunológico.

Abaixo é possível observar de forma gráfica as etapas do estudo (FIG. 1).

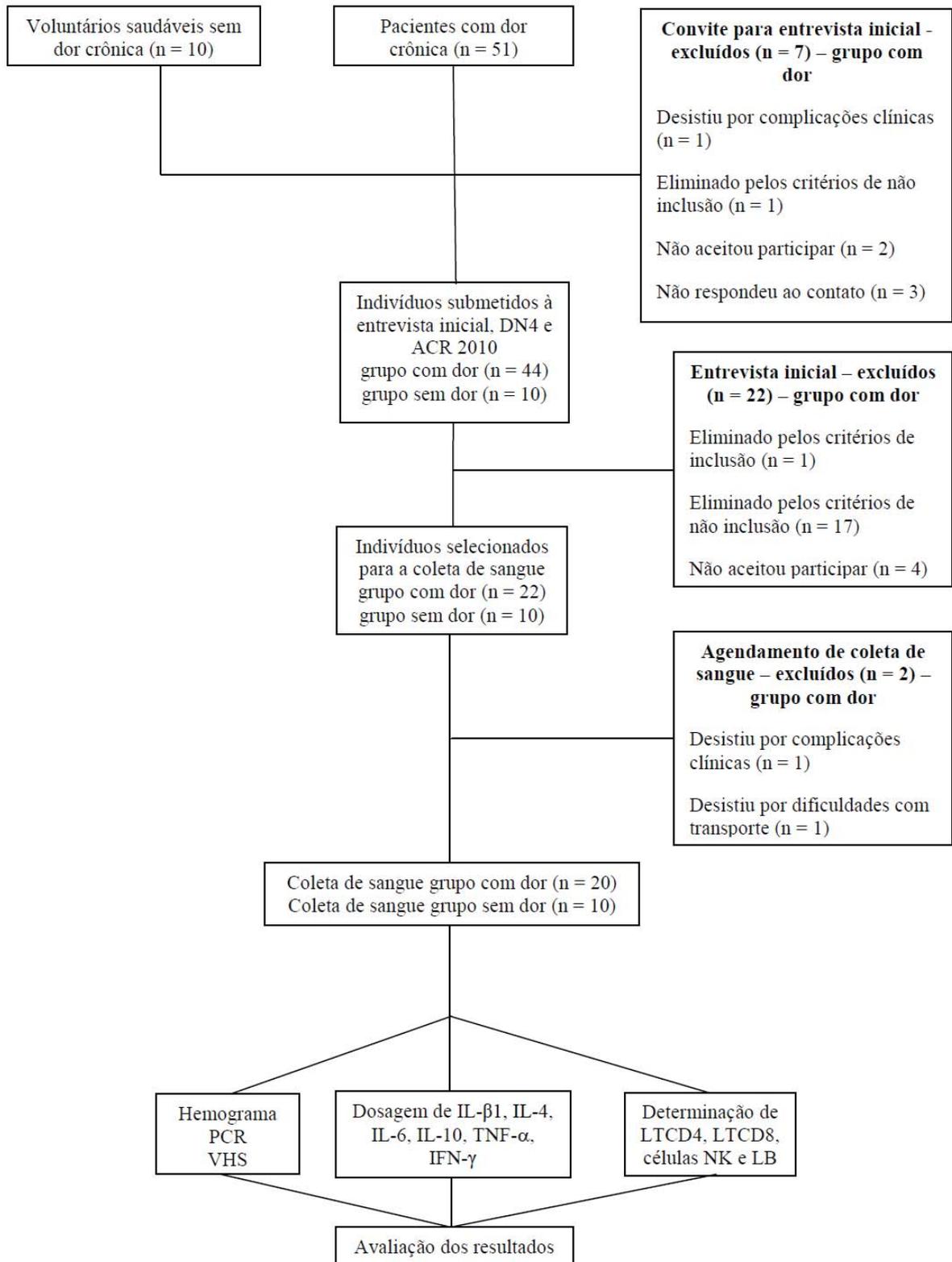


FIGURA 1- Desenho experimental

5.2 ASPECTOS ÉTICOS

Este trabalho foi registrado no CONEP/SISNEP/Ministério da Saúde sob a folha de rosto o nº 325.767 (ANEXO A), submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Professor Edgard Santos da Universidade Federal da Bahia e aprovado conforme parecer de nº 34/2013 e registro CAAE 05158913.2.0000.0049 (ANEXO B). A realização desta pesquisa utilizou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A), destinado a esclarecer os pacientes sobre a necessidade de coleta de amostras de sangue e assegurou-lhes a participação voluntária, assim como o sigilo sobre as informações obtidas e a possibilidade de desistência em qualquer momento, sem qualquer tipo de ônus para o participante.

5.3 AVALIAÇÃO INICIAL

A avaliação inicial dos participantes do estudo consistiu em entrevista, aferição de peso e altura, avaliação da intensidade da dor e confirmação dos diagnósticos de dor neuropática ou fibromiálgica.

A entrevista foi realizada com a aplicação de um questionário desenvolvido especialmente para esta pesquisa, com o objetivo de apurar informações como sexo, idade, estado civil, hábitos de vida, como tabagismo, etilismo e o consumo de substâncias entorpecentes lícitas e ilícitas, medicamentos em uso regular e eventual, antecedentes de saúde, gravidez, presença de comorbidades e a vigência de quadro inflamatório ou infeccioso atual (APÊNDICE B).

A aferição do peso e altura dos indivíduos da pesquisa foi realizada na entrevista inicial conforme preconizado pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2000).

A intensidade da dor no grupo de pacientes foi avaliada com o emprego da Escala Visual Analógica (EVA), que consiste numa linha horizontal ou vertical, com um comprimento de 10 centímetros, onde os extremos são demarcados como “sem dor” e “pior dor possível”. No verso da linha existe uma escala numérica de 11 pontos de 0 a 10, sendo que 0 corresponde ao descritor “sem dor” e 10 correspondendo ao descritor “pior dor possível”. O paciente deve assinalar na linha apresentada o ponto que melhor representa a dor

no momento da avaliação. A medição, em centímetros, do local assinalado pelo paciente determina a intensidade da dor (ANEXO C).

Além da consulta ao prontuário, todos os pacientes foram submetidos ao Questionário para Diagnóstico de Dor Neuropática - DN4, traduzido e validado para o português por Santos *et al.* (2010) (ANEXO D). A parte do instrumento referente à entrevista com o paciente foi realizada pelo pesquisador e a parte do instrumento referente ao exame físico foi realizada por médicos do Ambulatório de Dor do HUPES/UFBA.

Além da consulta ao prontuário, todos os pacientes foram submetidos à avaliação por médicos de Ambulatório de Dor do HUPES/UFBA, quanto à existência de critérios para o diagnóstico de fibromialgia, conforme a atualização do Colégio Americano de Reumatologistas em 2010 (WOLFE *et al.*, 2010). (APÊNDICE C).

5.4 COLETA DE AMOSTRAS SANGUÍNEAS

Foi realizada coleta de amostras sanguíneas do grupo de pacientes com dor e dos indivíduos sem dor crônica no período da manhã, após 12 horas de jejum, conforme o procedimento operacional padrão do Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Instituto de Ciências da Saúde/UFBA. As coletas foram realizadas em tubo de polietileno conforme TAB. 1:

TABELA 1
Características da coleta de amostras de sangue

Finalidade	Tipo de tubo	Volume coletado (mL)
Hemograma/velocidade de hemossedimentação	EDTA	5
Proteína C reativa	GEL	5
Dosagem de citocinas	GEL	5
Fenotipagem de linfócitos	EDTA	5

5.5 HEMOGRAMA, VELOCIDADE DE HEMOSSSEDIMENTAÇÃO E PROTEÍNA C REATIVA

O exame de hemograma foi realizado no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia pelo método automatizado de Cell-Dyn Ruby® da Abbott, seguindo-se as instruções do fabricante e utilizando sangue.

O exame de velocidade de hemossedimentação foi realizado no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia pelo método Wintrobe, utilizando sangue.

A determinação da concentração plasmática da proteína C reativa de alta sensibilidade foi realizada no Laboratório DNA®, conveniado ao Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia pelo método de quimioluminescência, utilizando soro.

5.6 DETERMINAÇÃO DE CITOCINAS

As dosagens das citocinas IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ e TNF- α no soro foram realizadas no Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia pelo método *Cytometric Bead Array* (CBA) (eBioscience/BD®). A leitura foi realizada no citômetro de fluxo BD FACS Calibur® (BD Biosciences) e os resultados em formato gráfico e tabular foram gerados no *software* FlowCytomix® Pro 3.0. Toda a técnica foi realizada de acordo com as instruções do kit e do equipamento.

5.7 FENOTIPAGEM DE LINFÓCITOS T CD4, T CD8, B E CÉLULAS NK

A fenotipagem dos linfócitos T CD4, T CD8, linfócitos B e células NK foi realizada no Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Instituto de Ciências da

Saúde da Universidade Federal da Bahia pelo método de citometria de fluxo, utilizando o kit comercialmente disponível Lymphogram® (Cytognos – Salamanca – Espanha) e o leucograma total, segundo instruções do fabricante, utilizando a plataforma dupla, o qual permite a contagem absoluta, simultaneamente, dos linfócitos CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD56⁺ e CD19⁺. As amostras marcadas foram adquiridas e analisadas no citômetro FACS Calibur® (BD Biosciences) com o software CellQuest® (BD). Os leucogramas foram realizados pelo método automatizado de Cell-DynRuby® da Abbott, seguindo instruções do fabricante.

5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Diante do procedimento de escolha dos pacientes não ter possibilitado o emprego de mecanismos aleatórios em sua seleção (sorteio), o que impede a utilização dos pressupostos da teoria da estimação estatística, os quais permitem a obtenção de uma medida adequada do erro-padrão e, conseqüentemente, da realização de inferência estatística, nenhuma estatística inferencial (teste estatístico de hipótese ou intervalo de confiança) foi utilizada, por serem completamente inadequadas ao contexto da teoria estatística inferencial e teorias de probabilidade que as sustentam, as quais não serão atendidas no presente estudo.

Os dados foram avaliados via análise descritiva. Para as variáveis categóricas, foram utilizadas frequências absolutas e relativas e, para as contínuas, ordinais e intervalares, optamos pelo estudo das medidas de tendências centrais e suas dispersões. Por último utilizamos o coeficiente de Spearman para avaliar a associação entre variáveis. O software utilizado para análise foi o Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 22.

6. RESULTADOS

A idade média dos pacientes com dor crônica foi de 48,15 anos, enquanto os indivíduos sem dor constituíram um grupo mais jovem, com a idade média de 31,40 anos. O grupo de pacientes com dor crônica caracterizou-se por 65% de mulheres, enquanto que 50% do grupo sem dor foi de indivíduos do sexo feminino (TAB. 2).

