

## **EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM CAFEÍNA SOBRE O DESENVOLVIMENTO E MANUTENÇÃO DA DOR MUSCULAR CRÔNICA: POSSÍVEL ENVOLVIMENTO DA VIA PGC-1 $\alpha$ / PPAR $\gamma$**

**Palavras-Chave: PGC-1 $\alpha$ / PPAR $\gamma$ -1, CAFEÍNA-2, DOR-3**

**Emanuele de Oliveira Dorta, FCA – UNICAMP**

**Hayla Lourenço Rodrigues, FCA – UNICAMP**

**Beatriz Botasso Gomes, FCA – UNICAMP**

**Prof<sup>(a)</sup>. Dr<sup>(a)</sup>. Maria Cláudia Gonçalves de Oliveira (orientadora), FCA - UNICAMP**

---

### **INTRODUÇÃO:**

A dor é um problema de saúde pública mundial com impactos sociais e econômicos significativos. Nos EUA, os custos relacionados à dor somam cerca de 600 bilhões de dólares por ano (Gaskin and Richard, 2012). No Brasil, 62,4% da população sofre com algum tipo de dor, sendo 58,3% dessas dores crônicas. Contudo, o tratamento dessas dores é frequentemente inadequado, com apenas 30% dos casos tendo sucesso (Borsook et al., 2011).

Tradicionalmente, o tratamento da dor muscular envolve o uso de analgésicos e anti-inflamatórios e, há algumas poucas décadas, a prática regular de exercícios físicos tem sido destacada como uma eficiente estratégia terapêutica (Pauli e Ropelle, 2009). A atividade física tem mostrado potencial para modular substâncias endógenas que melhoram a saúde, atuando na prevenção e promoção da saúde. Especificamente para a dor, estudos indicam que o exercício reduz e/ou previne diferentes condições dolorosas, tanto em humanos quanto em animais (veja a revisão: Naugle et al., 2012 e Almeida et al., 2015). Pesquisas recentes realizadas pelo nosso grupo indicam que o exercício previne a cronificação da dor muscular, modulando a resposta inflamatória através do aumento de macrófagos anti-inflamatórios e citocinas. Demonstramos que a natação aumenta as concentrações de IL-10, uma citocina anti-inflamatória, e que o aumento da IL-1 $\beta$  é prevenido através da ativação dos receptores de PPAR $\gamma$  induzida pelo exercício (de Azambuja et al., 2021).

Embora o exercício físico seja eficiente em prevenir a hiperalgesia muscular, é preciso salientar que, em indivíduos portadores de condições dolorosas crônicas, intensidades moderadas e elevadas de exercício podem aumentar a sintomatologia (Hargreaves e Spriet, 2020).

A suplementação com cafeína tem se mostrado eficaz para reduzir a fadiga associada ao exercício. Seu efeito no metabolismo energético é descrito, pelo menos em parte, pela ação sobre a biogênese mitocondrial, que ocorre através da modulação da expressão da PGC-1 $\alpha$  e PPAR $\gamma$ .

Considerando nossos dados prévios de que a prevenção da dor muscular crônica pelo exercício é modulada pelos receptores PPAR $\gamma$ ; que a PGC-1 $\alpha$ , um dos mais importantes co-ativadores dos receptores PPAR $\gamma$ , pode modular os efeitos anti-inflamatórios do exercício; e que a cafeína pode atuar sobre a PGC-1 $\alpha$  contribuindo

com seus efeitos transcricionais, hipotetizamos que a suplementação com cafeína em animais saudáveis pode reduzir o desenvolvimento e a manutenção da dor muscular crônica de origem inflamatória através da modulação da via de sinalização PGC-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$ .

## METODOLOGIA:

**Animais:** Foram utilizados camundongos machos C57BL/6 com quatro semanas de idade, obtidos do CEMIB/UNICAMP (6331-1/2023).

