UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

RAFAEL ROCHA RODRIGUES

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO PEPTÍDEO RELACIONADO AO GENE DA CALCITONINA (CGRP) SOBRE A PRODUÇÃO DE CITOCINAS POR CÉLULAS MONONUCLEARES DE PACIENTES COM CEFALEIA PRIMÁRIAS

Uberaba, MG - 2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO PEPTÍDEO RELACIONADO AO GENE DA CALCITONINA (CGRP) SOBRE A PRODUÇÃO DE CITOCINAS POR CÉLULAS MONONUCLEARES DE PACIENTES COM CEFALEIA PRIMÁRIAS

Dissertação apresentada ao programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração de imunologia básica e aplicada, edital 41/2022 da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do mestrado.

Orientador: Prof. Dr. Carlo José Freire de Oliveira

Uberaba, MG - 2025

Catalogação na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Rodrigues, Rafael Rocha
R616a Avaliação dos efeitos do Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina (CGRP) sobre a produção de citocinas por células mononucleares de pacientes com cefaleia primárias / Rafael Rocha Rodrigues. -- 2026.
40 p.: il., fig., graf., tab.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) -- Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2025
Orientador: Prof. Dr. Carlo José Freire de Oliveira

1. Transtornos de enxaqueca. 2. Transtornos da cefaleia primários. 3. Peptídeo relacionado com gene de calcitonina. 4. Citocinas. I. Oliveira, Carlo José Freire de. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 616.857

Cicera Daniele da Silva - Bibliotecária - CRB-6/3012

RAFAEL ROCHA RODRIGUES

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO PEPTÍDEO RELACIONADO AO GENE DA CALCITONINA (CGRP) SOBRE A PRODUÇÃO DE CITOCINAS POR CÉLULAS MONONUCLEARES DE PACIENTES COM CEFALEIA PRIMÁRIAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração “Ciências da Saúde” (Linha de Pesquisa: Aspectos Imunopatológicos, Morfológicos, Celulares E Moleculares Das Doenças) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Uberaba, 19 de dezembro de 2025

Banca Examinadora:

Dr. Carlo José Freire de Oliveira – Orientador
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Dr. Alex Eduardo da Silva
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Dra. Camila Botelho Miguel
Centro Universitário de Mineiros

Documento assinado eletronicamente por **CARLO JOSE FREIRE DE OLIVEIRA**, **Professor do Magistério Superior**, em 19/12/2025, às 16:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 e no art. 34 da Portaria Reitoria/UFTM nº 215, de 16 de julho de 2024.

Documento assinado eletronicamente por **ALEX EDUARDO DA SILVA**, **Professor do Magistério Superior**, em 19/12/2025, às 17:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 e no art. 34 da Portaria Reitoria/UFTM nº 215, de 16 de julho de 2024.

Documento assinado eletronicamente por **Camila Botelho Miguel**, **Usuário Externo**, em 22/12/2025, às 08:30, conforme horário

oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 e no art. 34 da Portaria Reitoria/UFTM nº 215, de 16 de julho de 2024.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.uftm.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1679027** e o código CRC **9503897D**.

AGRADECIMENTOS

A conclusão desta dissertação de Mestrado não seria possível sem o apoio e incentivo de diversas pessoas, às quais gostaria de expressar minha mais sincera gratidão.

Em primeiro lugar, direciono meus agradecimentos à minha família. Aos meus pais, Virmondes e Denise, pelo alicerce de valores, pelo amor incondicional e por sempre acreditarem no meu potencial, mesmo nos momentos mais desafiadores. Seu sacrifício e encorajamento foram a força motriz que me guiou até aqui.

Um agradecimento profundamente especial à minha esposa, Rafaela. Esta jornada acadêmica exigiu não apenas o meu empenho, mas também o nosso. Obrigado pela paciência infinita, pela compreensão nos momentos de ausência e pelo apoio incansável em cada etapa. Sua companhia foi meu porto seguro, e esta conquista é tão sua quanto é minha.

Agradeço também aos meus irmãos, Guilherme e Bárbara, meus avós,meus familiares e meus amigos, que são a família que escolhi, meu sincero obrigado. Pelos momentos de descontração que foram essenciais para renovar as energias, pelas palavras de incentivo e por entenderem a minha escassez. Suas risadas e amizade foram um farol de luz durante a intensidade deste período.

Por fim, mas não menos importante, agradeço aos meus orientadores e colegas de curso, pelo conhecimento partilhado e pelo ambiente de crescimento mútuo.

A todos, o meu eterno e grato reconhecimento.

LISTA DE ABREVIATURAS

CGRP: Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina

LPS: Lipopolissacarídeo

PHA: Fitohemaglutinina

IL: Interleucinas

PBMC: Células mononucleares do sangue periférico

TNF: Fator de necrose tumoral

5-HT: 5-hidroxitriptamina / serotonina

SNC: Sistema Nervoso Central

CN V: 5º par de nervo craniano/Nervo Trigemio

IFN: Interferon

CALCA: Calcitonin Gene-Related Peptide/Calcitonin gene

PAMPs: Padrões moleculares associados a patógenos

PRRs: Receptores de reconhecimento de padrões

CLR: Receptor semelhante ao receptor de calcitonina

RAMP1: Proteína modificadora da atividade do receptor 1

PKC: Proteína quinase C

PKA: Proteína quinase A

Arg1: Arginase-1

NF- κB: Fator Nuclear Kappa B

STAT-6: Transdutor de sinal e ativador da transcrição 6

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Alvos da terapia focada no CGRP. Fonte: Eller M.T. Et al., Novel Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) Interfering Migraine Therapies and Stroke—A Review

Figura 2: Níveis de citocinas moduladoras da resposta imune: PBMC de pacientes com migrânea e controles foram cultivados por 48 horas sem estímulo e em presença de LPS e CGRP. Os níveis de citocinas nos sobrenadantes são expressos em pg/mL, cada ponto representa um indivíduo. A linha horizontal representa a mediana e a linha vertical o intervalo interquartil. * indica diferença significativa entre os 2 grupos (Mann-Whitney). # indica a diferença significativa pela presença do CGRP no mesmo grupo (Wilcoxon).

Figura 3: Níveis de citocinas moduladoras da resposta imune: PBMC de pacientes com migrânea e controles foram cultivados por 72 horas sem estimulo e em presença de PHA e CGRP. Os níveis de citocinas nos sobrenadantes são expressos em pg/mL, cada ponto representa um indivíduo. A linha horizontal representa a mediana e a linha vertical o intervalo interquartil. * indica diferença significativa entre os 2 grupos (Mann-Whitney). # indica a diferença significativa pela presença do CGRP no mesmo grupo (Wilcoxon).

Resumo

A migrânea, ou enxaqueca, é uma doença descrita desde a antiguidade e que possui características específicas, podendo ou não apresentar pródomos, fotofobia, fonofobia e até náusea e vômitos. Hoje, a medicina mostrou que sua origem é principalmente neurovascular, sendo a parte sensitiva do nervo trigêmeo o principal responsável. Para atuar na vasodilatação, o trigêmeo utiliza, dentre outros, o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), que atua diretamente nos vasos e sobre células imunes que incluem os mastócitos, macrófagos e linfócitos, favorecendo a vasodilatação, inflamação e ativação imune. Conhecendo a fisiopatologia dessa doença, a indústria farmacêutica iniciou o desenvolvimento de drogas e imunobiológicos que atuariam bloqueando a ação do peptídeo CGRP, que tiveram bom sucesso terapêutico. Para entender os efeitos do CGRP sobre a resposta imune, analisamos seu potencial modulador *in vitro*. Foram estudados 20 indivíduos, sendo 11 com cefaleias primárias e 9 controles. Células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) foram separadas, cultivadas e estimuladas com Lipopolissacarídeo (LPS), Fitohemaglutinina (PHA) e CGRP na tentativa de avaliar a produção de citocinas pró- e anti-inflamatórias. Para tanto, os sobrenadantes das culturas foram coletados e avaliados quanto a concentração de citocinas, através do ensaio CBA. O CGRP, adicionado às culturas de PBMCs, isoladamente, foi capaz de induzir significativamente a produção e secreção das citocinas IL-1β, TNF e IL-10. Interessantemente, quando o CGRP foi adicionado as células que foram estimuladas com LPS, houve uma diminuição significativa dos níveis das citocinas TNF e IL-10. Na comparação das respostas entre os grupos de indivíduos saudáveis com Migrânea, frente à mesma condição de estímulo, a produção de IL-6 por PBMCs foi menor no grupo Migrânea que recebeu o estimulo CGRP. Por outro lado, a produção do TNF foi maior nos PBMCs de pacientes do grupo Migrânea que recebeu o estimulo LPS e CGRP. Já a produção da citocina IL-10 foi menor nas PBMCs de indivíduos do grupo Migrânea, sejam estas nas culturas sem estímulo ou estimuladas com CGRP e LPS. Estes dados apontam que os indivíduos com Migrânea apresentam uma menor sensibilidade à modulação da resposta imune pela ação isolada do CGRP, ou seja, apresentam maiores respostas quando estímulos combinados são aplicados. Os pacientes com Migrânea, ainda, apresentam PBMCs com menores produções de IL-10 e maiores produções de TNF sugerindo que indivíduos com Migrânea tem uma maior propensão a gerar respostas inflamatórias. Os fenômenos inflamatórios aumentados nestes pacientes sugerem uma relação de aumento da intensidade e da duração do fenômeno da dor.

Palavras-chaves: Migrânea, Cefaleia primárias, CGRP, PBMCs, Citocinas.