TABELA 2
Caracterização dos grupos

Características	Dor (n = 20)	Sem dor (n = 10)
Idade (anos)		
Média	48,15	31,40
Mediana	48,00	30,00
Desvio-padrão	12,69	6,67
Sexo (frequência)		
Masculino	7 (35%)	5 (50%)
Feminino	13 (65%)	5 (50%)
Ocupação (frequência)		
Amparo assistencial (BPC)	1 (5%)	
Aposentadoria por invalidez	6 (30%)	
Aposentadoria por tempo de serviço	2 (10%)	
Assalariado	2 (10%)	7 (70%)
Autônomo	1 (5%)	
Auxílio-doença	4 (20%)	
Auxílio-doença/pensão por viuvez	1 (5%)	
Bolsista		3 (30%)
Pensão por viuvez	1 (5%)	
Sem renda	2 (10%)	
Peso (kg)		
Média	71,57	75,64
Mediana	70,75	73,85
Desvio-padrão	14,68	15,23
Altura (m)		
Média	1,64	1,72
Mediana	1,62	1,69
Desvio-padrão	0,10	0,09
Estado civil		
Solteiro	9 (45%)	7 (70%)
Casado	7 (35%)	3 (30%)
Separado	2 (10%)	
Viúvo	2 (10%)	
Tabagismo		
Sim	3 (15%)	
Não	17 (75%)	10 (100%)
Etilismo		
Sim	1 (5%)	6 (60%)
Não	19 (95%)	4 (40%)
Abuso de substâncias psicoativas		
Sim		
Não	20 (100%)	10 (100%)

Enquanto que a totalidade dos indivíduos sem dor apresentou alguma fonte de renda relacionada à atividade laboral ou acadêmica, 70% dos pacientes com dor crônica estavam afastados do trabalho, necessitando de benefício previdenciário ou mesmo sem nenhuma fonte de renda (10%). O peso corporal médio dos indivíduos com dor foi de 71,57Kg, bem próximo ao peso médio do grupo sem dor, que foi de 75,64Kg. Quanto à altura, a média para o grupo com dor foi de 1,64m e para o grupo sem dor foi de 1,72m. A maior parte dos pacientes com dor crônica vive sem companheiro (90%), assim como aqueles do grupo sem dor crônica (70%). No grupo de indivíduos sem dor crônica não há tabagistas, enquanto que esses perfazem 15% do grupo com dor crônica. O consumo de bebidas alcoólicas é hábito de apenas 5% dos pacientes com dor, enquanto 60% daqueles sem dor crônica declaram-se etilistas. A ausência do abuso de substâncias psicoativas caracterizou tanto o grupo com dor como o que não apresentava dor crônica (TAB. 2).

A maior parte dos pacientes sofria de dor neuropática (GRAF. 1).

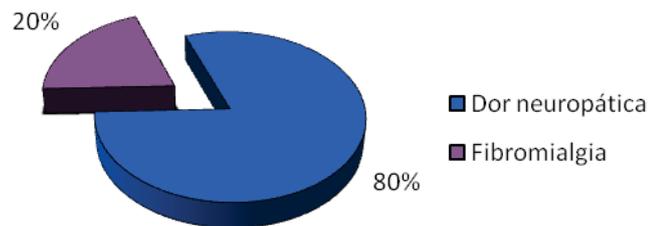


GRÁFICO 1 - Diagnósticos dos pacientes com dor crônica

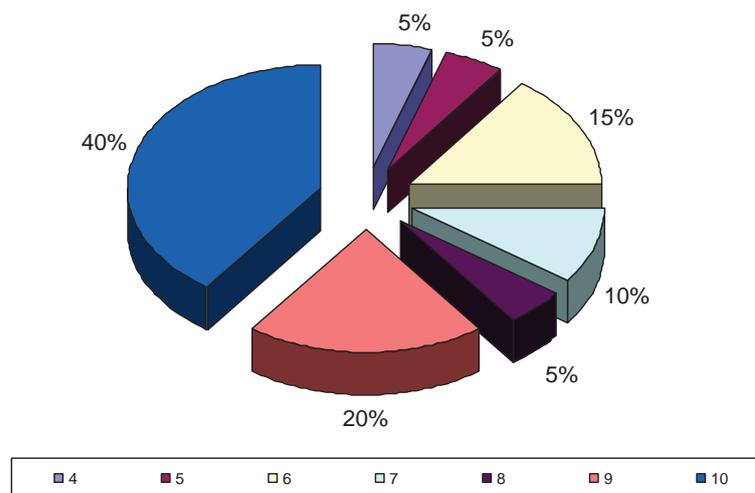


GRÁFICO 2 - Escore na Escala Visual Analógica dos pacientes com dor crônica

É possível observar que 75% dos pacientes avaliados apresentavam dor de intensa a insuportável (escore de 7 a 10) no momento da avaliação (GRAF. 2).

A avaliação do leucograma dos pacientes que sofrem com dor crônica frente ao grupo de indivíduos sem dor, mostrou que os níveis de todas as células analisadas estavam dentro da normalidade (TAB. 3).

TABELA 3
Leucograma dos grupos

Indicador	Estatística	Tipo	
		Com dor (n=20)	Sem dor (n=10)
Leucócitos total	Média (n° cél/mL)	6464,15	6714,80
	Desvio-padrão (n° cél/mL)	1768,95	1316,83
Linfócitos total	Média (n° cél/mL)	2225,00	2374,80
	Desvio-padrão (n° cél/mL)	691,13	502,93
Neutrófilos	Mediana (%)	55,50	54,00
Eosinófilos	Mediana (%)	2,00	3,00
Basófilos	Mediana (%)	1,00	1,00
Monócitos	Mediana (%)	6,50	6,50

Foram avaliadas as concentrações séricas das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6, TNF- α e INF- γ e das citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10 no grupo de pacientes que sofriam de dor crônica e no grupo de indivíduos sem dor (TAB. 4). O grupo de pacientes com dor crônica apresentou níveis séricos de IFN- γ maiores em 67,30% quando comparados ao grupo sem dor. Já com relação a IL-10, foram encontrados níveis reduzidos em 85,11% no grupo com dor quando comparados aos encontrados no grupo sem dor crônica. Para as demais citocinas não foram encontradas diferenças entre os dois grupos.

TABELA 4
 Comparação dos níveis séricos de citocinas entre os grupos

Citocina	Estatística	Tipo		Δ	Δ (%)
		Dor (n = 20)	Sem dor (n = 10)		
IFN- γ	Mediana(pg/mL)	240,62	78,68		67,30%
	1Q	0,00	0,00	161,94	
	3Q	599,92	429,92		
IL-10	Mediana(pg/mL)	78,19	144,74		-
	1Q	0,00	0,00	-66,55	85,11%
	3Q	430,63	518,12		
IL-6	Mediana(pg/mL)	0,00	0,00		
	1Q	0,00	0,00	0,00	0,00%
	3Q	0,00	27,99		
IL-4	Mediana(pg/mL)	0,00	0,00		
	1Q	0,00	0,00	0,00	0,00%
	3Q	67,79	95,28		
IL-1 β	Mediana(pg/mL)	0,00	0,00		
	1Q	0,00	0,00	0,00	0,00%
	3Q	11,76	7,57		
TNF- α	Mediana(pg/mL)	0,00	0,00		
	1Q	0,00	0,00	0,00	0,00%
	3Q	148,75	148,24		

Legenda: Δ = diferença entre grupo com dor e sem dor; Δ (%) = porcentagem de diferença entre grupo com dor e sem dor

Foi avaliada também a relação entre o escore obtido na aplicação da EVA do grupo de pacientes com dor crônica e os níveis séricos das citocinas pesquisadas (TAB. 5).

TABELA 5
Relação entre os escores da EVA e os níveis séricos das citocinas pesquisadas no grupo com dor crônica

Citocina	Correlação de Spearman
EVA x IFN- γ	-0,13
EVA x IL-10	0,17
EVA x IL-6	0,00
EVA x IL-4	0,34
EVA x IL-1 β	-0,36
EVA x TNF- α	0,30

Para IL-6, IL-10 e IFN- γ , observou-se uma correlação muito fraca entre os níveis séricos das citocinas e os escores da EVA, sendo que para IFN- γ a correlação foi negativa, ou seja, são inversamente proporcionais. No caso de IL-6 e IL-10, a correlação com o escore de dor foi positiva, ou seja, são diretamente proporcionais.

Para IL-1 β , IL-4 e TNF- α , observou-se uma correlação fraca entre os níveis séricos das citocinas e os escores da EVA, sendo que para IL-1 β a correlação foi negativa, ou seja, são inversamente proporcionais. No caso de IL-4 e TNF- α , a correlação foi positiva, ou seja, são diretamente proporcionais.

TABELA 6
Comparação de VHS e PCR entre os grupos

Indicador	Estatística	Tipo		Δ	Δ (%)
		Com dor (n = 20)	Sem dor (n = 10)		
VHS	Média	24,25	15,20	9,05	37,32%
	(mm na 1ª hora)				
	Desvio-padrão	10,29	7,36		
PCR	Média (mg/L)	2,38	2,79	-0,41	-17,15%
	Desvio-padrão	2,39	3,94		

Legenda: Δ = diferença entre grupo com dor e sem dor; Δ (%) = porcentagem de diferença entre grupo com dor e sem dor

A análise dos marcadores inespecíficos de inflamação VHS e PCR ultrassensível revelou o aumento de VHS em 37,32% no grupo de pacientes com dor quando comparados

ao grupo sem dor (TAB. 6). Quanto à PCR, os pacientes com dor apresentaram níveis 17,15% menores quando comparados ao grupo sem dor.

TABELA 7
Comparação da fenotipagem de linfócitos T CD4, T CD8, linfócitos B e células NK entre os grupos

Indicadores	Estatística	Tipo		Δ	Δ (%)
		Com dor (n=20)	Sem dor (n=10)		
CD4	Média (cél/ μ L)	2899,78	2979,70	-79,92	-2,76%
	Desvio- padrão	1065,67	830,35		
CD8	Média (cél/ μ L)	1615,72	2055,49	-439,77	-27,22
	Desvio- padrão	547,31	938,70		
NK	Média (cél/ μ L)	819,88	674,91	144,97	17,68%
	Desvio- padrão	385,04	351,74		
B	Média (cél/ μ L)	933,22	798,76	134,46	14,41%
	Desvio- padrão	437,95	167,05		

Legenda: Δ = diferença entre grupo com dor e sem dor; Δ (%) = porcentagem de diferença entre grupo com dor e sem dor

Quanto à fenotipagem dos linfócitos, não foi observada variação expressiva entre os valores absolutos de CD4, com uma redução de 2,76% no grupo com dor em relação ao sem dor crônica. A diferença da contagem de CD8 já foi mais expressiva, porém também

reduzida no grupo com dor quando comparado ao grupo de indivíduos sem dor crônica (27,22%). Em relação às células NK e aos linfócitos B, a contagem absoluta no grupo com dor foi maior em 17,68% e 14,41%, respectivamente, quando comparada à contagem do grupo sem dor crônica (TAB. 7).

TABELA 8
Comparação da relação CD4/CD8 entre os grupos

Indicadores	Estatística	Tipo		Δ	Δ (%)
		Com dor (n=20)	Sem dor (n=10)		
CD4/CD8	Média	1,92	1,64	0,28	14,58%
	Mediana	1,85	1,60		
	Desvio-padrão	0,74	0,62		
	Máximo	3,58	2,44		
	Mínimo	0,67	0,66		

Legenda: Δ = diferença entre grupo com dor e sem dor; Δ (%) = porcentagem de diferença entre grupo com dor e sem dor

Outro parâmetro do perfil imunológico é a relação entre linfócitos T CD4 e T CD8 e ESTE estudo encontrou uma redução de 14,58% da relação CD4/CD8 nos indivíduos sem dor crônica quando comparados àqueles que sofrem de dor persistente.