**Modelo de hiperalgesia muscular aguda seguida de hiperalgesia muscular crônica:** O modelo de transição da hiperalgesia muscular aguda para crônica foi realizado através da administração de Carragenina (Cg/100 $\mu$ g) no ventre do músculo gastrocnêmio direito para indução da hiperalgesia muscular aguda. Dez dias depois, no mesmo local, foi administrada a Prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>/1 $\mu$ g) para evidenciar a hiperalgesia muscular crônica (de Azambuja, et al., 2021 e Dina et al., 2008).

**Quantificação da hiperalgesia muscular:** foi realizada através do analgésimetro digital (Insight, Brasil), tipo Randall-Selitto, que aplica uma força linear sobre o ventre do músculo gastrocnêmio de camundongos. A hiperalgesia muscular foi quantificada entre o período de 0 e 17 dias do estímulo inicial (de Azambuja, et al., 2021 e Dina et al., 2008). O registro do limiar hiperalgésico foi quantificado pela média de 3 medidas realizadas em intervalos de 5 minutos entre cada uma, observando a resposta do animal ao estímulo mecânico realizado. A hiperalgesia foi expressa pela variação no limiar nociceptivo, calculado pela subtração da média do limiar nociceptivo mecânico registrado em diferentes tempos após administração dos estímulos inflamatórios ou veículo com os valores registrados antes do início das injeções (medida basal).

**Administração oral de cafeína:** Para avaliar o efeito da suplementação de cafeína foi realizado, durante os 17 dias do modelo experimental, a suplementação de cafeína (3,5 mg e 7,0/ Kg de peso corporal) diluída em água filtrada, pela manhã antes que qualquer manipulação fosse feita (figura 1).

**Análise Estatística:** foi realizada por ANOVA (One e Two Way) com o teste de Tukey, a Área Sob a Curva foi utilizada para avaliar o período crônico de hiperalgesia muscular e o nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ .

**Figura 1**

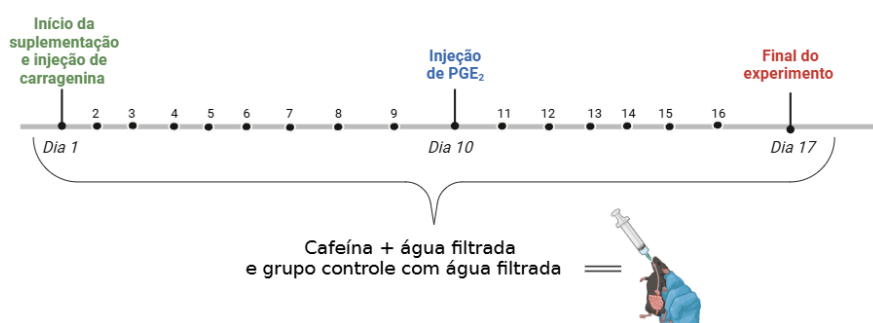


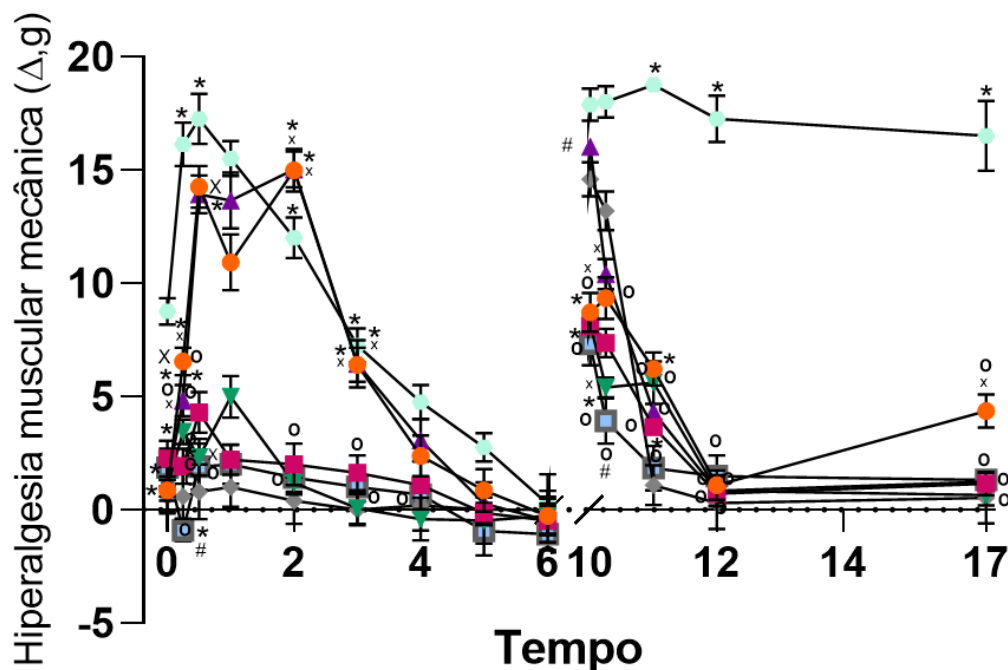
FIG 1: Linha do tempo do protocolo experimental

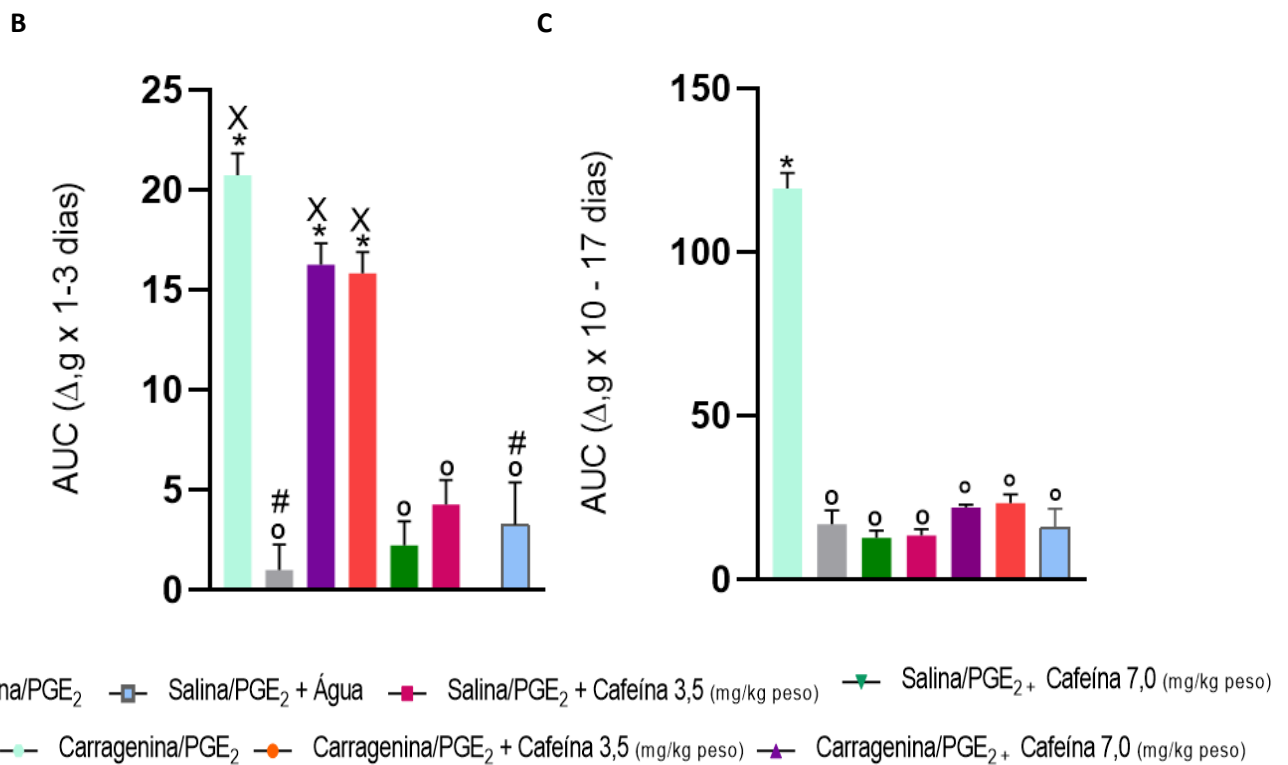
**RTqPCR em tempo real (RTqPCR):** Para avaliarmos se a suplementação com cafeína alteraria o RNAm da via PGC-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$ , amostras do músculo gastrocnêmio foram coletadas nos tempos de 24h e 48h após a carragenina, e novamente após 24h da Prostaglandina E<sub>2</sub> e armazenadas em TRIzol. O cDNA foi preparado a partir do RNA total e a técnica de RTqPCR em tempo real foi realizada com o equipamento StepOnePlus (Applied Biosystems) utilizando o sistema Syber Green (Fast SYBR Green Master Mix, Invitrogen). Os parâmetros para a realização da RTqPCR, foram: 1 ciclo à 95°C durante 20 segundos, 40 ciclos a 95°C por 3 segundos e 60°C com duração de 30 segundos. A normalização dos resultados foi feita com GAPDH.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Para avaliarmos se a suplementação oral com cafeína seria capaz de reduzir e/ou prevenir o desenvolvimento e a manutenção da hiperalgesia muscular crônica, realizamos um teste para determinar a concentração ideal de cafeína (3,5 ou 7,0 mg/kg de peso corporal). Nossos resultados demonstraram que a suplementação de cafeína com ambas as doses reduziu o desenvolvimento e a manutenção da hiperalgesia muscular crônica (Two way ANOVA, pós teste de Tukey,  $p < 0,05$  - Figura 2A). A análise de área sob a curva (AUC) confirmou os resultados (One way ANOVA, pós teste de Tukey,  $p < 0,05$  - Figura 2C).