Abstract

Migraine, or headache, is a disease described since antiquity that has specific characteristics, which may or may not include prodromes, photophobia, phonophobia, and even nausea and vomiting. Today, medicine has shown that its origin is primarily neurovascular, with the sensory part of the trigeminal nerve being the primarily responsible. To act on vasodilation, the trigeminal nerve uses, among others, the calcitonin-gene-related peptide (CGRP), which acts directly on blood vessels and on immune cells that include mast cells, macrophages, and lymphocytes, promoting vasodilation, inflammation, and immune activation. Knowing the pathophysiology of this disease, the pharmaceutical industry began the development of drugs and immunobiologicals that would act by blocking the action of the CGRP peptide, which have had good therapeutic results. To understand the effects of CGRP on the immune response, we analyzed its modulatory potential in vitro. Twenty individuals were studied, 11 with primary headaches and 9 controls. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were separated, cultured, and stimulated with Lipopolysaccharide (LPS), Phytohemagglutinin (PHA), and CGRP in an attempt to evaluate the production of pro- and anti-inflammatory cytokines. For this purpose, culture supernatants were collected and assessed for cytokine concentration. The presence of cytokines was analyzed using the CBA assay. CGRP, added to PBMC cultures alone, was capable of significantly inducing the production and secretion of the cytokines IL-1β, TNF, and IL-10. Interestingly, when CGRP was added to cells that were stimulated with LPS, there was a significant decrease in the levels of TNF and IL-10 cytokines. In the comparison of responses between the groups of healthy individuals or those with Migraine, under the same stimulus condition, the production of IL-6 by PBMCs was lower in the Migraine group that received the CGRP stimulus. On the other hand, the production of TNF was higher in the PBMCs of patients in the Migraine group that received the LPS plus CGRP stimulus. The production of the cytokine IL-10 was lower in the PBMCs of individuals in the Migraine group, whether in unstimulated cultures or those stimulated with CGRP plus LPS. These data indicate that individuals with Migraine have a lower sensitivity to the modulation of the immune response by the isolated action of CGRP, that is, they exhibit higher responses when combined stimuli are applied. Furthermore, patients with Migraine have PBMCs with lower production of IL-10 and higher production of TNF, suggesting that individuals with Migraine have a greater propensity to generate inflammatory responses. The increased inflammatory phenomena in these patients suggest a relationship of increased intensity and duration of the pain phenomenon.

Keywords: Migraine, Primary Headache, CGRP, PBMCs, Cytokines

Sumário

1. Introdução 9

2. Justificativa 19

3. Hipótese 20

4. Objetivos 21

4.1. Objetivos Gerais 21

4.2. Objetivos Específicos 21

5. Metodologia 22

5.1. Sujeitos da Pesquisa 22

5.2. Cultura de PBMCs 22

5.3. Análise de Citocinas 23

5.4. Análise estatística 23

6. Resultados 24

6.1. Casuística 24

6.2. Efeito do CGRP sobre o estímulo com LPS 24

6.3. Efeito do CGRP sobre o estímulo com PHA 29

7. Discussão 32

8. Conclusões 37

Referências Bibliográficas 38

ANEXOS: 42

1. Introdução

As cefaleias primárias, que incluem as enxaquecas e as cefaleias em salvas, são condições neurológicas que se manifestam por dor de cabeça intensa e recorrente, com características e epidemiologias distintas. A enxaqueca é uma cefaleia primária caracterizada por episódios recorrentes de dor de cabeça moderada a intensa, frequentemente unilateral, pulsátil, acompanhada de sintomas como náuseas, vômitos, fotofobia e fonofobia. A enxaqueca dura de 4 a 72 horas e pode ser precedida por sintomas aurais, que incluem distúrbios visuais e sensitivos(International Headache Society, 2018).

Epidemiologicamente, a enxaqueca é mais prevalente em indivíduos jovens e de meia-idade, com pico de incidência entre 25 e 45 anos. A prevalência da enxaqueca varia, afetando aproximadamente 12% da população, sendo mais comum em mulheres (cerca de 18%) do que em homens (cerca de 6%) (Vos et al., 2012). Fatores genéticos, hormonais, ambientais e comportamentais desempenham um papel significativo no desenvolvimento da doença(Vos et al., 2012).

A cefaleia em salvas, por outro lado, é uma cefaleia primária rara, mas extremamente debilitante, caracterizada por episódios de dor intensa, unilateral, que ocorre em torno do olho ou da região temporal. Os episódios podem durar de 15 minutos a 3 horas e geralmente ocorrem no mesmo horário do dia, podendo se repetir várias vezes ao longo de semanas ou meses, seguidos por períodos de remissão (Ray et al., 2022). Sintomas associados incluem congestão nasal, lacrimação e sudorese facial.

A prevalência da cefaleia em salvas é estimada em 0,1% da população, com predominância em homens, na faixa etária de 20 a 50 anos. Fatores como tabagismo e consumo de álcool podem desencadear crises (Natoli et al., 2009). Ambas as condições apresentam impacto significativo na qualidade de vida dos pacientes, levando a ausências no trabalho, dificuldades sociais e redução da produtividade (Burch et al., 2018). O manejo das cefaleias primárias é multidisciplinar, envolvendo farmacoterapia e abordagens não farmacológicas.

As cefaleias primárias, são essencialmente decorrentes de processos de vasodilatação que ocorrem nas artérias cerebrais e meníngeas. Este fenômeno é crucial para a patogênese dessas condições, contribuindo para a dor intensa e os sintomas

associados que caracterizam esses tipos de cefaleia. A vasodilatação nas cefaleias primárias é mediada por uma série de fatores que envolvem tanto mecanismos neurogênicos quanto inflamatórios. Durante um episódio de enxaqueca, por exemplo, ocorre uma ativação do sistema trigeminovascular, que resulta na liberação de neurotransmissores e neuropeptídeos, levando à dilatação das artérias cerebrais e meníngeas. Esta dilatação é acompanhada por um aumento na permeabilidade vascular, contribuindo para a inflamação local e a sensibilização das terminações nervosas (Goadsby et al., 2017).

Os mediadores envolvidos nesse processo incluem o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), a serotonina (5-HT), a neurocinina A e a substância P. O CGRP, em particular, desempenha um papel fundamental na indução da vasodilatação e na modulação da dor. Estudos demonstram que níveis elevados de CGRP são encontrados em pacientes durante crises de enxaqueca, e a administração de antagonistas do CGRP tem mostrado eficácia no alívio da dor (Edvinsson et al., 2018).

Além do CGRP, a serotonina também tem um papel significativo na fisiologia das cefaleias. Durante uma crise de enxaqueca, a liberação de serotonina pode inicialmente causar vasoconstrição, mas a sua diminuição subsequente está associada à vasodilatação e à dor de cabeça. A resposta inflamatória desencadeada pelos neuropeptídeos, como a substância P e a neurocinina A, também contribui para o aumento da dor e da sensibilidade (Ramachandran., 2018).

Em cefaleias em salvas, o mecanismo de vasodilatação é semelhante, mas a natureza episódica e a intensidade da dor são distintas. A ativação dos neurônios trigeminais e a liberação dos mesmos mediadores inflamatórios resultam em episódios breves, mas extremamente dolorosos, de cefaleia, que podem ser acompanhados de sintomas autonômicos, como lacrimação e congestão nasal (Ray et al., 2022).

Entender os mecanismos de vasodilatação e os mediadores envolvidos nas cefaleias primárias é essencial para o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes. As terapias direcionadas a esses mediadores, como os antagonistas do CGRP, representam um avanço significativo na abordagem terapêutica das cefaleias.

O Nervo Trigêmeo nas cefaleias primárias

A compreensão da origem e da função do nervo trigêmeo é essencial para o estudo das cefaleias e de outras condições neurológicas. Sua inervação dos vasos sanguíneos cerebrais e meníngeos não apenas destaca seu papel na sensibilidade da face, mas também evidencia sua importância na patofisiologia das cefaleias, estabelecendo uma ligação entre a neuroanatomia e a clínica (Kandel et al., 2013)

O nervo trigêmeo, também conhecido como quinto nervo craniano (CN V), é um dos principais nervos do sistema nervoso central (SNC) e desempenha um papel crucial na inervação sensitiva da face, além de estar envolvido na inervação dos vasos sanguíneos cerebrais e meníngeos (Buse et al., 2019).

O nervo trigêmeo origina-se do tronco encefálico, na junção entre a ponte e o mesencéfalo. É composto por duas raízes: uma raiz sensitiva, que é volumosa e contém os corpos celulares dos neurônios sensitivos, e uma raiz motora mais fina, que inerva os músculos da mastigação. Os neurônios sensitivos do trigêmeo têm seus corpos celulares localizados em um gânglio chamado gânglio de Gasser ou gânglio trigeminal, que está situado na cavidade craniana (Kandel et al., 2013). A raiz sensitiva do trigêmeo se divide em três ramos principais: o ramo oftálmico, o ramo maxilar e o ramo mandibular. Cada um desses ramos fornece inervação sensorial a diferentes regiões da face e também se estende para estruturas importantes, incluindo a dura-máter e os vasos sanguíneos intracranianos (Edvinssonet al., 2020).

O nervo trigêmeo desempenha um papel fundamental na inervação dos vasos sanguíneos cerebrais e meníngeos através de suas fibras sensitivas que se estendem para o sistema vascular. As fibras do trigêmeo, especialmente aquelas que pertencem ao ramo oftálmico e mandibular, se distribuem amplamente pelos vasos sanguíneos do cérebro, incluindo as artérias e veias meníngeas (Goadsby et al., 2017). Essas fibras trigeminais são sensíveis a estímulos nociceptivos e são ativadas durante episódios de cefaleias, como nas enxaquecas e Cefaleia em salvas. Quando ativadas, elas liberam neuropeptídeos, como o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) e a substância P, que promovem a vasodilatação e a inflamação dos vasos sanguíneos, contribuindo para a dor (Edvinsson et al., 2018). Essa interação entre as fibras do trigêmeo e os vasos sanguíneos é crucial para a compreensão das cefaleias primárias,

pois a ativação dessas fibras durante uma crise pode resultar em um ciclo de dor e inflamação que prolongam os episódios de cefaleia.

