



Artigo Original

Expressão de citocinas plasmáticas após compressão de membros inferiores de ratos[☆]



Mauricio Wanderley Moral Sgarbi^{a,*}, Bomfim Alves Silva Júnior^a,
Carmem Maldonado Peres^a, Tatiana Carolina Alba Loureiro^a,
Rui Curi^a, Francisco Garcia Soriano^a, Daniel Araki Ribeiro^b e Irineu Tadeu Velasco^a

^a Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Departamento de Biociências, Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), São Paulo, SP, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 11 de outubro de 2013

Aceito em 23 de janeiro de 2014

On-line em 1 de agosto de 2014

Palavras-chave:

Síndrome de esmagamento

Modelos animais

Interleucinas

Fator de necrose tumoral α

R E S U M O

Objetivos: a lesão muscular por esmagamento (lesão por compressão muscular) está associada a manifestações sistêmicas conhecidas como síndrome do esmagamento. A reação inflamatória sistêmica pode também ser desencadeada pela lesão muscular isolada. O objetivo deste estudo foi investigar os níveis plasmáticos de interleucinas (IL) 1, 6, 10 e TNF- α , marcadores de uma possível reação inflamatória sistêmica, após a lesão muscular isolada resultante da compressão de membros inferiores de ratos.

Métodos: ratos Wistar machos foram submetidos a uma hora de compressão dos membros inferiores por uma faixa de borracha. Os níveis plasmáticos de IL 1, 6, 10 e TNF- α foram medidos uma, duas e quatro horas após a liberação da compressão.

Resultados: os níveis plasmáticos de IL 10 diminuíram quando comparados com outros grupos com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Não houve detecção, pelo método, da presença de IL 1, 6 e TNF- α .

Conclusão: nossos resultados demonstraram que as alterações dos níveis plasmáticos de IL 10 encontradas podem ser um sinal da presença de interleucinas circulantes nesse modelo de compressão de membros inferiores de ratos.

© 2014 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

Plasma cytokine expression after lower-limb compression in rats

A B S T R A C T

Objectives: muscle injury due to crushing (muscle compression injury) is associated with systemic manifestations known as crush syndrome. A systemic inflammatory reaction may also be triggered by isolated muscle injury. The aim of this study was to investigate

Keywords:

Crush syndrome

Animal models

[☆] Trabalho desenvolvido na Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mail: moralsgarbi@yahoo.com.br (M.W.M. Sgarbi).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbo.2014.01.018>

0102-3616/© 2014 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

Interleukins
Tumor necrosis factor α

the plasma levels of interleukins (IL) 1, 6 and 10 and tumor necrosis factor alpha (TNF- α), which are markers for possible systemic inflammatory reactions, after isolated muscle injury resulting from lower-limb compression in rats.

Methods: male Wistar rats were subjected to one hour of compression of their lower limbs by means of a rubber band. The plasma levels of IL 1, 6 and 10 and TNF- α were measured one, two and four hours after the rats were released from compression.

Results: the plasma levels of IL 10 decreased in relation to those of the other groups, with a statistically significant difference ($p < 0.05$). The method used did not detect the presence of IL 1, IL 6 or TNF- α .

Conclusion: our results demonstrated that the changes in plasma levels of IL 10 that were found may have been a sign of the presence of circulating interleukins in this model of lower-limb compression in rats.

© 2014 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Introdução

Está bem estabelecido que o trauma musculoesquelético está associado a uma importante resposta inflamatória mediada por um complexo sistema biológico de mediadores químicos.¹ Tais mecanismos estão presentes nas lesões musculares.² Além da resposta inflamatória local, órgãos distantes estão sujeitos aos efeitos desses mediadores.³ A síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) é uma complicação grave desse processo.^{1,4}