7. DISCUSSÃO

Um dos mais importantes avanços da pesquisa em neurociência foi a descoberta de uma extensa comunicação entre o sistema imune e o sistema nervoso central e que as citocinas pró-inflamatórias desempenham um importante papel nessa comunicação. A compreensão desses mecanismos pode contribuir de forma incisiva para o entendimento dos mecanismos imunológicos associados à dor crônica, especialmente à dor neuropática (SKAPER *et al.*, 2012).

O objetivo do presente estudo foi avaliar os níveis séricos das mais proeminentes citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias e as subpopulações de linfócitos encontradas em sangue periférico de pacientes com dor crônica de origem neuropática e fibromiálgica e compará-los com indivíduos sem dor crônica.

Participaram do estudo 20 pacientes que apresentaram escore ≥ 4 na escala visual analógica de dor (EVA). Essa escala é considerada sensível, simples, reproduzível e universal, isto é, pode ser entendida em muitas situações onde há diferenças culturais ou de linguagem do avaliador, clínico, examinador (SOUSA; SILVA, 2005). O estudo contou com um grupo comparativo de indivíduos saudáveis, que apresentaram escore = 0 na escala visual analógica de dor e foram isentos de qualquer um dos critérios de não inclusão. O grupo com dor foi constituído de 80% de pacientes com dor neuropática e 20% com fibromialgia (GRAF. 1), pois essas condições são bastante comuns no Ambulatório de Dor do HUPES e a literatura menciona diversos estudos que mostram a relação dessas com o sistema imune (CALVO *et al.*, 2012; KRAYCHETE *et al.*, 2008; LEUNG; CAHILL, 2010; LI *et al.*, 2013; MARCHAND *et al.*, 2005; MILLIGAN; WATKINS, 2009; SCHOMBERG; OLSON, 2012; ÜÇEYLER, 2007a,b; VALLEJO *et al.*, 2010; XING *et al.*, 2013; ZHU *et al.*, 2009).

O grupo de paciente com dor crônica mostrou-se com média de idade superior quando comparado àqueles sem dor. É possível que essa diferença tenha origem no fato de o grupo com dor incluir indivíduos com neuropatia diabética, neuropatia pós-herpética, lombociatalgia e fibromialgia, enfermidades que afetam indivíduos de meia-idade ou idosos (LÓPEZ-POUSA *et al.*, 2013; NIV; MALTSMAN-TSEIKHIN, 2005 *apud* XING *et al.*, 2013; SÁ *et al.*, 2009).

Houve predominância de pacientes do gênero feminino no grupo com dor (65%), o que poderia interferir na avaliação do comportamento da dor e sua intensidade (SÁ *et al.*, 2009), no entanto, essa distribuição foi bem semelhante a do grupo de indivíduos sem dor crônica (50%).

A comparação entre os pacientes com dor e os indivíduos saudáveis mostrou que 70% dos pacientes mantêm-se afastado do trabalho ou não tem fonte de renda, condição

ausente no grupo sem dor. Dessa forma, é possível observar, no grupo de pacientes com dor estudado, a interferência da dor intensa nas atividades laborais, conforme descrito em estudos conduzidos no Brasil e em outros países (FRIESSEM *et al.*, 2009; GARCIA *et al.*, 2013; GUREJE, 1998, PICALET; SCHOUTEN, 2003 *apud* SÁ *et al.*, 2009). Vale ressaltar que 75% dos pacientes apresentaram dor de intensa a insuportável no momento da entrevista (escore de 7 a 10 na EVA).

Com relação à aferição do peso corporal e altura, apesar das diferenças entre os grupos estudados, não foi realizada uma análise estratificada a fim de investigar a possível interferência da obesidade nos níveis de citocinas séricas. A obesidade é caracterizada por um estado de inflamação crônica, secundário aos níveis elevados de citocinas circulantes, como TNF- α (PRADO *et al.*, 2009), apesar de Hernandez e colaboradores (2010) afirmarem que os níveis de citocinas pró-inflamatórias em pacientes com fibromialgia são independentes do índice de massa corpórea (IMC). Vale destacar que a amostra utilizada no estudo mencionado foi mais robusta que a da presente pesquisa (n = 64 no grupo de pacientes com fibromialgia e n = 20 no grupo controle), porém o método de determinação das citocinas utilizado foi o ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) de captura. Além disso, o grupo de pacientes com dor deste estudo é constituído apenas de 20% de pacientes com o diagnóstico de fibromialgia.

Alterações imunológicas podem estar associadas ao tabagismo, ao consumo de álcool e de outras substâncias psicoativas (VINES *et al.*, 2003). Neste estudo foi observado que a maior parte dos pacientes com dor crônica não mantinha nenhum dos hábitos citados, no entanto, o consumo de álcool foi declarado por 60% do grupo de indivíduos sem dor.

Com relação à avaliação dos níveis séricos das citocinas, o resultado esperado seria que as citocinas pró-inflamatórias estivessem aumentadas e as anti-inflamatórias diminuídas nos pacientes com dor crônica. Estudos prévios encontraram níveis aumentados das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-2 e IL-6 e níveis reduzidos das citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10 na comparação entre pacientes com dor crônica e indivíduos saudáveis (DAVIES *et al.*, 2007; KRAYCHETE *et al.*, 2010; KOCH *et al.*, 2007; ÜÇEYLER *et al.*, 2007a,b). Nesta pesquisa foram encontrados níveis elevados de INF- γ no grupo de pacientes com dor crônica quando comparados ao grupo sem dor. Com relação a IL-10, observou-se redução dos níveis séricos no grupo com dor crônica quando comparados aos do grupo sem dor, o que também está de acordo com os relatos anteriores. Apesar dos grupos analisados não possibilitarem a avaliação estatística inferencial, vale destacar que a

quantidade de citocinas circulantes é bastante reduzida, dessa forma, a diferença encontrada pode ser considerada relevante.

Esta pesquisa também avaliou a possível relação entre os escores da EVA encontrados nos pacientes com dor crônica e os níveis séricos de citocinas, porém, apesar de ter sido observada uma correlação diretamente proporcional entre os níveis séricos de IL-6 e TNF- α e a intensidade de dor, essa correlação foi muito fraca.

As diferenças entre os dados encontrados e estudos anteriores podem estar relacionadas a alguns fatores associados às citocinas como a hora do dia em que ocorreu a coleta, considerando o ritmo circadiano e as variações no sangue periférico das citocinas pró-inflamatórias (KRAYCHETE *et al.*, 2010), além da própria síntese dessas proteínas, que depende de novas transcrições genéticas, transitórias e associadas a RNAm instáveis (ABBAS *et al.*, 2012). Diante dessa variabilidade, seria mais adequada a avaliação de duas amostras em momentos diferentes e a análise da mesma amostra por dois métodos distintos, como sugere Üçeyler e colaboradores (2011). Ainda, normalmente as citocinas estão associadas à ação autócrina (na mesma célula que a produz) ou à ação parácrina (ação em uma célula próxima). Uma exceção é a citocina TNF- α , que apresenta efeitos locais, mas também sistêmicos (ação endócrina) (ABBAS *et al.*, 2012).

Por outro lado, é possível também encontrar em outros estudos discrepâncias entre os níveis séricos das citocinas, considerando as diferenças metodológicas como técnicas de detecção, materiais analisados, avaliação de citocinas após utilização de estímulo de células produtoras das mesmas no sangue periférico, além da baixa qualidade de alguns deles (ÜÇEYLER *et al.*, 2011). Outro fator passível de influenciar os resultados de estudos anteriores é o um número reduzido de indivíduos, o que ocorreu no presente estudo (KRAYCHETE *et al.*, 2010; ÜÇEYLER *et al.*, 2011).

É também notável que os estudos publicados, assim como a pesquisa em questão, avaliam diversas citocinas, sem que se estude um possível papel de uma dessas proteínas específicas. Esse direcionamento poderia produzir dados mais relevantes.

Fatores que interferem nos níveis de citocinas como atividade física, infecções não diagnosticadas, utilização de medicamentos e tempo de doença devem ser investigados. Nesta pesquisa, a interferência da atividade física foi minimizada realizando-se a coleta de amostras sanguíneas pela manhã e após, pelo menos, uma hora de repouso. Ainda, no dia da coleta, nenhum dos indivíduos apresentava sinais ou sintomas de infecção e, a fim de avaliar essa possível interferência, foram realizadas provas inespecíficas de atividade inflamatória VHS e PCR (TAB. 6). Em relação à VHS, houve aumento no grupo de pacientes com dor

crônica, mas foi encontrada diferença bastante discreta com relação à PCR. Por ser uma prova inespecífica, a diferença na VHS pode estar relacionada ao estado inflamatório associado à dor, mas também a qualquer outro processo inflamatório em período prodromico. Ainda, por ser uma medida indireta de proteínas de fase aguda da inflamação, seu resultado pode ser impreciso (AGUIAR *et al.*, 2013).

Quanto aos medicamentos em uso, os pacientes foram orientados previamente a não utilizarem anti-inflamatórios hormonais e não hormonais e analgésicos opioides e a adesão à orientação foi questionada no momento da coleta da amostra. Foram mantidos todos os outros medicamentos prescritos para o tratamento da dor, como antidepressivos e anticonvulsivantes, por questões éticas. Apesar disso, a dificuldade de garantir a adesão às orientações repassadas pode ser uma das fragilidades desta pesquisa.

No presente estudo, também não houve a avaliação do tempo de doença de cada paciente.

Outro ponto importante a ser destacado é que a descoberta de uma nova população de linfócitos T helper, as células Th17, que produzem a citocina IL-17 com ação pró-inflamatória potente, tem sido associada à dor crônica em estudos com animais (KLEINSCHNITZ, 2006 *apud* AUSTIN; MOALEM-TAYLOR, 2010). Talvez a ampliação da avaliação incluindo essa citocina poderia fornecer dados mais esclarecedores. Ainda, a análise longitudinal dos indivíduos com dor com amostras maiores poderia produzir dados mais consistentes.

A comparação dos leucogramas entre pacientes com dor crônica e indivíduos saudáveis não mostrou discrepâncias com os parâmetros de normalidade, conforme constatado por Kaufmann e colaboradores (2007b), que também estudaram indivíduos com dor neuropática e fibromialgia e os comparou com indivíduos saudáveis.

A despeito da conhecida conexão com o sistema nervoso (BROGDEN *et al.*, 2005; ELENKOV *et al.*, 2000, 2005; HERBERT; COHEN, 1993; JOACHIM *et al.*, 2006; KAUFFMAN *et al.*, 2007a *apud* KAUFMANN *et al.*, 2007b), a informação sobre a distribuição das subpopulações de linfócitos em situações de estresse e dor é limitada (MARCHAND *et al.*, 2005) e dados sobre alterações nas subpopulações dos linfócitos associadas à dor crônica são inconsistentes (BUSSONE, 1992; LEONE, 1994 *apud* KAUFMANN *et al.*, 2007b).