Vários sinais nociceptivos podem desencadear a ativação das raízes sensitivas do trigêmeo, incluindo desde fatores ambientais, como mudanças bruscas de temperatura, exposição à luz intensa ou ruídos altos ou até mesmo fatores emocionais, destacando-se o estresse e a ansiedade, que são conhecidos por desencadear cefaleias pela ativação do sistema nervoso autônomo em resposta, resultando em alterações na vascularização cerebral e ativando fibras nociceptivas do trigêmeo (Buse et al., 2019).

Alguns alimentos, como chocolate, álcool (em especial o vinho tinto), cafeína e queijos envelhecidos, também são frequentemente relatados como gatilhos de enxaquecas. Essas substâncias podem alterar a química cerebral ou a vasodilatação, ativando as raízes do trigêmeo (Hindiyeh et al., 2020).

Flutuações hormonais, especialmente em mulheres, também podem agir como gatilhos para cefaleias. O ciclo menstrual e a menopausa estão associados a alterações nos níveis de estrogênio que podem sensibilizar as fibras nociceptivas do trigêmeo (Krause et al., 2021).

Outros fatores como privação de sono ou mudanças nos padrões de sono, e até mesmo infecções também podem desencadear cefaleias. A falta de sono e o processo inflamatorio infeccioso podem levar a uma maior sensibilidade à dor e ativação das vias nociceptivas trigeminais (Brennan et al., 2009; Ramesh et al., 2025).

Quando esses sinais nociceptivos são detectados, as fibras sensoriais trigeminais são ativadas e enviam sinais ao sistema nervoso central. Essa ativação resulta em uma cascata de eventos, incluindo a liberação de neuropeptídeos, como o CGRP e a substância P, que promovem a vasodilatação e a inflamação das estruturas vasculares, culminando na dor intensa associada às cefaleias primárias(Goadsby et al., 2017).

O Papel do CGRP nas Cefaleias Primárias e sua Interação com Células da Resposta Imune

O peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) tem se destacado como um mediador crucial nas cefaleias primárias, incluindo enxaquecas e cefaleias em salvas.

Sua produção e função não se restringem apenas ao sistema nervoso; o CGRP também é produzido por células do sistema imune e interage com elas, influenciando a resposta inflamatória associada a esses tipos de dor de cabeça.

O gene que codifica o CGRP é o CALCA (Calcitonin Gene-Related Peptide/Calcitonin gene), localizado no cromossomo 11p15.2-15.1 em humanos. Esse gene é caracterizado pela capacidade de gerar produtos distintos a partir de splicing alternativo, resultando tanto no hormônio calcitonina, predominante em células da tireoide, quanto no CGRP, cuja expressão é marcante em neurônios sensoriais, incluindo os do gânglio trigeminal (Caronna, 2022; Goadsby, 2019).

Após a exportação do mRNA para o citoplasma, a tradução nos ribossomos do retículo endoplasmático rugoso gera um pró-peptídeo denominado pré-pró-CGRP, que passa por modificações pós-traducionais no retículo e no aparelho de Golgi, resultando no CGRP maduro. Este é então armazenado em vesículas sinápticas nos terminais nervosos (Goadsby, Amara 1982). A liberação de CGRP ocorre de forma dependente de cálcio, após a ativação nociceptiva, especialmente nos terminais perivasculares da dura-máter e vasos cerebrais, promovendo vasodilatação, ativação de células imunes residentes e amplificação da transmissão nociceptiva em direção ao tronco encefálico (Edvinsson et al., 2019).

No nervo trigêmeo, a abundância de CGRP e sua liberação em resposta à estimulação nociceptiva explicam sua participação central na fisiopatologia da enxaqueca. Durante uma crise de enxaqueca, a liberação de CGRP resulta em vasodilatação das artérias cerebrais e meníngeas, o que contribui para a dor intensa e os sintomas associados (Goadsby et al., 2002). Estudos demonstram que níveis elevados de CGRP são encontrados no sangue e no fluido cefalorraquidiano de pacientes durante episódios de enxaqueca, reforçando seu papel central na patofisiologia dessa condição (Edvinsson et al., 2018).

Além de sua produção nas terminações nervosas, o CGRP também é produzido por células do sistema imunológico, como macrófagos e linfócitos T, que podem ser ativados em resposta a inflamações e lesões. Essas células expressam receptores para CGRP, permitindo que o peptídeo exerça efeitos moduladores sobre a função imunológica. O CGRP pode atuar como um sinalizador para essas células, promovendo

a liberação de citocinas e outros mediadores inflamatórios, o que pode amplificar a resposta inflamatória durante os episódios de cefaleia (Taylor, 2019).

Essa interação entre o CGRP e as células do sistema imunológico sugere que o peptídeo não apenas contribui para a dor, mas também desempenha um papel na regulação da inflamação. A ativação das células imunes pela CGRP pode intensificar os processos inflamatórios que sustentam a dor de cabeça, criando um ciclo vicioso onde a dor leva à inflamação, que por sua vez perpetua a dor (Silva et al., 2024).

O reconhecimento do papel do CGRP nas cefaleias primárias e sua interação com o sistema imune abriu novas perspectivas para o tratamento dessas condições. Antagonistas do CGRP têm sido desenvolvidos, conforme ilustrado na Figura 1, demonstrando eficácia na redução da frequência e intensidade das crises de enxaqueca, ao interromper a ação do peptídeo tanto no sistema nervoso quanto na resposta inflamatória (Ho et al,. 2010). Essas terapias representam um avanço significativo no manejo das cefaleias, proporcionando alívio a muitos pacientes

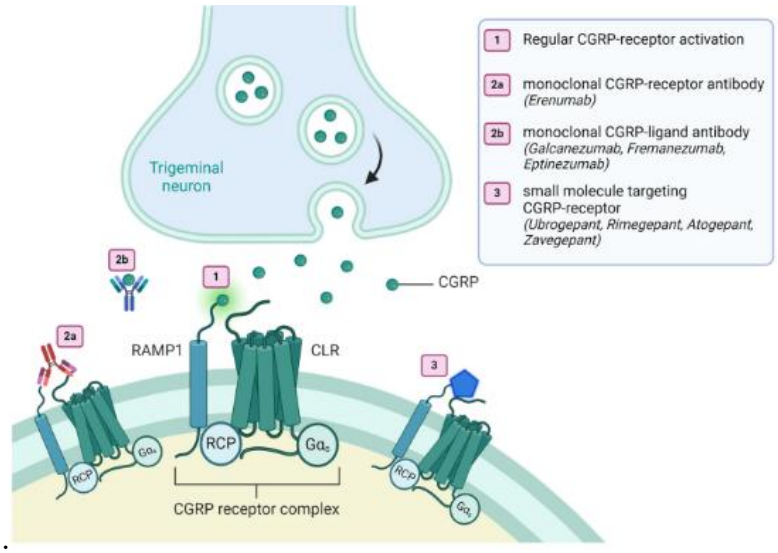


Figura 1: Alvos da terapia focada no CGRP. *Fonte: Eller M.T. Et al., Novel Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) Interfering Migraine Therapies and Stroke—A Review*

Embora o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) seja amplamente reconhecido por seu papel pró-inflamatório nas cefaleias primárias, emergem evidências que sugerem que o CGRP também possui propriedades anti-inflamatórias, especialmente em contextos relacionados à modulação da resposta imune por linfócitos

T e macrófagos. Essas propriedades são essenciais para entender a complexidade do CGRP na fisiologia e patologia das cefaleias.

O CGRP tem demonstrado influenciar a produção de várias citocinas em linfócitos T. Estudos indicam que a presença do CGRP pode promover a produção de interleucina-10 (IL-10), uma citocina com propriedades anti-inflamatórias significativas. A IL-10 é conhecida por inibir a síntese de citocinas pró-inflamatórias e é fundamental na regulação da resposta imune, promovendo a homeostase e evitando a ativação excessiva do sistema imune (Li et al., 2016). A ativação de linfócitos T CD4+ por CGRP pode, assim, facilitar a transição de uma resposta inflamatória para uma resposta mais regulada e controlada.

Além da IL-10, o CGRP pode influenciar a produção de outras citocinas, como a interleucina-4 (IL-4) e a interleucina-13 (IL-13), que estão associadas à promoção de respostas imunes do tipo Th2. Essas citocinas são importantes na modulação da inflamação e na promoção da reparação tecidual, contribuindo para um ambiente menos propenso à inflamação crônica (Li et al., 2016).

Nos macrófagos, o CGRP também exerce um papel modulador, influenciando a produção de citocinas em resposta à inflamação. A presença de CGRP pode induzir a liberação de IL-10, assim como a inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF) e a interleucina-6 (IL-6). Essa modulação é crucial para controlar a inflamação tecidual e prevenir danos colaterais resultantes de uma resposta imune exacerbada (Tori et al., 1997).

Além disso, o CGRP pode afetar a polarização dos macrófagos, promovendo um fenótipo M2, que é associado a funções anti-inflamatórias e de reparo tecidual, ao invés do fenótipo M1, que é classificado como pró-inflamatório. Essa mudança no fenótipo celular pode resultar em uma resposta inflamatória mais equilibrada e eficaz, favorecendo a resolução da inflamação (Tao et al., 2025).