A síndrome de esmagamento (SE) é a repercussão sistêmica das lesões musculares, especialmente quando os membros inferiores são afetados.⁵ O tipo de lesão muscular associado à SE ocorre por compressão, como na situação de vítimas sob escombros. Classicamente há um extravasamento de mioglobina na circulação, com repercussões renais e em muitos casos a insuficiência renal.⁶ Outros mecanismos relacionados com a SE têm sido estudados, com especial interesse na resposta inflamatória.^{7,8}

Citoquinas são mediadores químicos estudados na inflamação e na SIRS. Agem como fatores quimiotáticos para células inflamatórias, como neutrófilos, e são capazes de promover repostas clínicas sistêmicas, como dor e febre.⁹ A produção de citoquinas anti-inflamatórias ocorre simultaneamente durante o processo e diminui ou até cessa a inflamação.¹⁰ Atualmente, diversas citoquinas são conhecidas. Dentre as mais estudadas, as interleucinas (IL) 1, 6 e TNF- α (fator de necrose tumoral α) caracterizam-se por estar fortemente associadas ao processo inflamatório e a IL 10 caracteriza-se pela função antagônica às anteriores, ou seja, ação anti-inflamatória. A proporção entre a produção de citoquinas pró e anti-inflamatórias parece determinar a gravidade da resposta inflamatória.³

Recentemente desenvolvemos um modelo experimental para compressão de membros inferiores de ratos com as características de uma lesão muscular por esmagamento.⁸ Com o objetivo de contribuir para a compreensão da fisiopatologia da compressão muscular em nível celular e molecular, investigamos, neste artigo, se as citoquinas plasmáticas estão presentes em ratos submetidos à compressão muscular dos membros inferiores em um modelo experimental que simule a lesão muscular por esmagamento.

Material e métodos

Após a aprovação do comitê de ética para pesquisa em animais, ratos Wistar adultos, com 250-300 g, $n = 24$, foram privados de comida, com acesso livre a água em um período de 12 horas antes dos experimentos. Sob anestesia geral (pentobarbital, intraperitoneal, 30 mg/kg e xilazina 2% intramuscular, 5 mg/kg), os animais foram mantidos em respiração espontânea no início dos experimentos. Após a estabilização clínica, 24 animais foram randomizados e divididos em quatro grupos ($n = 6$), de acordo com o tempo de sobrevida após liberação da compressão (uma hora, seis horas e quatro horas) ou grupo controle ($n = 6$). Uma faixa de borracha elástica (faixa de Esmarch) de 10 cm de largura e 80 cm de comprimento foi firmemente aplicada com 10 voltas sobre ambos os membros inferiores, de forma simultânea, pelo mesmo pesquisador (fig. 1). A pressão produzida pela faixa foi mensurada com valor de 300 mmHg, com o uso de uma variação do método de Whitesides, com a faixa ainda aplicada (fig. 2).¹¹ Após uma hora, a faixa foi retirada. Anestesia foi complementada quando necessário. De acordo com a prévia randomização, a eutanásia foi feita após uma, duas e quatro horas depois da retirada da faixa. Controles foram mantidos sob anestesia geral por quatro horas, sem compressão ou qualquer outro procedimento. A eutanásia foi feita com pentobarbital intraperitoneal (80 mg/kg) e amostras de sangue (2 mL) coletadas por punção do coração com agulha e seringa. O sangue retirado foi centrifugado imediatamente (4° C) e o plasma foi congelado (-80° C) para posterior análise das citoquinas. O desenho experimental desse modelo foi estabelecido e previamente conduzido por nosso grupo de pesquisa.⁸

Expressão de interleucinas 1, 6, 10 e TNF- α

Amostras de sangue foram coletadas (2 mL) por punção cardíaca imediatamente antes da eutanásia. Foram centrifugadas por 10 minutos em 1.000 g (4° C) e o sobrenadante (aproximadamente 1 mL de plasma) foi colocado em tubos plásticos eppendorf a -80° C para análise posterior. A expressão de interleucinas 1, 6 e 10 e do TNF- α foi feita de acordo com as instruções do fabricante (PharMingen – OptEia®, BD

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/2718015>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/2718015>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)