As diferenças entre os pacientes com dor crônica e os indivíduos saudáveis na fenotipagem dos linfócitos T CD4, T CD8, células NK e linfócitos B observadas nesse estudo foram discretas.

A redução de linfócitos T CD4 no grupo de pacientes com dor crônica foi de apenas 2,76% em comparação ao grupo sem dor. Kaufmann e colaboradores (2007b) não observaram diferenças dos valores absolutos de linfócitos T CD4 entre um grupo de pacientes com dor crônica e indivíduos saudáveis. Já no estudo conduzido por Xing *et al.* (2013), os maiores escores de dor na EVA na fase aguda do herpes zóster ocorreram em pacientes que apresentaram menores níveis de linfócitos T CD4 e, posteriormente, desenvolveram dor neuropática. A neuropatia pós-herpética pode atingir até 30% dos pacientes acometidos pela infecção por herpes zóster. Nesse trabalho a atuação dos Treg foi avaliada e a elevação desses foi associada à diminuição de linfócitos T CD4 e ao aparecimento de dor neuropática. Os linfócitos reguladores são responsáveis pela supressão da ativação dos linfócitos T efetores nas infecções virais, assim, a redução da ação dos Treg provoca uma resposta vigorosa de linfócitos T CD4, que determina a eliminação do vírus com a redução da probabilidade de lesão nervosa. Diante disso, são necessários estudos com populações maiores que possam esclarecer a resposta imune associada à exposição de nervos lesionados, quando as barreiras sangue-nervo ou sangue-encéfalo são quebradas, conforme descreve Li *et al.* (2013). Os dados do estudo mencionado sugerem que os nervos periféricos têm maior probabilidade de causar uma resposta imune que o sistema nervoso central quando há exposição às células imunes. Talvez os nervos periféricos lesionados possam apresentar antígenos exógenos ao sistema imune e, dessa forma, desencadear uma inflamação crônica depois a lesão. Outros estudos mostram que a ativação de linfócitos B após a lesão medular pode desencadear uma autoimunidade sistêmica (ANKENY, 2006 *apud* LI *et al.*, 2013).

Houve uma redução de 27,22% nos valores absolutos de linfócitos T CD8 no grupo com dor crônica, em concordância com os achados de Kaufmann e colaboradores (2007b), que encontraram redução significativa da quantidade absoluta de linfócitos T CD8 em pacientes com síndrome da dor complexa regional (SDCR) e com fibromialgia, quando comparados a indivíduos saudáveis. ZHU e colaboradores (2009) encontraram redução de linfócitos T CD4 e T CD8 em pacientes na fase aguda da infecção por herpes zóster em comparação a indivíduos saudáveis, porém não houve diferença entre os grupos que posteriormente desenvolveram neuralgia pós-herpética, nem correlação do escore de dor da EVA na fase aguda com as subpopulações de linfócitos.

No tocante à relação CD4/CD8, foi constatado um aumento de 14,58% no grupo dos pacientes com dor crônica, resultado destoante do estudo de Kaufmann e colaboradores (2007b), que encontraram elevação dessa relação, porém somente em pacientes com SDCR, mas não naqueles com fibromialgia.

É interessante destacar que foi encontrada uma correlação positiva significativa na fase aguda da infecção por herpes zóster entre o escore de dor na EVA e os níveis séricos de IL-6. Como a citocina IL-6 é um marcador sensível e precoce de dano tissular, a elevação na fase aguda pode indicar uma possível lesão nervosa ou uma reação inflamatória excessiva que culmina com a dor neuropática, porém, esse mecanismo precisa ser mais bem compreendido.

Quanto às células NK, a associação negativa entre seu percentual e a dor, bem como a porcentagem reduzida de forma não significativa de células NK em pacientes com fibromialgia já foram descritas anteriormente, porém também em estudos com amostras reduzidas (LANDIS *et al.*, 2004; VINES *et al.*, 2003). Contrariamente, no caso da presente pesquisa, o grupo de pacientes com dor crônica apresentou valor absoluto de células NK 17,68% maior que aqueles sem dor. Talvez a avaliação de linfócitos reguladores (Treg) poderia esclarecer o papel das células imunes nos quadros de dor crônica. O estudo das células NK na neuralgia pós-herpética conduzido por Xing e colaboradores (2013) encontraram correlação positiva significativa entre a quantidade absoluta de células NK na fase aguda da infecção e o aparecimento da dor neuropática.

8. CONCLUSÃO

- Os níveis séricos da citocina pró-inflamatória INF- γ encontrados no grupo de pacientes com dor crônica estavam elevados quando comparados aos do grupo sem dor.
- Os níveis séricos da citocina anti-inflamatória IL-10 encontrados no grupo de pacientes com dor crônica estavam reduzidos quando comparados aos do grupo sem dor.
- Não houve diferença dos níveis séricos das citocinas pró-inflamatória IL-1 β , IL-6 e TNF- α , assim como nos níveis séricos da citocina anti-inflamatória IL-4 entre o grupo de pacientes com dor crônica e o grupo sem dor.
- O valor absoluto de linfócito T CD8 encontrado no grupo com dor crônica foi reduzido quando comparado ao do grupo sem dor, bem como houve discreta redução de linfócito T CD4 no primeiro grupo comparativamente.
- Os valores absolutos de células NK e linfócitos B encontrados no grupo com dor crônica foram elevados quando comparados aos do grupo sem dor.
- A relação CD4/CD8 encontrada no grupo com dor crônica foi elevada quando comparada à relação do grupo sem dor.

9. REFERÊNCIAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**, Rio de Janeiro, 7. ed. Elsevier, 2012.

AGUIAR, F.J.B. et al. Proteína C reativa: aplicações clínicas e propostas para utilização racional. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 59, n. 1, p. 85-92, 2013.

ALCIATI, A. et al. Major depression-related immunological changes and combination antiretroviral therapy in HIV-seropositive patients. **Hum. Psychopharmacol.**, Chichester, v. 22, n. 1, p. 33–40, 2007.

ALEXANDER, G.M. et al. Changes in plasma cytokines and their soluble receptors in complex regional pain syndrome. **J. Pain.**, Philadelphia, v. 13, n. 1, p. 10-20, 2012.

ANKENY, D.P. et al. Spinal cord injury triggers systemic autoimmunity: Evidence for chronic B lymphocyte activation and lupus-like autoantibody synthesis. **J. Neurochem.**, Oxford, v. 99, n. 4, p. 1073-1087, 2006.

AUSTIN, P.J.; MOALEM-TAYLOR, G. The neuro-immune balance in neuropathic pain: involvement of inflammatory immune cells, immune-like glial cells and cytokines. **J. Neuroimmunol.**, Amsterdam, v. 229, n. 1-2, p. 26-50, 2010.

BEATTIE, E.C. et al. Control of synaptic strength by glial TNF α . **Science**, Washington, v. 295, n. 5563, p. 2282–2285, 2002.

BEKKERING, G.E. et al. Epidemiology of chronic pain and its treatment in The Netherlands. **Neth. J. Med.**, Haarlem, v. 69, n. 3, p. 141-153, 2011.

BIRKKEIN, F. et al. The important role of neuropeptides in complex regional pain syndrome. **Neurology**, Minneapolis, v. 57, n. 12, p. 2179-84, 2001.

BOONEN, A. et al. Large differences in cost of illness and wellbeing between patients with fibromyalgia, chronic low back pain, or ankylosing spondylitis. **Ann. Rheum. Dis.**, London, v. 64, n. 3, p. 396-402, 2005.

BREIVIK, H. et al. Survey of chronic pain in Europe: : prevalence, impact on daily life, and treatment. **Eur. J. Pain**, Chichester, v. 10, n. 4, p. 287-333, 2006.

BROGDEN, K.A. et al. The nervous system and innate immunity: the neuropeptide connection. **Nat. Immunol.**, New York, v. 6, n. 6, p.558–564, 2005.

BUSSONE, G. et al. Immunological alterations in cluster headache during remission and cluster period. Comparison with low back pain patients. **Cephalalgia**, London, v. 12, n. 4, p. 250-3, 1992.

CALVO, M.; DAWES, J.M.; BENNETT, D.L. The role of the immune system in the generation of neuropathic pain. **Lancet Neurol.**, London, v. 11, n. 7, p. 629-642, 2012.

- CARVALHO, L.S. et al. May genetic factors in fibromyalgia help to identify patients with differentially altered frequencies of immune cells? **Clin. Exp. Immunol.**, Oxford, v. 154, n. 3, p. 346-352, 2008.
- COSTIGAN, M. et al. T-cell infiltration and signaling in the adult dorsal spinal cord is a major contributor to neuropathic pain-like hypersensitivity. **J. Neurosci.**, Baltimore, v. 29, n. 46, p. 14415-14422, 2009.
- DAVIES, A.L.; HAYES, K.C.; DEKABAN, G.A. Clinical correlates of elevated serum concentrations of cytokines and autoantibodies in patients with spinal cord injury. **Arch. Phys. Med. Rehabil.**, Philadelphia, v. 88, n. 11, p. 1384–1393, 2007.
- DELLAROZA, M.S. et al. Dor crônica em idosos residentes em São Paulo, Brasil: prevalência, características e associação com capacidade funcional e mobilidade (Estudo SABE). **Cad. Saude Publica**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 2, p. 325-334, 2013.
- ELENKOV, I.J. et al. Cytokine dysregulation, inflammation and well-being. **Neuroimmunomodulation**, Basel, v. 12, n. 5, p. 255–269, 2005.
- ELENKOV, I.J. et al. The sympathetic nerve – an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. **Pharmacol. Rev.**, Bethesda, v. 52, n. 4, p. 595–638, 2000.
- ELLIOTT, A.M. et al. The epidemiology of chronic pain in the community. **The Lancet**, London, v. 354, n. 9186, p. 1248-1252, 1999.
- ELZAHAF, R.A. et al. The prevalence of chronic pain with an analysis of countries with a Human Development Index less than 0.9: a systematic review without meta-analysis. **Curr. Med. Res. Opin.**, London, v. 28, n. 7, p. 1221-1229, 2012.
- FRIESSEM, C.H.; WILLWEBWE-STRUMPF, A.; ZENZ, M.W. Chronic pain in primary care. German figures from 1991 and 2006. **BMC Public Health**, London, v. 9, n. 2, 2009.
- GANNON, B. et al. The Cost of Chronic Pain: An Analysis of a Regional Pain Management Service in Ireland. **Pain Med.**, Malden, v. 14, n. 10, 1518-1528, 2013.
- GARCIA, B.T; VIEIRA, E. B.M.; GARCIA, J.B.S. Relação entre dor crônica e atividade laboral em pacientes portadores de síndromes dolorosas. **Rev. Dor**, São Paulo, v. 14, n. 3, p. 204-209, 2013.
- GUREJE, O. et al. Persistent pain and well-being. A World Health Organization Study in Primary Care. **JAMA**, Chicago, v. 280, n. 2, p. 147-151, 1998.
- HARKER, J. et al. Epidemiology of chronic pain in Denmark and Sweden. **Pain Res. Treat.**, New York, v. 2012, 30 p., 2012. doi:10.1155/2012/371248
- HARSTALL, C.; OSPINA, M. How prevalent is chronic pain. **Pain Clinical Updates**, Seattle, v. 11, n. 2, 2003.