O CGRP desempenha um papel multifacetado nas cefaleias primárias, não apenas como um mediador da dor, mas também como um influenciador da resposta imune. Compreender essas interações é crucial para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas mais eficazes e direcionadas no tratamento das cefaleias. A dualidade das propriedades do CGRP, atuando tanto em contextos pró-inflamatórios quanto anti-inflamatórios, destaca sua complexidade na modulação da resposta imune.

Compreender essas interações é fundamental para o desenvolvimento de terapias direcionadas que possam aproveitar os efeitos benéficos do CGRP na regulação da inflamação, especialmente em condições como as cefaleias primárias.

Os dados apresentados acima mostram que o CGRP tem um papel fundamental na modulação da dor e na vasodilatação. Durante um episódio de enxaqueca, as fibras trigeminais que liberam CGRP são ativadas, resultando em vasodilatação das artérias cerebrais e meníngeas, o que contribui para o aumento da pressão e da dor. Além disso, o CGRP promove a inflamação ao aumentar a permeabilidade vascular e ativar células inflamatórias, intensificando e prologando o quadro de dor (Goadsby et al., 2017).

Em resposta ao papel do CGRP nas cefaleias primárias, a indústria farmacêutica desenvolveu inibidores direcionados ao CGRP e seus receptores. Estas terapias têm como objetivo bloquear a ação do CGRP, interrompendo o ciclo de dor e inflamação. Existem duas classes principais de medicamentos: os antagonistas do receptor de CGRP e os anticorpos monoclonais que se ligam ao CGRP.

Os antagonistas do receptor de CGRP, como o rimegepant e o ubrogepant, atuam bloqueando os receptores de CGRP, inibindo sua capacidade de induzir vasodilatação e ativar células inflamatórias. Estudos clínicos demonstraram que esses fármacos são eficazes na redução da dor de enxaqueca e têm um perfil de segurança favorável (Edvinsson et al., 2018).

Já os anticorpos monoclonais, como erenumab, fremanezumab e galcanezumab são anticorpos projetados para se ligar ao CGRP ou a seu receptor, prevenindo sua ação. Esses agentes têm mostrado eficácia na prevenção de enxaquecas, proporcionando alívio significativo para pacientes que não respondem a tratamentos tradicionais (Goadsby et al., 2020). Além disso, apresentam um baixo risco de efeitos colaterais, o que os torna uma opção atraente para muitos pacientes.

A identificação do CGRP como um mediador central nas cefaleias primárias revolucionou a abordagem terapêutica para essas condições. O desenvolvimento de inibidores farmacológicos que visam o CGRP representa um avanço significativo no tratamento das cefaleias, oferecendo novas esperanças para pacientes que sofrem com a dor debilitante.

Uma vez que o CGRP pode também ser produzido por células da resposta imune e tem potencial de modular estas células, pela presença de receptores específicos, estas intervenções terapêuticas também tem o potencial de interferir na resposta imune e na inflamação. Neste estudo, abordamos a resposta de células mononucleares do sangue periférico ao CGRP, em condições de ausência de estímulo. Estímulos com LPS (lipopolissacarídeos) ou PHA (Fitohemoaglutinina).

O lipopolissacarídeo (LPS) é um componente fundamental da membrana externa de bactérias Gram-negativas e representa um dos principais padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). Sua detecção pelo sistema imune inato é essencial para a resposta inflamatória inicial contra infecções bacterianas. As células do sangue que mais reconhecem e respondem ao LPS são monócitos e neutrófilos, além dos linfócitos B em menor grau (Akira; Takeda; Kaisho, 2001). Esses tipos celulares expressam receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), capazes de identificar estruturas conservadas em microrganismos.

Dessa forma, o reconhecimento do LPS por esses receptores é responsável por desencadear a liberação de citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF, que são mediadoras centrais na ativação do sistema imune, iniciando uma complexa cascata de eventos que caracteriza o processo inflamatório.

A fito-hemaglutinina (PHA) é uma lectina extraída de Phaseolus vulgaris amplamente utilizada em imunologia como ferramenta experimental para avaliar a competência de linfócitos T humanos. Seu mecanismo de ação promove a ativação policlonal de linfócitos T independentemente da especificidade do receptor. O processo inicia-se com a ligação da PHA a resíduos de carboidratos (manose e galactose) presentes em glicoproteínas da superfície linfocitária, incluindo o complexo TCR/CD3 e moléculas coestimuladoras como CD2 (Nowell, 1960; Smith et al., 1980). Por possuir múltiplos sítios de ligação, a PHA promove cross-linking desses receptores, imitando a sinalização fisiológica gerada pela interação entre TCR e antígeno apresentado em MHC.

Entre os produtos mais relevantes dessa ativação está a interleucina-2 (IL-2), principal citocina autócrina responsável pela expansão clonal. Além da IL-2, a ativação por PHA induz um perfil de produção de citocinas típico da ativação robusta de

linfócitos T, incluindo a IL-4 e a IL-10 – associadas à diferenciação de células T auxiliares do tipo 2 (Th2) e à regulação da resposta imune respectivamente. Também se observa a produção de IFN-γ e TNF característicos de respostas Th1, importantes para a ativação de macrófagos e imunidade celular assim como a IL-6 e a IL-17 que estão relacionadas a uma resposta TH-17

2. Justificativa

Com o crescente uso de novas medicações para enxaqueca voltadas para bloqueio do CGRP, e considerando que as células do sistema imune inato e adaptativo também expressam receptores para o CGRP, são necessários estudos que possam ampliar à compreensão dos possíveis efeitos da ação do CGRP sobre a resposta do sistema imune em especial aquelas envolvidas na inflamação e na imunomodulação.

3. Hipótese

O peptídeo CGRP atua no sistema nervoso central e periférico ativando uma cascata inflamatória associada a uma vasodilatação responsável pela cefaleia. Além disso, o efeito direto do CGRP pode interferir e modular fatores associados aos mecanismos imunes e inflamatórios com potencial de ampliar o fenômeno da dor.

4. Objetivos

4.1. Objetivo Geral

O presente trabalho tem o objetivo de analisar a resposta de células mononucleares do sangue periférico a estimulo inflamatório (LPS) e Policlonal (PHA), frente á presença do CGRP.

4.2. Objetivos Específicos

- Avaliar os efeitos pró- ou anti-inflamatórios do CGRP sobre células mononucleares do sangue periférico estimuladas ou não com Lipopolissacarídeo (LPS), analisando a produção das citocinas IL-1β, TNF, IL-6, IL8 e IL10 conforme os kits de CBA;
- Avaliar os efeitos moduladores do CGRP sobre células mononucleares do sangue periférico estimuladas ou não com Fitohemoaglutinina (PHA), analisando a produção das citocinas IL-6, IL-10, TNF, IFN-γ e IL-17A, conforme os kits de CBA.

5. Metodologia

5.1. Sujeitos da Pesquisa

Foi realizada uma busca ativa de pacientes com diagnóstico de enxaqueca episódica, maiores de 18 anos foram convidados a participarem deste estudo. O grupo controle foi formado por indivíduos voluntários, maiores de 18 anos, sem queixas compatíveis com cefaleia primárias. Os sujeitos da pesquisa não estavam em uso de medicamentos com potencial interferência na resposta imune, como corticoides, imunossupressores ou anti inflamatórios. Não apresentavam quadro clínico de doença infecciosa vigente nem relatos de diagnóstico ou sintomas das mesmas nas últimas 4 semanas. De cada paciente, juntamente com a coleta de dados e assinatura do TCLE, em anexo (CAAE: 80761324.4.0000.8667), amostras de sangue periférico (aproximadamente 12mL no total) foram obtidas via punção venosa em tubos de coleta a vácuo contendo EDTA. O sangue coletado foi utilizado para a separação de células mononucleares do sangue periférico (PBMC) para a realização da cultura celular.

5.2. Cultura de PBMCs

PBMCs de cada sujeito foram separadas por centrifugação em gradiente de densidade utilizando-se Ficoll-Hipaque (d=1,077). O sangue de cada paciente foi cuidadosamente colocado sobre 8 mL de uma solução de Ficoll-Hypaque em tubos plásticos cônicos de 50mL. Os tubos foram centrifugados a 400 x g por 20 minutos, a temperatura ambiente, sem aceleração ou sem freio. Ao final da centrifugação, a nuvem de células (PBMC) formada na interface Ficoll-plasma foi coletada com pipeta e transferida para outro tubo do tipo Falcon de 15mL. O excesso de Ficoll presente na suspensão celular foi removido por meio de três lavagens com 10mL de meio RPMI incompleto com centrifugação a 200 x g a 4°C por 10 minutos. Após a última lavagem as células foram ressuspendidas em meio RPMI suplementado com 5% de SFB, e a quantidade de células determinadas por contagem em câmara de Neubauer, utilizando líquido de Turk. A concentração de células foi ajustada para $2x10_6$ cell/mL. As células foram então distribuídas em placas de cultura de 48 poços, 500 µL por poço e cultivadas por 48 horas em estufa de CO_2 a 37ºC em presença de Meio (sem estímulo), LPS 5µg/mL, CGRP 100nMol (Sigma-Aldrich). Após este período, os sobrenadantes foram coletados e armazenados em freezer -80ºC até análise. Paralelamente células dos

mesmos indivíduos foram cultivadas por 72 horas em presença de Meio (sem estímulo), PHA 2µg/mL, CGRP 100nMol (Sigma-Aldrich). Após este período, os sobrenadantes foram coletados e armazenados em freezer -80ºC até análise.