A





**Figura 2: Efeito da suplementação de cafeína na hiperalgesia muscular aguda e crônica.** A) gráfico de linha temporal demonstrando as respostas comportamentais ao longo de 17 dias. B) Área sob a curva do período agudo (1-3 dias). C) Área sob a curva do período crônico (10-17 dias). Os símbolos "x" indicam diferença com grupo salina + cafeína, os símbolos "\*" indicam diferença com salina+PGE<sub>2</sub>, os símbolos "o" indicam diferença com carragenina+PGE<sub>2</sub> e os símbolos "#" indicam diferença com as duas doses dos grupos cafeína.

O segundo objetivo específico do presente projeto referente à avaliação da alteração da expressão do RNAm da via PGC-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$  foi realizado, mas sem resultados confiáveis até o momento.

## CONCLUSÕES:

O presente estudo demonstrou, até o momento, que a suplementação de cafeína reduz o desenvolvimento e a manutenção da hiperalgesia muscular crônica. Portanto, a cafeína pode ser uma estratégia terapêutica interessante para ser utilizada no controle das dores musculares crônicas.

## BIBLIOGRAFIA:

Borsook D, Becerra L, Hargreaves R (2011) *Discov Med* 11:197–207.

de Azambuja G, Jorge CO, Gomes BB, Lourenço HR, Simabuco FM, Oliveira-Fusaro MCG. *Brain Behav Immun.* (2021) Jul;95:462-476

Dina OA, Levine JD, Green PG (2008). *J Pain* 9:457–462

Gaskin DJ, Richard P. *J Pain.* 2012 Aug;13(8):715-24.

Hargreaves, M.; Spriet, L.L. Nat. Metab. 2020, 2, 817–828.

Naugle KM, Fillingim RB, Riley JL 3rd. (2012) J Pain. 13(12):1139-50

Pauli JR, Ropelle ER (2009) Rev Bras Med Esporte 15:98–103