HERBERT, T.B.; COHEN, S. Stress and immunity in humans: a meta-analytic review. **Psychosom. Med.**, Hagerstown, v. 55, n. 4, p. 364–379, 1993.

HERNANDEZ, M.E. et al. Proinflammatory cytokine levels in fibromyalgia patients are independent of body mass index. **BMC Res. Notes**, London, v. 3, n. 1, p. 156-160, 2010.

HIGA, K. et al. T-lymphocyte subsets in otherwise healthy patients with herpes zoster and relationships to the duration of acute herpetic pain. **Pain**, Amsterdam, v. 51, n. 1, p. 111-118, 1992.

INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF PAIN. Classification of chronic pain. Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. Prepared by the International Association for the Study of Pain, Subcommittee on Taxonomy. **Pain Suppl.**, Amsterdam, Suppl. 3, p. S1–S226, 1986.

IRWIN, M.; GILLIN, J.C. Impaired natural killer cell activity among depressed patients. **Psychiatry Res.**, Limerick, v. 20, n. 2, p. 181–182, 1987.

JOACHIM, R.A. et al. Upregulation of tumor necrosis factor-alpha by stress and substance P in a murine model of allergic airway inflammation. **Neuroimmunomodulation**, Basel, v. 13, n. 1, p. 43–50, 2006.

KAUFMANN, I. et al. Lymphocyte subsets and the role of Th1/Th2 balance in stressed chronic pain patients. **Neuroimmunomodulation**, Basel, v.14, n. 5, p. 272-80, 2007b.

KAUFMANN, I. et al. Psychoneuroendocrine stress response may impair neutrophil function in complex regional pain syndrome. **Clin. Immunol.**, Orlando, v. 125, n. 1, p. 103–111, 2007a.

KAWASAKI, Y. et al. Cytokine mechanisms of central sensitization: distinct and overlapping role of interleukin-1 β , interleukin-6, and tumor necrosis factor- α in regulating synaptic and neuronal activity in the superficial spinal cord. **J. Neurosci**, Washington, v. 28, n. 20, p. 5189–5194, 2008.

KLEINSCHNITZ, C. et al. T cell infiltration after chronic constriction injury of mouse sciatic nerve is associated with interleukin-17 expression. **Exp Neurol**, Orlando, v. 200, n. 2, p. 480-485, 2006.

KOCH, A. et al. Nitric oxide and pro-inflammatory cytokines correlate with pain intensity in chronic pain patients. **Inflam. Res.**, Basel, v. 56, n. 1, p. 32-37, 2007.

KRAYCHETE, D.C.; CALASANS, M.T.A.; VALENTE, C.M.L. Citocinas pró-inflamatórias e dor. **Rev. Bras. Reumatol.**, São Paulo, v. 46, n. 3, p. 199-206, 2006.

KRAYCHETE, D.C.; GOZZANI, J.L.; KRAYCHETE, A.C. Dor neuropática: aspectos neuroquímicos. **Rev. Bras. Anestesiol.**, Rio de Janeiro, v. 58, n. 5, p. 492-505, 2008.

KRAYCHETE, D.C.; SAKATA, R.K. Neuropatias periféricas dolorosas. **Rev. Bras. Anestesiol.**, Rio de Janeiro, v. 61, n. 5, p. 649-658, 2011.

- KRAYCHETE, D.C. et al. Os níveis de citocinas em pacientes com dor lombar crônica, devido à hérnia de disco: Estudo transversal analítico. São Paulo **Méd. J.**, São Paulo, v. 128, n. 5, p. 259-262, 2010.
- LABUZ, D. et al. T lymphocytes containing beta-endorphin ameliorate mechanical hypersensitivity following nerve injury. **Brain Behav. Immun.**, San Diego, v. 24, n. 7, p. 1045-1053, 2010.
- LANDIS, C.A. et al. Pain, psychological variables, sleep quality, and natural killer cell activity in midlife women with and without fibromyalgia. **Brain Behav Immun**, Orlando, v. 18, n. 4, p. 304-313, 2004.
- LANDMARK, T. et al. Estimating the prevalence of chronic pain: validation of recall against longitudinal reporting (the HUNT pain study). **Pain**, Amsterdam, v. 153, n. 7, p. 1368-1373, 2012.
- LEONARD, G. et al. Evidence of descending inhibition deficits in atypical but not classical trigeminal neuralgia. **Pain**, Amsterdam, v. 147, n. 1-3, p. 217-223, 2009.
- LEONE, M. et al. Leukocyte subsets and cortisol serum levels in patients with migraine without aura and chronic tension-type headache. **Cephalalgia**, London, v. 14, n. 2, p. 139-142, 1994.
- LEUNG, L.; CAHILL, C.M. TNF-alpha and neuropathic pain-a review. **J. Neuroinflammation**, London, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2010.
- LI, J. et al. Nerve injury-related autoimmunity activation leads to chronic inflammation and chronic neuropathic pain. **Anesthesiology**, Philadelphia, v. 118, n. 2, p. 416-429, 2013.
- LÓPEZ-POUSA, S. et al. Development of a multidimensional measure of fibromyalgia symptomatology: The comprehensive rating scale for fibromyalgia symptomatology. **J Psychosom. Res.**, Oxford, v. 74, n. 5, p. 384-392, 2013.
- MACHELSKA, H. Dual peripheral actions of immune cells in neuropathic pain. **Arch Immunol. Ther. Exp.**, Warszawa, v. 59, n.1, p. 11-24, 2011.
- MANIADAKIS, N.; GRAY, A. The economic burden of back pain in the UK. **Pain**, Amsterdam, v. 84, n. 1, p. 95-103, 2000.
- MARCHAND, F.; PERRETTI, M.; MCMAHON, S.B. Role of the immune system in chronic pain. **Nat. Rev. Neurosci.**, London, v. 6, n.7, p. 521-532, 2005.
- MCMAHON, S.B.; CAFFERTY, W.B.; MARCHAND, F. Immune and glial cell factors as pain mediators and modulators. **Exp. Neurol.**, Orlando, v. 192, n. 2, p. 444-462, 2005.
- MEASE, P. et al. Fibromyalgia syndrome module at OMERACT 9: domain construct. **J. Rheumatol.**, Toronto, v. 36, n. 10, p. 2318-2329, 2009.

MILLIGAN, E.D.; WATKINS, L.R. Pathological and protective roles of glia in chronic pain. **Nat. Rev. Neurosci.**, London, v. 10, n. 1, p. 23-36, 2009.

MOALEM, G.; XU, K.; YU, L. T-lymphocytes play a role in neuropathic pain following peripheral nerve injury in rats. **Neuroscience**, Oxford, v. 129, n. 3, p. 767-777, 2004.

MOULIN, D.E. et al. Chronic pain in Canada - prevalence, treatment, impact and the role of opioid analgesia. **Pain Res. Manag.**, Oakville, v. 7, n. 4, p. 179-84, 2002.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL MUSCULOSKELETAL DISORDERS AND THE WORKPLACE. **Musculoskeletal Disorders and the Workplace: low back and upper extremities**. Commission on Behavioral and Social Sciences and Education, National Research Council and Institute of Medicine. Washington, DC, USA: National Academy Press, 2001.

NIV, D.; MALTSMAN-TSEIKHIN, A. Postherpetic neuralgia: the never-ending challenge. **Pain Pract.**, Malden, v. 5, n. 4, p. 327-340, 2005.

OLIVEIRA, C.M.B. et al. Citocinas e dor. **Rev. Bras. Anesthesiol.**, Rio de Janeiro, v. 61, n. 2, p. 255-265, 2011.

OZAKTAY, A.C. et al. Effects of interleukin-1 beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor on sensitivity of dorsal root ganglion and peripheral receptive fields in rats. **Eur. Spine J.**, Heidelberg, v. 15, n. 10, p. 1529-1537, 2006.

PARSONS, B. et al. Economic and humanistic burden of post-trauma and post-surgical neuropathic pain among adults in the United States. **J. Pain. Res.**, Auckland, v. 6, p. 459-469, 2013.

PICAVET, H.S.J.; SCHOUTEN, J.S.A. Musculoskeletal pain in the Netherlands: prevalences, consequences and risk groups. The DMC(3)-study. **Pain**, Amsterdam, v. 102, n. 1, p. 167-178, 2003.

PRADO, W.L. et al. Obesidade e Adipocinas Inflamatórias: Implicações Práticas para a Prescrição de Exercício. **Rev. Bras. Méd. Esporte**, São Paulo, v. 15, n. 5, p. 378-383, 2009.

RAFTERY, M.N. et al. Chronic pain in the Republic of Ireland – community prevalence, psychosocial profile and predictors of pain-related disability: results from the Prevalence, Impact and Cost of Chronic Pain (PRIME) study, part 1. **Pain**, Amsterdam, v. 152, n. 5, p. 1096-1103, 2011.

REID, K.J. et al. Epidemiology of chronic non-cancer pain in Europe: narrative review of prevalence, pain treatments and pain impact. **Curr. Med. Res. Opin.**, London, v. 27, n. 2, p. 449-462, 2011.

REITSMA, M.L. et al. The prevalence of chronic pain and pain-related interference in the Canadian population from 1994 to 2008. **Chronic Dis. Inj. Can.**, Ottawa, v. 31, n. 4, p. 157-164, 2011.

- RODRIGUEZ-PINTÓ, I. et al. Fibromyalgia and cytokines. **Immunol. Lett.**, 2014. doi: 10.1016/j.imlet.2014.01.009. [Epub ahead of print].
- SÁ, K. et al. A prevalência de dor crônica e fatores associados na população de Salvador, Bahia. **Rev. Saude Publica**, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 622-630, 2009.
- SAFIEH-GARABEDIAN, B. et al. The role of the sympathetic efferents in endotoxin-induced localized inflammatory hyperalgesia and cytokine upregulation. **Neuropharmacology**, Oxford, v. 42, n. 6, p.864-72, 2002.
- SAMAD, T.A. et al. Interleukin-1beta-mediated induction of Cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity. **Nature**, v. 410, n. 6827, p. 471-475, 2001.
- SANTOS, J.G. et al. Translation to Portuguese and validation of the Douleur Neuropathique 4 questionnaire. **J. Pain**, Philadelphia, v. 11, n. 5, p. 484-490, 2010.
- SCHAFERS, M. et al. Increased sensitivity of injured and adjacent uninjured rat primary sensory neurons to exogenous tumor necrosis factor-alpha after spinal nerve ligation. **J. Neurosci.**, Washington, v. 23, n. 7, p. 3028-3038, 2003.
- SCHINKEL, C. et al. Inflammatory mediators are altered in the acute phase of posttraumatic complex regional pain syndrome. **Clin. J. Pain**, Hagerstown , v. 22, n. 3, p. 235-9, 2006.
- SCHLEIFER, S.J.; KELLER, S.E.; BARTLETT, J.A. Depression and immunity: clinical factors and therapeutic course. **Psychiatry Res.**, Limerick, v. 85, n. 1, p. 63–69, 1999.
- SCHLEIFER, S.J.; KELLER, S.E.; CZAJA, S. Major depression and immunity in alcohol-dependent persons. **Brain Behav. Immun.**, Orlando, v. 20, n. 1, p. 80–91, 2006.
- SCHOENBORN, J.R.; WILSON, C.B. Regulation of interferon-gamma during innate and adaptive immune responses. **Adv. Immunol.**, New York, v. 96, p. 41-101, 2007.
- SCHOENIGER-SKINNER, D.K. et al. Interleukin-6 mediates low-threshold mechanical allodynia induced by intrathecal HIV-1 envelope glycoprotein gp120. **Brain Behav. Immun.**, Orlando, v. 21, n. 5, p. 660-667, 2007.
- SCHOLZ, J.; WOOLF, C.J. The neuropathic pain triad: neurons, immune cells, and glia. **Nat. Neurosci.**, New York, v. 10, n. 11, p.1361–1368, 2007.
- SCHOMBERG, D.; OLSON, J.K. Immune responses of microglia in the spinal cord: contribution to pain states. **Exp. Neurol.**, Orlando, v. 234, n. 2, p. 262-270, 2012.
- SKAPER, S.D; GIUSTI, P.; FACCI, L. Microglia and mast cells: two tracks on the road to neuroinflammation. **FASEB J.**, Bethesda, v. 26, n. 8, p. 3103-17, 2012.
- SMITH, B.H. et al. The impact of chronic pain in the community. **Farm. Pract.**, Oxford, v. 18, n. 3, p. 292-9, 2001.