5.3. Análise de Citocinas

As citocinas IL-1β, TNF, IL-6, IL8 e IL10 foram dosadas nos sobrenadantes de 48 horas, em culturas onde o LPS foi usado como estimunolo teste, pela técnica de *Cytometric Bead Array* (CBA), utilizando o BD™ CBA Human Inflammatory Cytokine Kit. Os sobrenadantes de cultura de 72 horas, onde a PHA foi usada como estimulo, tiveram as citocinas IL-6, IL-10, TNF, IFN-γ e IL-17A dosadas pela técnica de *Cytometric Bead Array* (CBA), utilizando o BD™ CBA Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit. Todos os procedimentos foram realizados conforme instruções do fabricante. Resumidamente, as citocinas recombinantes do kit, em diluições seriadas (curva padrão), e as amostras de sobrenadante de cultura de PBMC das pacientes foram incubadas com microesferas de intensidade de fluorescência distintas, cada microesfera é revestida com um anticorpo de captura específico para uma citocina. Em seguida, sem lavagens, foram adicionados anticorpos de detecção conjugados com ficoeritrina (PE), específicos para cada citocina. Após incubação por 3 horas à temperatura ambiente, as microesferas foram lavadas com solução própria do kit e realizada a aquisição dos dados em citômetro FACSCanto (BD Biosciences, EUA), utilizando o programa Cell Quest (BD Biosciences, EUA). As microesferas específicas para cada citocina foram separadas por emitirem intensidades diferentes de fluorescência emitida à 660nm e a quantidade de citocina ligada a cada uma delas, pela intensidade de fluorescência emitida à 585nm. A análise dos resultados foi realizada pelo software FCAP Array 2.0 (BD Biosciences, EUA), e as concentrações das citocinas calculadas a partir da curva padrão e expressas em pg/mL.

5.4. Análise estatística

Os dados foram organizados em uma tabela Excel (Microsoft inc.) e analisados utilizando-se o software GraphPad Prism versão 8.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, EUA). Os dados foram inicialmente analisados quanto à normalidade de distribuição e homogeneidade por meio de múltiplos testes (D'Agostino & Pearson, Anderson-Darling, Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov). Como a maioria das variáveis não apresentou distribuição normal ($p<0,05$), foi aplicado o teste de Mann-

Whitney para comparação entre os grupos. P ara a comparação entre a resposta aos estímulos foi usado o teste de Wilcoxon. A significância foi estabelecida em $p<0,05$.

6. Resultados

6.1. Casuística

Neste estudo foram incluídos 20 indivíduos 11 apresentando cefaleia primárias e 9 controles. O grupo controle apresentou idade entre 21 e 42 anos com média de 29 anos. Foi composto de 2 indivíduos do sexo masculino e 7 do sexo feminino. O Grupo de cefaleia primária apresentava em sua maioria enxaqueca esporádica (8 casos) sendo 3 casos de enxaqueca crônica, sendo 10 pacientes são do sexo feminino e 1 do masculino. Os pacientes com enxaqueca crônica faziam uso de Propanolol ou Topiramato. A Idade variou de 21 a 51 anos, com média de 30 anos.

Tabela-1 Casuística

	Migrânea	Controle
Sexo (M/F)	(1/10)	2/7
Idades (Min- Max) anos	21 - 51	21 - 42
Migrânea Esporádica	8	-
Migrânea crônica	3	-
Tratamento (Crônico/crise)	3/11	-

6.2. Efeito do CGRP sobre o estímulo com LPS

Foram analisados sobrenadantes após 48 horas de cultivo. As células foram cultivadas sem estímulo (apenas meio de cultura), estimuladas com LPS (5µg/mL), estimuladas com CGRP (100nMol) ou com ambos os estímulos (LPS+CGRP). Foram analisadas, por CBA, as seguintes citocinas: IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF. As análises foram realizadas comparando cada um dos estímulos entre os dois grupos de sujeitos da pesquisa (Controles versus Migrânea) e em cada grupo comparando o efeito direto da

adição do CGRP. Foram usados os testes de Mann-Whitney e Wilcoxon, respectivamente. Os dados são representados graficamente na Figura 2.

A IL-1β apresentou um aumento significativo no grupo de indivíduos controles quando comparado sua produção por células não estimuladas versus a presença de CGRP (100 nMol) (Wilcoxon- p= 0,025). Nos sobrenadantes sem estímulos, a mediana foi de 41pg/mL com valores mínimos e máximos de zero e 148pg/mL. Nos sobrenadantes estimulados com CGRP a mediana foi de 125pg/ml com valores mínimos e máximos de 9pg/mL a 696pg/mL. As demais comparações realizadas não apresentaram diferença estatística significativa.

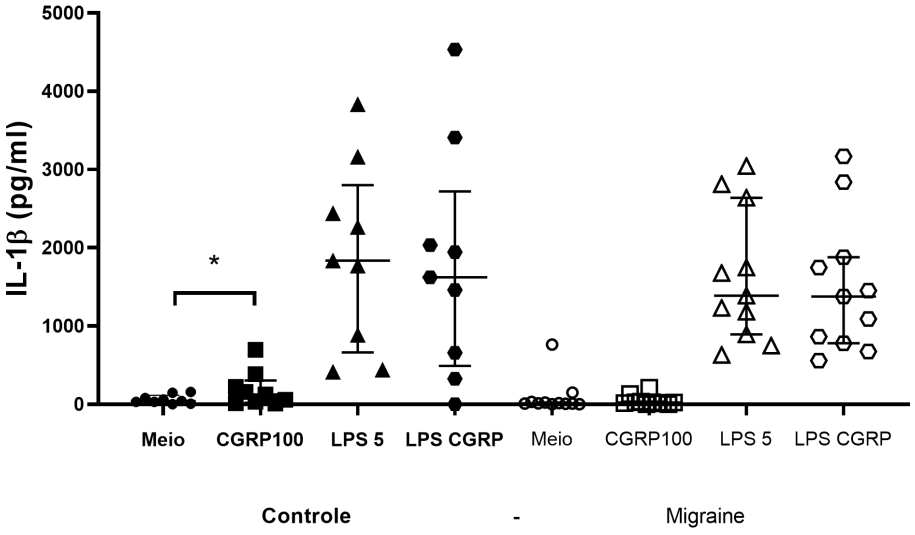
A IL-6 apresentou diferença significativa quando analisada a sua produção frente ao estímulo com CGRP, os níveis alcançados pelos indivíduos controles foram significativamente maiores que os de pacientes com migrânea (Mann-Whitney p= 0,044). Nos sobrenadantes do grupo controle estimulados com CGRP a mediana foi de 47,4ng/ml com valores mínimos e máximos de zero a 184,3ng/mL. No grupo de pacientes com Migrânea, a mediana foi de 2,96ng/mL com valores mínimos e máximos de zero a 45,35ng/mL. As demais comparações realizadas não apresentaram diferença estatística significativa.

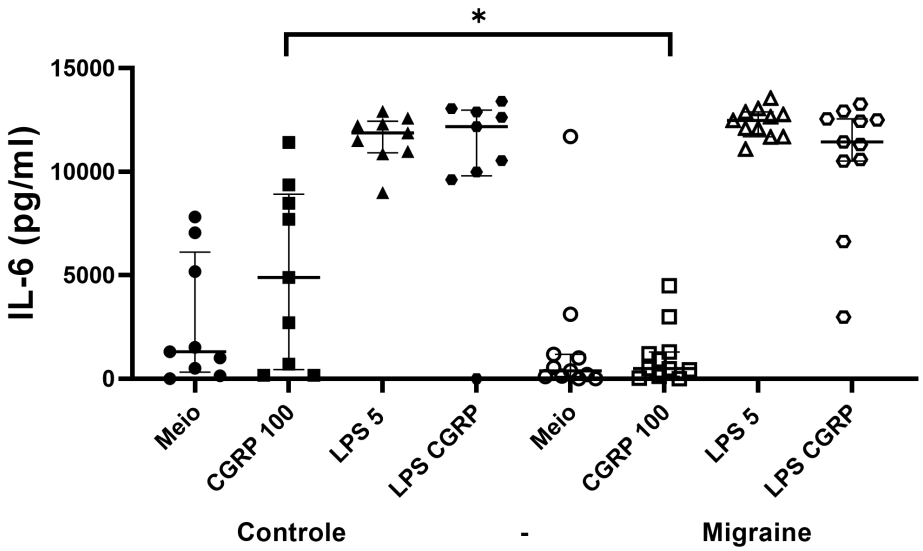
A IL-8 apresentou níveis variando de não detectado (zero) até 11.160pg/mL. Não foi observada nenhuma diferença significativa nas análises propostas. A IL-10 foi a citocina que apresentou maior número de diferenças significativas nas análises propostas. Nas comparações após estimulo com CGRP no grupo controle, mostrou-se um aumento significativo frente ao estímulo de CGRP (Wicoxon, p= 0,011). Nos sobrenadantes sem estímulo (meio) a mediana foi de 6pg/mL com valores mínimos e máximos de 2pg/mL e 51pg/mL. Neste mesmo grupo, o estimulo com CGRP apresentou mediana de 15pg/mL, com valores mínimos e máximos de 4pg/mL e 153 pg/mL. Ainda no grupo controle, a adição do CGRP às culturas estimuladas com LPS promoveu uma diminuição significativa na produção da IL-10 (Wicoxon, p= 0,007). Os sobrenadantes após estimulo com LPS apresentaram uma mediana de 419pg/mL e valores mínimos e máximos de 223pg/mL e 756pg/ml. Enquanto os sobrenades após estimulo com LPS e CGRP apresentaram mediana de 318pg/mL e valores mínimos e máximos de zero e 632pg/ml.

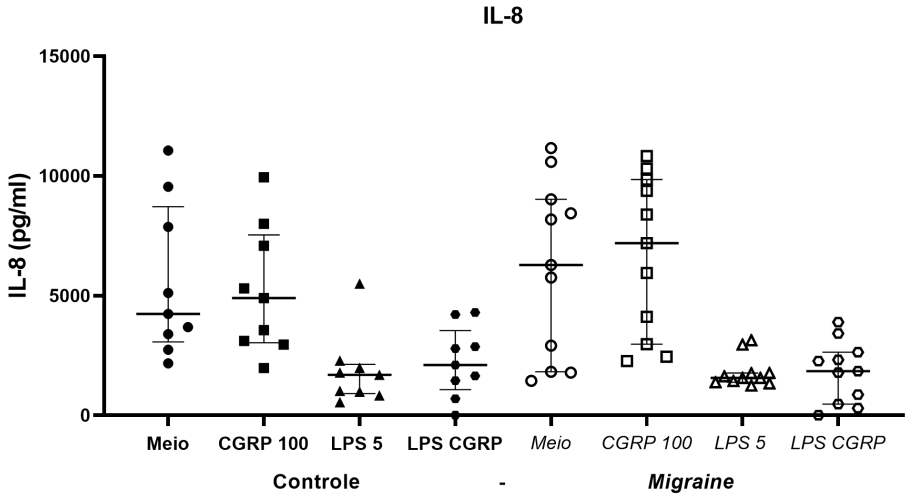
A comparação entre os dois grupos, Controle versus Migrânea apresentou diversas diferenças significativas. Na produção basal (meio) o grupo controle foi maior que no grupo Migrânea (Mann-Whitney, p=0,006). O grupo controle apresentou mediana de 6pg/mL com valores mínimos e máximos de 2pg/mL e 51pg/mL enquanto que no grupo Migrânea a mediana foi de 1pg/mL com valores mínimos e máximos de zero e 32pg/mL. Resultados semelhantes foram obtidos após o estímulo com CGRP. A Produção de IL-10 no grupo controle foi maior que no grupo Migrânea (Mann-Whitney, p=0,002). O grupo controle apresentou mediana de 15pg/mL com valores mínimos e máximos de 4pg/mL e 153pg/mL enquanto que no grupo Migrânea, a mediana foi de 3pg/mL com valores mínimos e máximos de zero e 11pg/mL. O grupo migrânea ainda apresentou produção significativamente menor de IL-10 após estimulo com LPS (Mann-Whitney, p=0,002). O grupo controle apresentou mediana de 419pg/mL com valores mínimos e máximos de 233pg/mL e 756pg/mL enquanto que no grupo Migrânea a mediana foi de 186pg/mL com valores mínimos e máximos de 92pg/mL e 305pg/mL.

A produção de TNF foi modulada significativamente pelo CGRP no grupo controle. Comparando, neste grupo, as culturas não estimuladas (meio), foi observada um aumento significativo após a adição do CGRP (Wilcoxon, p= 0,007). Os sobrenadantes sem estímulos apresentaram mediana de 1pg/mL, com valores mínimos e máximos de zero a 2pg/mL, enquanto que os sobrenadantes após estimulo com CGRP apresentaram mediana de 2pg/mL e valores mínimos e máximos de zero a 7pg/mL. A comparação, no grupo controle, dos sobrenadantes estimulados com LPS versus o estimulo conjunto, LPS e CGRP mostrou uma diminuição significativa (Wlcoxon, p=0,01). Os sobrenadantes de células estimuladas com LPS apresentaram mediana de 30pg/mL, com valores mínimos e máximos de 3pg/mL a 302pg/mL, enquanto que os sobrenadantes após estimulo com LPS e CGRP apresentaram mediana de 11pg/mL e valores mínimos e máximos de zero a 155pg/mL.

Na comparação entre os dois grupos, pode-se observar uma diferença significativa entre os valores de TNF quando estimulados com LPS e CGRP (Mann-Whitney, p= 0,040). Nos sobrenadantes do grupo apresentaram uma mediana de 11pg/mL, com valores mínimos e máximo de zero e 155pg/mL, já no sobrenadante do grupo Migranea, o valor da mediana foi 83pg/mL, com valores mínimos e máximos de 10pg/mL e 723pg/mL.


IL-1β (pg/ml)
5000
4000
3000
2000
1000
0
*
Meio
CGRP100
LPS 5
LPS CGRP
Meio
CGRP100
LPS 5
LPS CGRP
Controle
-
Migraine


*
IL-6 (pg/ml)
15000
10000
5000
0
Meio
CGRP 100
LPS 5
LPS CGRP
Meio
CGRP 100
LPS 5
LPS CGRP
Controle
-
Migraine


IL-8
IL-8 (pg/ml)
15000
10000
5000
0
Meio
CGRP 100
LPS 5
LPS CGRP
Meio
CGRP 100
LPS 5
LPS CGRP
Controle
-
Migraine

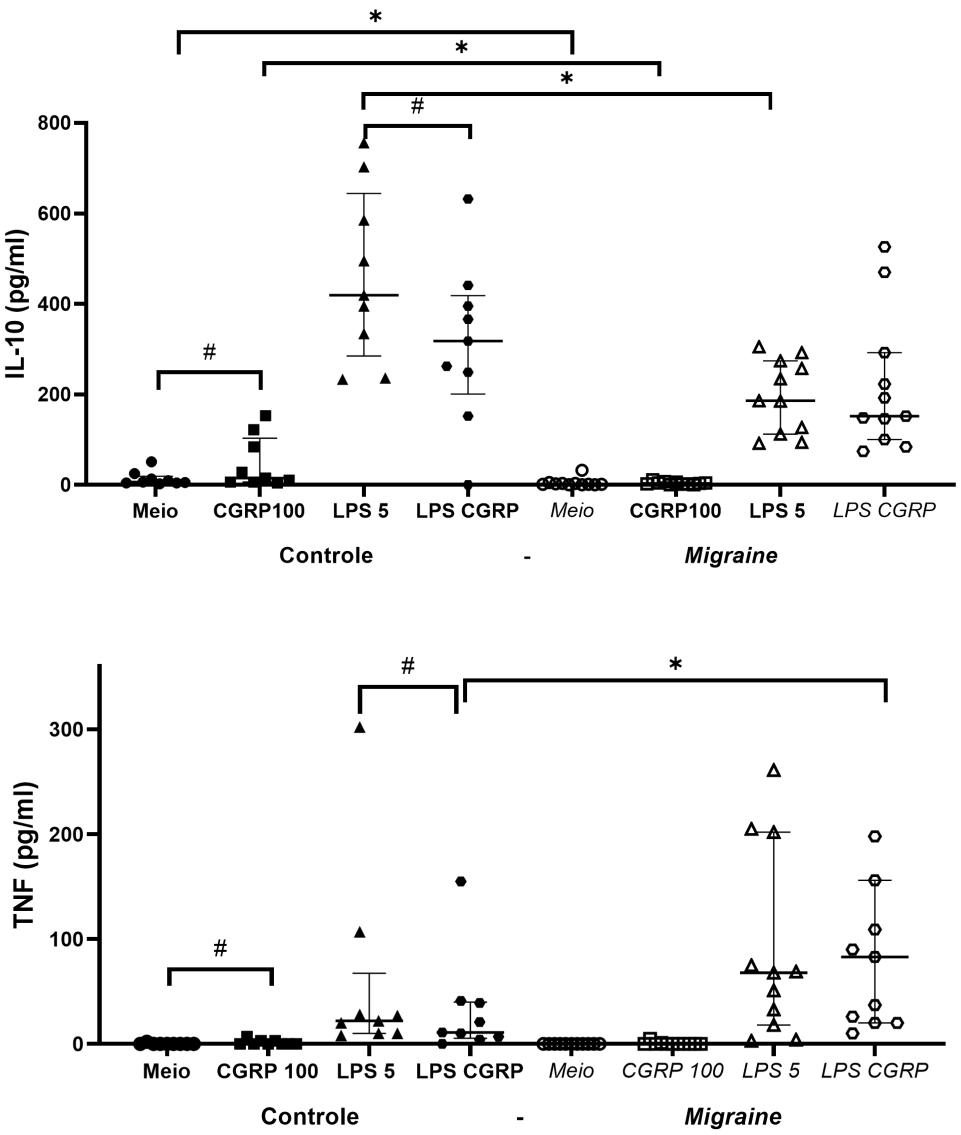


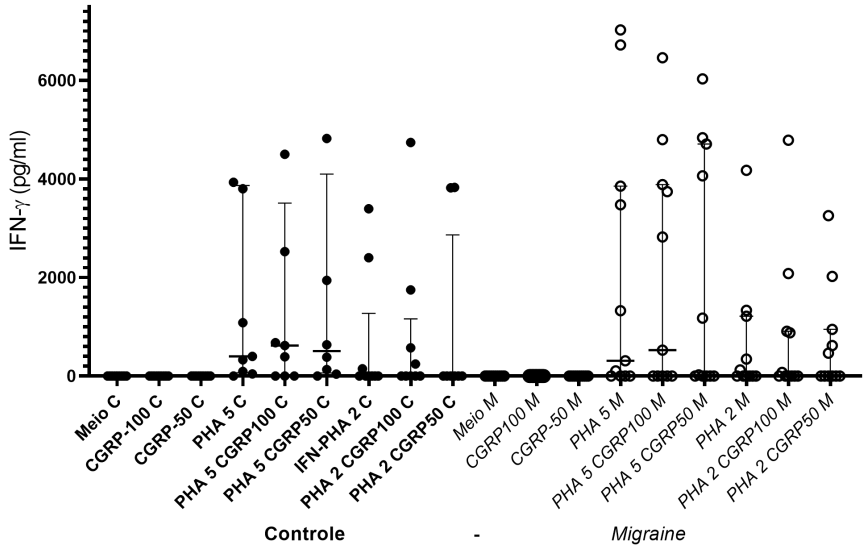
Figura 2: Níveis de citocinas moduladoras da resposta imune: PBMC de pacientes com migrânea e controles foram cultivados por 48 horas sem estimulo e em presença de LPS e CGRP. Os níveis de citocinas nos sobrenadantes são expressos em pg/mL, cada ponto representa um indivíduo. A linha horizontal representa a mediana e a linha vertical o intervalo interquartil. * indica diferença significativa entre os 2 grupos (Mann-Whitney). # indica a diferença significativa pela presença do CGRP no mesmo grupo (Wilcoxon).