- SOUSA, F.F.; SILVA, J.A. A métrica da dor (dormetria): problemas teóricos e metodológicos. **Revista Dor**, São Paulo, v. 6, n. 1, p. 469-513, 2005.
- SPATARO, L.E. et al. Spinal gap junctions potential involvement in pain facilitation. **J. Pain**, Philadelphia, v. 5, n. 7, p. 392-405, 2004.
- STELLWAGEN, D.; MALENKA, R.C. Synaptic scaling mediated by glial TNF- α . **Nature**, Basingstoke, v. 440, n. 7087, p. 1054–1059, 2006.
- STRLE, K. et al. Interleukin-10 in the brain. **Crit. Rev. Immunol.**, New York, v. 21, n. 5, p. 427-449, 2001.
- THACKER, M. et al. Pathophysiology of peripheral neuropathic pain: immune cells and molecules. **Anesth. Analg.**, Cleveland, v. 105, n. 3, p. 838-847, 2007.
- ÜÇEYLER, N. et al. Differential expression of cytokines in painful and painless neuropathies. **Neurology**, Hagerstown, v. 69, n. 1, p. 42–49, 2007a.
- ÜÇEYLER, N. et al. Differential expression patterns of cytokines in complex regional pain syndrome. **Pain**, Amsterdam, v. 132, n. 1, p. 195–205, 2007b.
- ÜÇEYLER, N.; HÄUSER, W.; SOMMER, C. Systematic review with meta-analysis: cytokines in fibromyalgia syndrome. **BMC Musculoskelet. Disord.**, London, v. 28, n. 12, p. 245, 2011.
- VALLEJO, R. et al. The role of glia and the immune system in the development and maintenance of neuropathic pain. **Pain Pract.**, Malden, v. 10, n. 3, p. 167-184, 2010.
- VIEIRA, E.B. et al. A dor crônica, fatores associados e impacto na vida diária: há diferenças entre sexos? **Cad. Saude Publica**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 8, p. 1459-67, 2012.
- VINES, S.W. et al. The relationship between chronic pain, immune function, depression, and health behaviors. **Biol. Res. Nurs.**, Thousand Oaks, v. 5, n. 1, p. 18-29, 2003.
- VLAINICH, R. Z.; ISSY, A.M.; SAKATA, R.K. Avaliação do custo do medicamento para tratamento ambulatorial de pacientes com dor crônica. **Rev. Bras. Anesthesiol.**, Rio de Janeiro, v. 60, n. 4, p. 399-405, 2010.
- WHITE, L.A. et al. Employees with fibromyalgia: medical comorbidity, healthcare costs, and work loss. **J. Occup. Environ. Med.**, Hagerstown, v. 50, n. 1, p. 13-24, 2008.
- WOLFE, F. et al. The American College of Rheumatology preliminary diagnostic criteria for fibromyalgia and measurement of symptom severity. **Arthritis Care Res.**, Hoboken, v. 62, n. 5, p. 600-610, 2010.
- WONG, W.; FIELDING, R. Prevalence and characteristics of chronic pain in the general population of Hong Kong. **J. Pain**, Philadelphia, v. 12, n. 2, p. 236-245, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity**: preventing and managing the global epidemic, report of a WHO consultation. Geneva: World Health Organization; 2000.

XING, Q. et al. Role of regulatory T cells in patients with acute herpes zoster and relationship to postherpetic neuralgia. **Arch. Dermatol. Res.**, Berlin, v. 305, n. 8, p. 715-722, 2013.

ZELENKA, M.; SCHAFERS, M.; SOMMER, C. Intraneural injection of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha into rat sciatic nerve at physiological doses induces signs of neuropathic pain. **Pain**, Amsterdam, v. 116, n. 3, p. 257-63, 2005.

ZHU, S.M. et al. Influence of systemic immune and cytokine responses during the acute phase of zoster on the development of postherpetic neuralgia. **J. Zhejiang. Univ. Sci. B.**, Hangzhou, v. 10, n. 8, p. 625-630, 2009.

ZUO, Y. et al. Inflammation and hyperalgesia induced by nerve injury in the rat: a key role of mast cells. **Pain**, Amsterdam, v. 105, n. 3, p. 467-479, 2003.

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título do Estudo: "Efeito analgésico da lidocaína e sua relação com o sistema imune"

Pesquisador Responsável: Marcia de Miguel

O (A) Senhor (a) está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa. Por favor, leia este documento com bastante atenção antes de assiná-lo. Caso haja alguma palavra ou frase que o (a) senhor (a) não consiga entender, converse com o pesquisador responsável pelo estudo ou com um membro da equipe desta pesquisa para esclarecê-los.

A proposta deste termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) é explicar tudo sobre o estudo e solicitar a sua permissão para participar do mesmo.

OBSERVAÇÃO: Caso o paciente não tenha condições de ler e/ou compreender este TCLE, o mesmo poderá ser assinado e datado por um membro da família ou responsável legal pelo paciente.

Objetivo do Estudo

Os objetivos do estudo são:

- Avaliar o quadro de dor crônica antes e após o tratamento com lidocaína intravenosa;
 - Medir a concentração no sangue de substâncias inflamatórias, antiinflamatórias e de células do sistema imunológico.
-

Duração do Estudo

A duração total do estudo é de seis meses.

A sua participação no estudo será de aproximadamente dez semanas.

Descrição do Estudo

Participarão do estudo aproximadamente 52 indivíduos.

Este estudo será realizado no Ambulatório de Dor do Hospital Universitário Professor Edgard Santos (UFBA).

O (a) Senhor (a) foi escolhido (a) a participar do estudo porque tem o diagnóstico de dor neuropática ou fibromialgia e tem indicação de utilizar o tratamento com lidocaína intravenosa para tratar a dor crônica.

O (a) Senhor (a) não poderá participar do estudo se tiver doenças inflamatórias sistêmicas, história de alergia, história de alterações nos glóbulos vermelhos ou brancos do sangue, gravidez, infecções ativas, doença neoplásica, doenças endócrinas e indisponibilidade para comparecer ao hospital

 UFBA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA	Universidade Federal da Bahia Complexo Hospitalar Universitário Prof. Edgard Santos Rua Augusto Viana, s/n – Canela – Salvador – Bahia Tel.: (71) 3283 8043 Fax: (71) 3283 8141	 Complexo HUPES
---	--	--

para avaliação.

Procedimento do Estudo

Após entender e concordar em participar, você fará parte de um sorteio a fim de definir sua participação no grupo 1, constituído por pacientes que serão submetidos ao tratamento com lidocaína, ou no grupo 2, constituído por pacientes que serão submetidos ao tratamento com uma solução de cloreto de sódio 0,9% (solução fisiológica).

O tratamento com lidocaína será realizado em dez sessões de aplicação intravenosa do medicamento. Cada sessão durará aproximadamente uma hora e será utilizada a dose de 5mg/kg de peso corporal. Será realizada a punção de uma veia periférica do antebraço e então administrado o medicamento.

O tratamento com a lidocaína é uma das alternativas disponíveis para aqueles pacientes que não tiveram alívio da dor com antidepressivos e anticonvulsivantes, que são os medicamentos mais comuns para tratar esse quadro.

No caso de você ser sorteado para participar do grupo 2, você será submetido aos mesmos procedimentos do grupo 1, no entanto, ao invés da lidocaína, você receberá uma aplicação de solução fisiológica. Durante o período em que estiver participando do estudo, os pacientes do grupo 2 continuarão a utilizar os medicamentos usuais, porém serão orientados a não utilizar medicamentos antiinflamatórios não esteroidais (aspirina, piroxicam, meloxicam, tenoxicam, fenilbutazona, indometacina, diclofenaco, ibuprofeno, cetoprofeno, naproxeno, nimesulida, cetorolaco, tolmedina etc), corticosteroides (prednisona, prednisolona, cortisona, hidrocortisona, dexametasona, betametasona, deflazacort etc) e analgésicos opioides (codeína, tramadol, morfina, metadona, oxycodona, buprenorfina etc). Durante o período do estudo, será fornecido ao paciente do grupo 2 um analgésico de escape (medicamento para ser utilizado nos momentos de piora da dor) que será a dipirona e poderá ser utilizado por via oral, não ultrapassando a dose máxima de 4 (quatro) gramas por dia (8 comprimidos de 500mg cada).

Durante todo o período do estudo será necessário que você mantenha uma anotação diária dos momentos em que sentiu dor e que dose do medicamento de escape você utilizou nesse momento. As anotações precisarão ser trazidas todas as vezes que você vier ao hospital para participar do estudo.

Antes e após a primeira, a quinta e a décima sessões será colhida uma amostra de sangue no total de 30 mililitros para que se possa medir a quantidade de substâncias inflamatórias (interleucina 1 beta, interleucina 6, fator de necrose tumoral alfa, interferon gama) e de substâncias antiinflamatórias (interleucina 4, interleucina 10), todas produzidas pelo próprio organismo.

Também será medida a quantidade de glóbulos brancos específicos (leucócitos TCD4, leucócitos

 <p>UFBA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA</p>	<p>Universidade Federal da Bahia Complexo Hospitalar Universitário Prof. Edgard Santos Rua Augusto Viana, s/n – Canela – Salvador – Bahia Tel.: (71) 3283 8043 Fax: (71) 3283 8141</p>	 <p>Complexo HUPES</p>
--	---	--

TCD 8 e células *natural killer*) e serão realizados os exames de hemograma (contagem total de glóbulos brancos, glóbulos vermelhos e plaquetas) e exames para avaliar a reação inflamatória no sangue (velocidade de hemossedimentação do sangue -VHS e proteína C reativa-PCR).