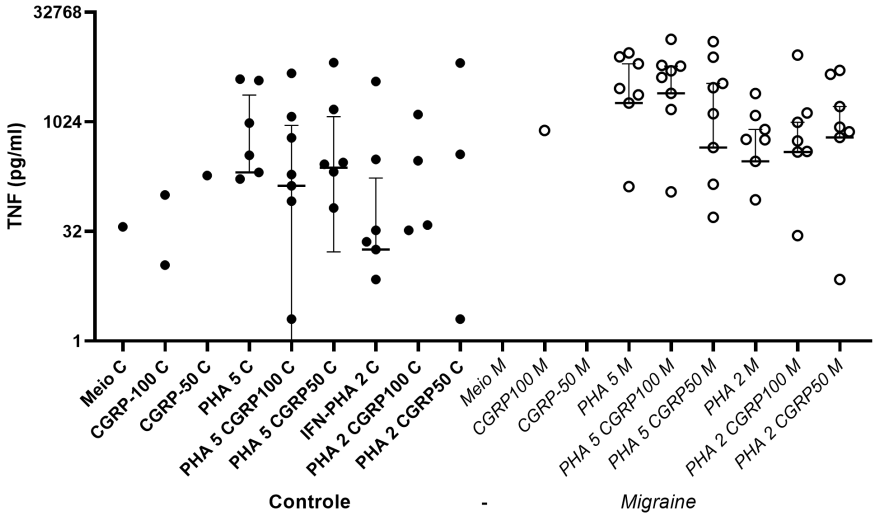
6.3. Efeito do CGRP sobre o estímulo com PHA

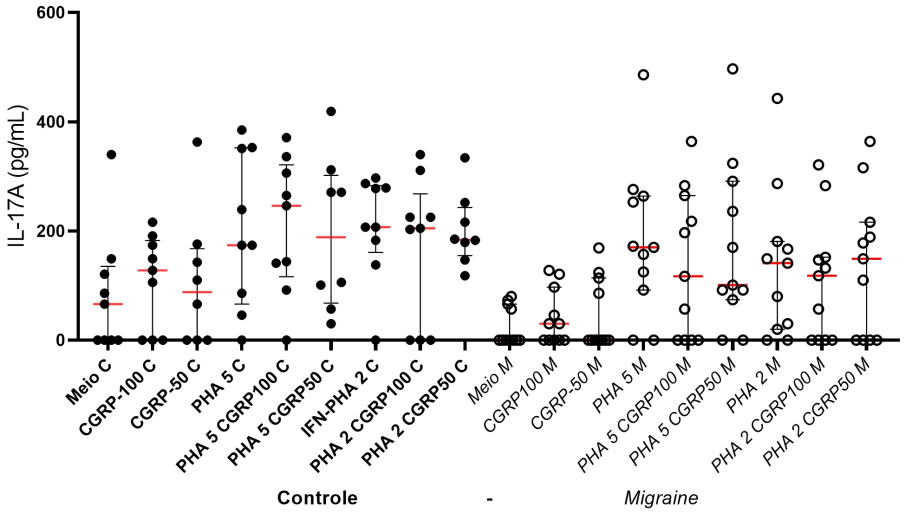
Na condição de estímulo com PHA, foram analisados sobrenadantes após 72 horas de cultivo. As células foram cultivadas sem estimulo (meio) estimuladas com PHA (5µg/mL e 2µg/mL), estimuladas com CGRP (100nMol e 50nMol) e com ambos os estímulos (PHA+CGRP). Foram analisadas, por CBA, as seguintes citocinas: IFN-γ, TNF, IL-17A, IL-6 e IL-10. As análises foram realizadas comparando cada um dos estímulos entre os dois grupos de sujeitos da pesquisa (Controles versus Migrânea) e em cada grupo comparando o efeito direto da adição do CGRP, nas duas concentrações utilizadas. Foram usados os testes de Mann-Whitney e Wilcoxon, respectivamente. Os dados são representados graficamente na Figura 3.

A IL-10 foi a única citocina em que se observou diferença significativa nas comparações realizadas. Os níveis de IL-10, após o estímulo com CGRP 50nMol foram significativamente maiores no grupo controle comparados ao grupo migrânea (Mann-Whitney, p= 0,030). Apresentou mediana de 34pg/mL com valores mínimos e máximos de zero a 154pg/mL no grupo controle, enquanto que no grupo migrânea, a mediana foi de 1pg/mL com valores mínimos e máximos de Zero e 27pg/mL. Nas demais comparações previstas, não se observou diferença significativa.

As demais citocinas analisadas, IFN-γ, TNF, IL-17A, IL-6, não apresentaram diferenças significativas nas comparações entre os dois grupos, com o mesmo estímulo. Assim como não houve diferença significativa nos efeitos da adição do CGRP (100nMol ou 50nMol) sobre a estimulação basal (meio) ou sobre o estímulo com PHA (5µg/mL e 2µg/mL). A IL-4 e a IL-12 não alcançaram níveis detectáveis na maioria dos indivíduos e por esta razão ficaram fora das análises.


IFN-γ (pg/ml)
6000
4000
2000
0
Meio C
CGRP-100 C
CGRP-50 C
PHA 5 C
PHA 5 CGRP100 C
PHA 5 CGRP50 C
IFN-PHA 2 C
PHA 2 CGRP100 C
PHA 2 CGRP50 C
Meio M
CGRP100 M
CGRP-50 M
PHA 5 M
PHA 5 CGRP100 M
PHA 5 CGRP50 M
PHA 2 M
PHA 2 CGRP100 M
PHA 2 CGRP50 M
Controle
-
Migraine


TNF (pg/ml)
32768
1024
32
1
Meio C
CGRP-100 C
CGRP-50 C
PHA 5 C
PHA 5 CGRP100 C
PHA 5 CGRP50 C
IFN-PHA 2 C
PHA 2 CGRP100 C
PHA 2 CGRP50 C
Meio M
CGRP100 M
CGRP-50 M
PHA 5 M
PHA 5 CGRP100 M
PHA 5 CGRP50 M
PHA 2 M
PHA 2 CGRP100 M
PHA 2 CGRP50 M
Controle
-
Migraine


IL-17A (pg/mL)
600
400
200
0
Meio C
CGRP-100 C
CGRP-50 C
PHA 5 C
PHA 5 CGRP100 C
PHA 5 CGRP50 C
IFN-PHA 2 C
PHA 2 CGRP100 C
PHA 2 CGRP50 C
Meio M
CGRP100 M
CGRP-50 M
PHA 5 M
PHA 5 CGRP100 M
PHA 5 CGRP50 M
PHA 2 M
PHA 2 CGRP100 M
PHA 2 CGRP50 M
Controle
-
Migraine