No mesmo dia da coleta das amostras de sangue, será realizada uma entrevista para a aplicação de questionários de avaliação da dor e da sua qualidade de vida.

Os resultados dos exames realizados serão entregues pelos pesquisadores ao final do estudo.

Riscos Potenciais, Efeitos Colaterais e Desconforto

Os riscos associados à coleta de sangue são: hematoma (mancha roxa na pele) e dor no local da punção.

Com relação à administração da lidocaína por via intravenosa, as reações mais comuns que você pode ter são: hipotensão (pressão baixa), edema (inchaço), eritema no local da aplicação (vermelhidão), irritação da pele, constipação (prisão de ventre), náusea (vontade de vomitar), vômito, sonolência, cefaléia (dor de cabeça), confusão mental, parestesia (sensação de frio, calor, formigamento e pressão na pele), tremor, alterações do ritmo cardíaco, reações alérgicas.

Você também pode experimentar efeitos que não são conhecidos até o momento ou que não foram relatados.

Considerando esses possíveis efeitos da lidocaína, você será acompanhado durante todo o tempo em que o medicamento for administrado e serão medidas a pressão arterial e a frequência cardíaca (número de batimentos do coração por minuto). Você também será acompanhado por um equipamento de eletrocardiograma para avaliar o funcionamento do seu coração durante a administração da lidocaína.

Benefícios para o participante

O paciente que participa desse estudo será submetido ao tratamento com lidocaína intravenosa que apresenta efeito analgésico (diminui a dor).

Trata-se de estudo clínico que a hipótese de que o efeito analgésico da lidocaína tem relação com o sistema imune.

Os resultados obtidos com este estudo poderão ajudar na compreensão dos mecanismos da dor crônica e auxiliar na busca de novos tratamentos.

Compensação

Você não receberá nenhuma compensação para participar desta pesquisa e também não terá nenhuma despesa adicional. Todas as etapas do estudo serão realizadas no Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos (HUPES/UFBA).

Participação Voluntária/Desistência do Estudo

Sua participação neste estudo é totalmente voluntária, ou seja, você somente participa se quiser.

 <p>UFBA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA</p>	<p>Universidade Federal da Bahia Complexo Hospitalar Universitário Prof. Edgard Santos Rua Augusto Viana, s/n – Canela – Salvador – Bahia</p> <p>Tel.: (71) 3283 8043 Fax: (71) 3283 8141</p>	 <p>Complexo HUPES</p>
--	---	--

A não participação no estudo não implicará em nenhuma alteração no seu acompanhamento médico tão pouco alterará a relação da equipe médica com o mesmo. Após assinar o consentimento, você terá total liberdade de retirá-lo a qualquer momento e deixar de participar do estudo se assim o desejar, sem quaisquer prejuízos à continuidade do tratamento e acompanhamento na instituição.

Novas Informações

Quaisquer novas informações que possa afetar a sua segurança ou influenciar na sua decisão de continuar a participação no estudo serão fornecidas a você por escrito. Se você decidir continuar no estudo, terá que assinar um novo (revisado) Termo de Consentimento Informado para documentar seu conhecimento sobre novas informações.

Em Caso de Danos Relacionados à Pesquisa

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

Utilização de Registros Médicos e Confidencialidade

Todas as informações colhidas e os resultados dos testes serão analisados em caráter estritamente científico, mantendo-se a confidencialidade (segredo) do paciente a todo o momento, ou seja, em nenhum momento os dados que o identifique serão divulgados, a menos que seja exigido por lei. Os registros médicos que trazem a sua identificação e esse termo de consentimento assinado poderão ser inspecionados por agências reguladoras e pelo CEP.

Os resultados desta pesquisa poderão ser apresentados em reuniões ou publicações, contudo, sua identidade não será revelada nessas apresentações.

Quem Devo Entrar em Contato em Caso de Dúvida

Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Os responsáveis pelo estudo nesta instituição são: farmacêutica Marcia de Miguel (celular 71 8201 6589), Dr. Durval Campos Kraychete (celular 71 8802 3780), acadêmicos de medicina Pedro Larocca Magalhães (celular 70 9937 6065) e Igor Dórea Bandeira (celular 71 8136 3125), que poderão ser encontrados no Ambulatório de Dor do Hospital Universitário Professor Edgard Santos ou nos telefones informados.

 <p>UFBA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA</p>	<p>Universidade Federal da Bahia Complexo Hospitalar Universitário Prof. Edgard Santos Rua Augusto Viana, s/n – Canela – Salvador – Bahia Tel.: (71) 3283 8043 Fax: (71) 3283 8141</p>	 <p>Complexo HUPES</p>
--	---	--

Declaração de Consentimento

Concordo em participar do estudo intitulado "Efeito analgésico da lidocaína e sua relação com o sistema imune".

Li e entendi o documento de consentimento e o objetivo do estudo, bem como seus possíveis benefícios e riscos. Tive a oportunidade de perguntar sobre o estudo e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas. Entendo que estou livre para decidir não participar desta pesquisa. Entendo que, ao assinar este documento, não estou abdicando de nenhum dos meus direitos legais.

Eu autorizo a utilização dos meus registros médicos (prontuário médico) pelo pesquisador, autoridades regulatórias e pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição.

_____ Nome do Sujeito de Pesquisa Letra de Forma ou à Máquina	_____ Data
_____ Assinatura do Sujeito de Pesquisa	
_____ Nome do Representante Legal do Sujeito de Pesquisa Letra de Forma ou à Máquina (quando aplicável)	_____ Data
_____ Assinatura do Representante Legal do Sujeito de Pesquisa (quando aplicável)	
_____ Nome da pessoa obtendo o Consentimento	_____ Data
_____ Assinatura da Pessoa Obtendo o Consentimento	
_____ Marcia de Miguel	_____ Data
_____ Assinatura e Carimbo do Pesquisador Principal	

APÊNDICE B - Questionário para entrevista inicial

FICHA DE ENTREVISTA INICIAL – PROTOCOLO DE PESQUISA

DATA: _____

Paciente: _____ Prontuário: _____

Endereço: _____

Telefone: _____ Data de nascimento: _____

Idade: _____ Sexo: () feminino () masculino Estado civil: _____

Renda: () assalariado () autônomo () aposentado () afastado do trabalho () outros

Medicamentos em uso (nome, dose, número de tomadas por dia):

Informe também os medicamentos que você usa de vez em quando

Tabagismo: _____

Etilismo: _____

Substâncias psicoativas lícitas e ilícitas de abuso: _____

Alguma cirurgia: _____

Internações: _____

Alergias: _____

Assinale se você tem algum dos problemas abaixo:

Doenças ou alterações na pele: _____

Doença nos ouvidos, nariz, garganta, boca: _____

Doença nos olhos: _____

Doença no pescoço: _____

Doença nas mamas: _____

Problemas respiratórios ou pulmonares: _____

Sintomas ou doenças cardíacas: _____

Doenças no trato gastrointestinal: _____

Doenças no trato urinário: _____

Sintomas ou doenças genitais: _____

Sintomas de doença vascular periférica: _____

Sintomas músculo esqueléticos: _____

Sintomas ou doenças do sistema nervoso: _____

Problemas hematológicos: _____

Problemas endócrinos: _____

Doenças psiquiátricas: () depressão () ansiedade Outras: _____

Já teve câncer De que tipo? _____

Está grávida: () sim () não

Teve alguma infecção recentemente ou no momento: _____

Escore EVA: _____

Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____

APÊNDICE C - Ficha de critérios para o diagnóstico de fibromialgia

Paciente: _____ Prontuário: _____

FIBROMIALGIA – DIAGNÓSTICO E GRAVIDADE – ACR 2010

Critérios

O paciente satisfaz os critérios de diagnóstico para fibromialgia se as três condições abaixo forem encontradas:

- 1) Índice de dor difusa (WPI) ≥ 7 e escore na escala de gravidade de sintomas (SS) ≥ 5 ou WPI entre 3 e 6 e SS ≥ 9 .
- 2) Presença de sintomas estáveis por pelo menos três meses.
- 3) O paciente não tem nenhum outro distúrbio que poderia explicar a dor.

Averiguação

1) Índice de dor difusa (WPI)

Anote o número de áreas em que o paciente tem tido dor na última semana. Em quantas áreas o paciente tem tido dor? O escore será entre 0 e 19.

- () pescoço () mandíbula esquerda () mandíbula direita () cintura escapular esquerda
 () cintura escapular direita () braço esquerdo () braço direito () antebraço esquerdo
 () antebraço direito () peito () abdômen () parte superior das costas
 () parte inferior das costas () quadril (nádega e trocânter) esquerdo
 () quadril (nádega e trocânter) direito () coxa esquerda () coxa direita
 () panturrilha esquerda () panturrilha direita

Número total de áreas: _____

2) Escore da escala de gravidade dos sintomas (SS)

Para cada um dos três sintomas abaixo, indique o nível de gravidade na última semana usando a seguinte escala:

sem problema	0
problema leve ou moderado, geralmente moderado ou intermitente	1
problema considerável, presente com frequência e/ou em nível moderado	2
problema grave e penetrante, contínuo, problemas que interferem na vida	3

Fadiga (Cansaço ao executar atividades) _____

Sono não reparador (Acordar cansado) _____

Sintomas cognitivos (dificuldade de memória, concentração etc) _____

Considerando sintomas somáticos em geral, indicar se o paciente tem*:

Sem sintomas (0)

Alguns sintomas (1)

Um moderado número de sintomas (2)

Grande número de sintomas (3)

*Sintomas que podem ser considerados:

- () dor muscular
- () síndrome do cólon irritável
- () fadiga/cansaço
- () pensa ou relembra problemas
- () fraqueza muscular
- () cefaleia
- () dor/cãibra no abdômen
- () entorpecimento/formigamento
- () tontura
- () insônia
- () depressão
- () constipação
- () dor no abdômen superior
- () náusea
- () nervosismo
- () dor no peito
- () febre
- () diarreia
- () xerostomia
- () comichão
- () chiado
- () fenômeno de Raynaud
- () urticária/vergões
- () zumbido nos ouvidos

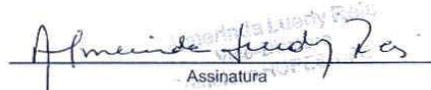
- () vômito
- () azia
- () úlceras orais
- () perda ou mudança no paladar
- () convulsão
- () xeroftalmia
- () falta de ar
- () perda de apetite
- () *rash*
- () sensibilidade ao sol
- () dificuldade de audição
- () manchas roxas na pele com facilidade
- () micção frequente
- () micção dolorosa
- () bexiga espástica

ANEXO A - Folha de rosto para pesquisa envolvendo seres humanos



MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. Projeto de Pesquisa: Efeito analgésico da lidocaina e sua relação com o sistema imune.		2. Número de Sujeitos de Pesquisa: 52	
3. Área Temática:			
4. Área do Conhecimento: Grande Área 4. Ciências da Saúde			
PESQUISADOR RESPONSÁVEL			
5. Nome: Marcia de Miguel			
6. CPF: 115.609.278-79		7. Endereço (Rua, n.º): DAS PATATIVAS IMBUI 87 - apto 402 SALVADOR BAHIA 41720100	
8. Nacionalidade: BRASILEIRA		9. Telefone: (71) 8201-6589	10. Outro Telefone:
		11. Email: marciademiguel@hotmail.com	
12. Cargo:			
<p>Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Tenho ciência que essa folha será anexada ao projeto devidamente assinada por todos os responsáveis e fará parte integrante da documentação do mesmo.</p>			
Data: <u>19</u> / <u>03</u> / <u>2013</u>		 Assinatura	
INSTITUIÇÃO PROPONENTE			
13. Nome: Hospital Universitário Prof. Edgard Santos-UFBA		14. CNPJ: 15.180.714/0002-87	
15. Unidade/Órgão:			
16. Telefone: (71) 3283-8141		17. Outro Telefone:	
<p>Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 196/96 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.</p>			
Responsável: <u>Almerinda Luedy Res</u>		CPF: <u>424802805-00</u>	
Cargo/Função: <u>Vice Diretora</u>			
Data: <u>05</u> / <u>04</u> / <u>13</u>		 Assinatura	
PATROCINADOR PRINCIPAL			

ANEXO B - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do HUPES

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
 PROF. EDGARD SANTOS-
 UFBA - HUPES



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito analgésico da lidocaína e sua relação com o sistema imune.

Pesquisador: Marcia de Miguel

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 05158913.2.0000.0049

Instituição Proponente: Hospital Universitário Prof. Edgard Santos-UFBA

Patrocinador Principal: Hospital Universitário Prof. Edgard Santos-UFBA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 353.779

Data da Relatoria: 19/07/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto que pretende estudar a relação entre o efeito analgésico da lidocaína e os níveis séricos das citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias e células imunológicas envolvidas na dor crônica, uma vez que a literatura tem mostrado que a dor crônica possivelmente está relacionada ao sistema imune. O entendimento dessa relação pode ser útil para a descoberta de novas estratégias terapêuticas. A lidocaína, um anestésico local com propriedades antiarrítmicas, tem sido empregada por diversas vias, inclusive a intravenosa, como uma alternativa para o tratamento da dor crônica para os pacientes não responsivos aos tratamentos comumente utilizados, tais como analgésicos comuns, opioides, antidepressivos e anticonvulsivantes, que sofrem com quadros crônicos como dor neuropática e fibromialgia. Trata-se de um estudo prospectivo, placebo-controlado a ser realizado com os pacientes atendidos no Ambulatório de Dor do Hospital Universitário Professor Edgard Santos da Universidade Federal da Bahia (HUPES/UFBA) com indicação da equipe médica de submeter-se à administração de lidocaína intravenosa. Em atenção aos conceitos da bioética, os investigadores se comprometem a descontinuar imediatamente o tratamento adotado no grupo intervenção naqueles pacientes que apresentarem sinal de agravamento no quadro clínico. Todas as informações sobre os pacientes serão mantidas em sigilo, não sendo identificados como participante da pesquisa em nenhum momento. A fim de

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar
 Bairro: Canela CEP: 40.110-060
 UF: BA Município: SALVADOR
 Telefone: (71)3283-8043 Fax: (71)3283-8140 E-mail: cep.hupes@gmail.com

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
 PROF. EDGARD SANTOS-
 UFBA - HUPES



Continuação do Parecer: 353.779

obter a redução de 30% na intensidade de dor com o tratamento com lidocaína intravenosa, serão selecionados 52 pacientes. Os pacientes serão divididos em dois grupos de 26 indivíduos, sendo que um grupo será submetido a dez sessões de administração intravenosa de lidocaína semanais na dose de 5mg/kg/dia e o outro grupo será submetido ao mesmo número de sessões de administração intravenosa de uma solução de cloreto de sódio 0,9%, em um volume idêntico ao de lidocaína do primeiro grupo. O cálculo do tamanho amostral foi realizado pela fórmula de diferença de médias após análise de um estudo piloto. Utilizou-se como parâmetro a redução de dois pontos na escala numérica de dor após a intervenção com um desvio padrão de 2,0. Obteve-se uma amostra de 26 sujeitos para cada grupo de estudo para um poder de 90% e um nível de confiança de 99%. Será realizado a dosagem dos níveis séricos das citocinas IL-1 β , IL-6, TNF-alfa, IFN-gama, IL4, IL10, bem como a determinação quantitativa de linfócitos TCD4, TCD8 e células NK imediatamente antes e após a administração da primeira dose, após a quinta dose e após a décima dose de lidocaína.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo geral é avaliar a relação dos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias e de citocinas anti-inflamatórias, bem como da quantidade de linfócitos TCD4, linfócitos TCD8 e células natural killer (NK) no sangue periférico com o efeito analgésico da lidocaína intravenosa em pacientes com dor crônica. Os objetivos específicos são:

- a) Avaliar a efetividade do tratamento com lidocaína intravenosa de pacientes com dor crônica;
- b) Determinar o nível sérico das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6, TNF-alfa e IFN-gama associado ao tratamento com lidocaína intravenosa de pacientes com dor crônica;
- c) Determinar o nível sérico das citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10 associado ao tratamento com lidocaína intravenosa de pacientes com dor crônica;
- d) Determinar a quantidade sanguínea de linfócitos T CD4, linfócito T CD8 e células NK, associadas ao tratamento com lidocaína intravenosa de pacientes com dor crônica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Para a realização do estudo serão coletado 30 ml de sangue dos pacientes incluídos no estudo antes e após a primeira, a quinta e a décima sessões de aplicação intravenosa de lidocaína. Os riscos associados à coleta de sangue são: hematoma e dor no local da punção. Com relação à administração da lidocaína por via intravenosa, as reações mais comuns são: hipotensão, edema, eritema no local da aplicação, irritação da pele, constipação, náusea, vômito, sonolência, cefaléia, confusão mental, parestesia, tremor, alterações do ritmo cardíaco, reações alérgicas. Pode-se

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar
 Bairro: Canela CEP: 40.110-060
 UF: BA Município: SALVADOR
 Telefone: (71)3283-8043 Fax: (71)3283-8140 E-mail: cep.hupes@gmail.com

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
 PROF. EDGARD SANTOS-
 UFBA - HUPES



Continuação do Parecer: 353.779

experimentar efeitos que não são conhecidos até o momento ou que não foram relatados. Considerando esses possíveis efeitos da lidocaína, durante a administração da lidocaína serão monitorados a pressão arterial, frequência cardíaca e eletrocardiograma. O tratamento da dor crônica é o benefício para o participante da pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A realização dessa pesquisa é de grande relevância clínica pois poderá contribuir para esclarecer os mecanismos de alívio da dor crônica obtida com o uso da lidocaína intravenosa o que poderá indicar novas estratégias terapêuticas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

De acordo.

Recomendações:

Vide conclusões.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O cronograma foi adequado e o projeto está de acordo com os requisitos exigidos pela Resolução 466/12 que substituiu a 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Resolução 466/12 que substituiu a 196/96 do Conselho Nacional de Saúde) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar
 Bairro: Canela CEP: 40.110-060
 UF: BA Município: SALVADOR
 Telefone: (71)3283-8043 Fax: (71)3283-8140 E-mail: cep.hupes@gmail.com

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
PROF. EDGARD SANTOS-
UFBA - HUPES



Continuação do Parecer: 353.779

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária e ANVISA e junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente em ____/____/____ e ao término do estudo.

Situação: Projeto Aprovado.

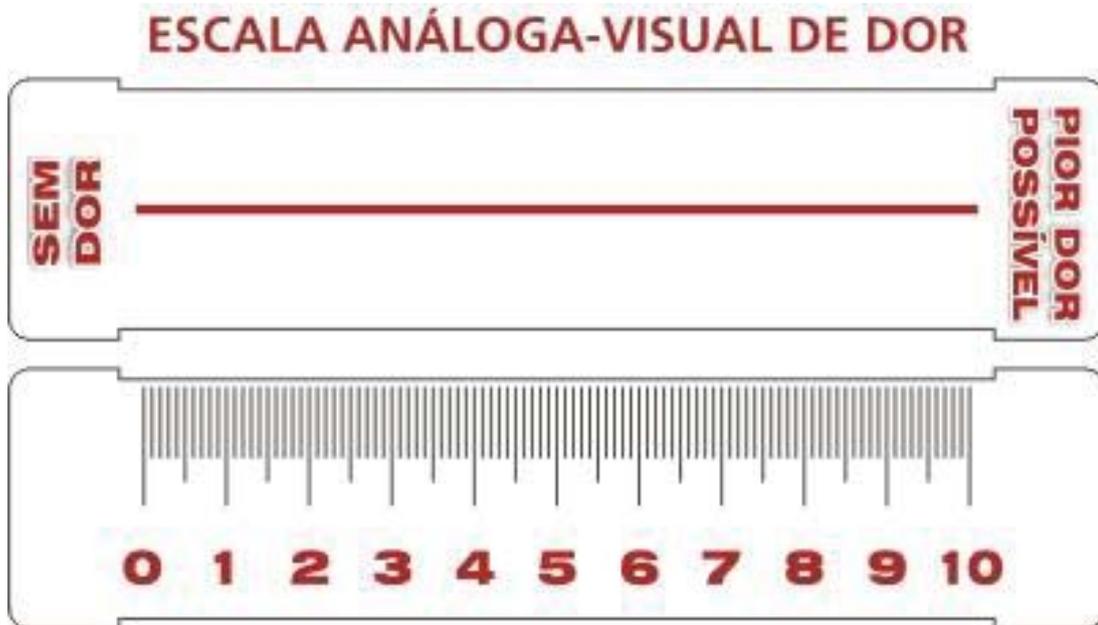
SALVADOR, 08 de Agosto de 2013

Assinador por:

Roberto José da Silva Badaró
(Coordenador)

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar
Bairro: Canela CEP: 40.110-060
UF: BA Município: SALVADOR
Telefone: (71)3283-8043 Fax: (71)3283-8140 E-mail: cep.hupes@gmail.com

ANEXO C - Escala Visual Analógica de Dor



ANEXO D - Questionário para diagnóstico de dor neuropática (DN4)

Questionário Para diagnóstico De Dor Neuropática – DN4

QUESTIONÁRIO PARA DIAGNÓSTICO DE DOR NEUROPÁTICA – DN4

Por favor, nas quatro perguntas abaixo, complete o questionário marcando uma resposta para cada número:

ENTREVISTA DO PACIENTE

Questão 1: A sua dor tem uma ou mais das seguintes características?

1- Queimação	Sim	Não
2- Sensação de frio dolorosa		
3- Choque elétrico		

Questão 2: Há presença de um ou mais dos seguintes sintomas na mesma área da sua dor?

4- Formigamento	Sim	Não
5- Alfinetada e agulhada		
6- Adormecimento		
7- Coceira		

EXAME DO PACIENTE

Questão 3: A dor está localizada numa área onde o exame físico pode revelar uma ou mais das seguintes características?

8- Hipoestesia ao toque	Sim	Não
9- Hipoestesia a picada de agulha		

Questão 4: Na área dolorosa a dor pode ser causada ou aumentada por:

10- Escovação	Sim	Não

ESCORE

0 – Para cada item negativo 1 – Para cada item positivo

Dor Neuropática: Escore total a partir de 4/10.

() Dor Nociceptiva () Dor Neuropática