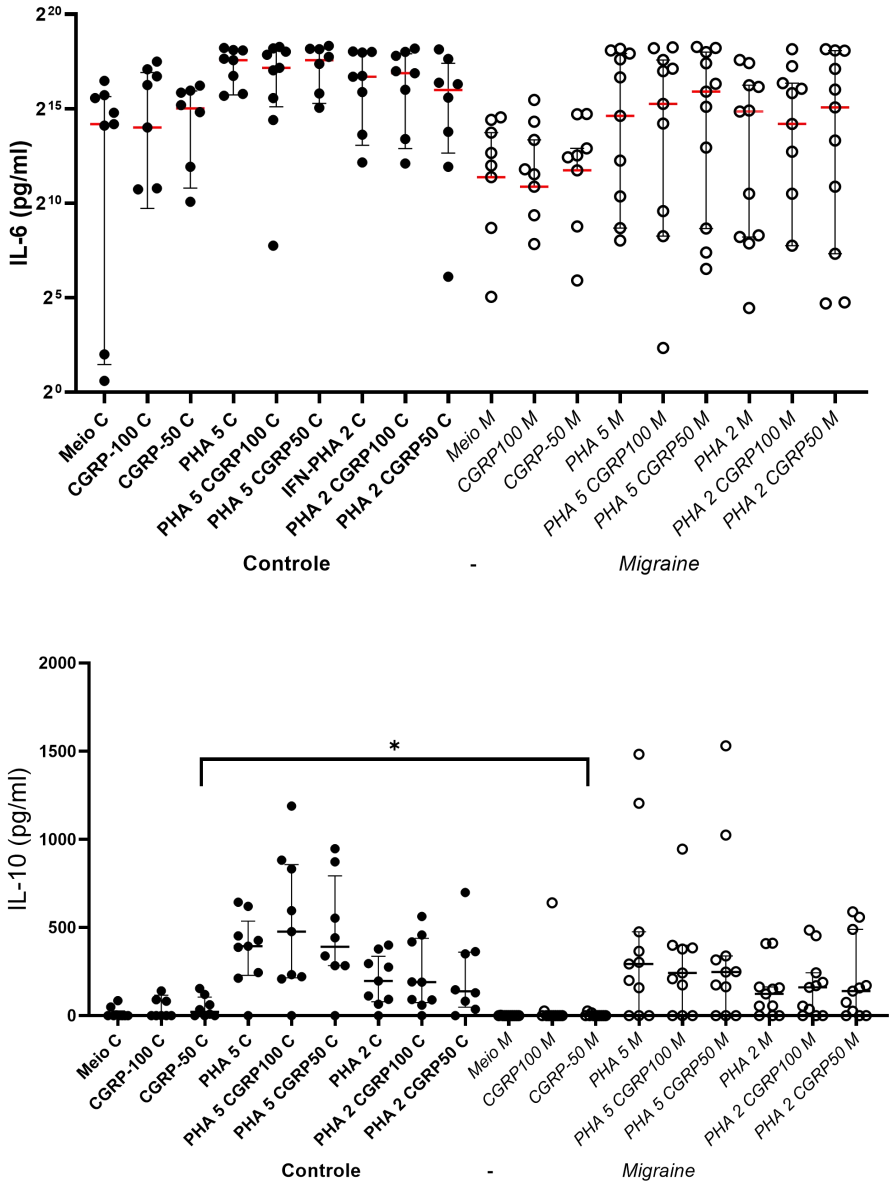


Figura 3: Níveis de citocinas moduladoras da resposta imune: PBMC de pacientes com migrânea e controles foram cultivados por 72 horas sem estimulo e em presença de PHA e CGRP. Os níveis de citocinas nos sobrenadantes são expressos em pg/mL, cada ponto representa um indivíduo. A linha horizontal representa a mediana e a linha vertical o intervalo interquartil. * indica diferença significativa entre os 2 grupos (Mann-Whitney). # indica a diferença significativa pela presença do CGRP no mesmo grupo (Wilcoxon).

7. Discussão

O CGRP é um neuropeptídeo conhecido por sua função na vasodilatação, que apresenta potentes efeitos imunomoduladores, particularmente na ativação e função de macrófagos. O CGRP exerce seus efeitos por meio de um complexo receptor heterodimérico composto pelo receptor semelhante ao receptor de calcitonina (CLR) e pela proteína modificadora da atividade do receptor 1 (RAMP1), que é expressa em macrófagos e outras células imunes. Após a ligação ao CGRP, o receptor ativa cascatas de sinalização intracelular, principalmente a via da adenilato ciclase-AMPc-proteína quinase A (PKA), bem como as vias da calmodulina e da proteína quinase C (PKC), levando à modulação a jusante da expressão gênica e da função celular (Duan et al., 2017; Callejas et al., 2025).

O CGRP influencia a polarização dos macrófagos, favorecendo o fenótipo anti-inflamatório M2 em detrimento do fenótipo pró-inflamatório M1. Em modelos murinos, o CGRP aumenta a polarização M2 induzida por IL-4, aumentando a expressão de marcadores como arginase-1 (Arg1), IL-10, Fizz1 e receptor de manose (Mrc1/CD206), ao mesmo tempo em que suprime mediadores inflamatórios associados a M1, incluindo NLRP3 e IL-1β(Duan et al., 2017; Kong et al., 2024; Callejas et al., 2025) O CGRP também aumenta a fosforilação de STAT6, um fator de transcrição essencial na diferenciação de M2, e inibe a degradação de IκB, atenuando assim a sinalização pró-inflamatória mediada por NF-κB (Duan et al., 2017).

Nossos resultados mostraram que o CGRP, adicionado às culturas isoladamente, foi capaz de modular a produção de citocinas em relação à cultura sem estímulos, apenas o grupo controle. Aumentando significativamente a produção de IL-1β, TNF e IL-10 frente as células cultivadas na ausência de estímulos. Interessantemente, no grupo controle, frente ao estimulo com LPS, a adição do CGRP levou a uma diminuição significativa dos níveis de TNF e IL-10.

Na comparação das respostas entre os grupos de indivíduos, frente à mesma condição de estímulo, o grupo Migrânea, após estimulo com CGRP isoladamente, apresentou menor produção de IL-6 comparado ao controle. Da mesma forma, o grupo Migrânea, frente a estimulação LPS e CGRP, apresentou maior produção de TNF que o

grupo controle. Por outro lado, a produção basal de IL-10 foi significativamente menor no grupo Migrânea, assim como nas culturas estimuladas com CGRP e LPS.

Estes dados apontam que os indivíduos com enxaqueca apresentam uma menor sensibilidade à modulação da resposta imune pela ação isolada do CGRP. Os pacientes com migrânea, ainda apresentam menor produção de IL-10 que o grupo controle e maior produção de TNF, sugerindo neste grupo uma maior capacidade de gerar inflamação. Os fenômenos inflamatórios aumentados nestes pacientes podem contribuir para o aumento da intensidade e da duração do fenômeno da dor.

Não foram encontrados estudos que analisem os efeitos in vitro do CGRP em células mononucleares humanas, comparando indivíduos saudáveis e portadores de migrânea para comparação.

Sabe-se que o CGRP modula a produção de citocinas em macrófagos de maneira dependente do contexto. Ele regula positivamente de forma consistente citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 e fator de crescimento transformador-β (TGF-β), enquanto suprime citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-1β e IL-12 (Callejas et al., 2025; Duan et al., 2017; Soultanova et al., 2016; Torii et al., 1997). Além disso, o CGRP pode aumentar a produção de ciclooxigenase-1 (COX-1) e prostaglandina D2 (PGD2), contribuindo para o reparo tecidual e efeitos anti-inflamatórios.(Callejas et al., 2025) Em certos contextos, o CGRP regula positivamente a IL-6 em macrófagos M1, facilitando a transição para o fenótipo M2 e promovendo a angiogênese durante o reparo tecidual.(Soultanova et al., 2016) Os efeitos do CGRP em outras citocinas, como TNF-α, IL-6 e IL-10, são dose-dependentes e podem ser estimulatórios ou inibitórios, refletindo um papel de ajuste fino na homeostase imunológica (Ma et al., 2010).

Além da modulação de citocinas, o CGRP impacta a função de apresentação de antígenos dos macrófagos. Induz a degradação dependente de proteassoma do complexo principal de histocompatibilidade classe II (MHC-II) por meio da regulação positiva da ligase E3 MARCH1, levando à redução da ativação de células T CD4+ e à atenuação das tempestades de citocinas em modelos de meningite bacteriana (Li et al., 2024).

O CGRP também suprime a regulação positiva de moléculas coestimulatórias, como B7-2, reduzindo ainda mais a apresentação de antígenos e a imunidade mediada por células T (Torii et al., 1997).

Coletivamente, a sinalização do receptor CGRP em macrófagos orquestra uma mudança em direção a fenótipos anti-inflamatórios e reparadores, modula os perfis de citocinas e regula a apresentação de antígenos, com implicações para o reparo tecidual, resolução da inflamação e homeostase imunológica (Li et al., 2024; Callejas et al., 2025).

Estudos demonstram que os monócitos humanos também expressam o receptor CGRP (RAMP1 e CRLR), o que sugere um potencial função desse peptídeo na modulação da resposta inflamatória mediada por esses leucócitos. A ativação do receptor CGRP em monócitos, diferentemente de macrófagos, pode levar à produção de citocinas inflamatórias, influenciando a migração celular e a interação com outras células do sistema imune. Além disso, a expressão do receptor CGRP em monócitos pode ser regulada por diferentes estímulos, como citocinas inflamatórias, que podem aumentar a sensibilidade dos monócitos à ação do CGRP durante processos inflamatórios agudos.

Estudos experimentais mostram que sensibilidade celular ao CGRP pode ser modulada pela alteração da expressão de qualquer um dos componentes do receptor, e a composição precisa do receptor depende do tipo de célula, o que pode influenciar a sinalização para produção de citocinas (Walker et al., 2010).

Embora a maioria das pesquisas tenha se concentrado em populações neuronais, evidências de modelos animais de enxaqueca crônica demonstraram que episódios recorrentes de enxaqueca podem aumentar o número de neurônios responsivos ao CGRP, sugerindo que a enxaqueca crônica pode aumentar a expressão do receptor de CGRP ou alterar a composição do receptor em tipos celulares relevantes (Guo et al., 2021).

Embora essas descobertas sejam específicas para neurônios do gânglio trigêmeo, o princípio de que a enxaqueca crônica pode modular a expressão do receptor de CGRP pode se estender a outros tipos de células, incluindo PBMCs, potencialmente responsáveis por respostas alteradas de citocinas.

O aumento da produção do TNF e da IL-6 acompanhada diminuição da produção da IL-10 por células mononucleares do sangue periférico de indivíduos com enxaqueca, quando estimuladas com LPS e CGRP, contribuem para um estado pró-inflamatório e para o agravamento da dor por meio de diversos mecanismos. O TNF é

uma citocina pró-inflamatória essencial que promove a ativação e o recrutamento de células imunes, amplifica a sinalização inflamatória e sensibiliza as vias nociceptivas, facilitando assim a transmissão da dor e a sensibilização central. Em neurônios nociceptivos pode promover a liberação de outros mediadores inflamatórios, amplificando a resposta à dor. Além disso, o TNF pode induzir a expressão de cicloxigenases que produzem prostaglandinas, substâncias que também estão envolvidas na sensibilização da dor (Franceschini et al., 2013; Oliveira et al., 2017; Gonzales et al., 2019; Yamanaka et al., 2021; Geng et al., 2022; Yamanaka et al., 2023).

. A IL-6, por sua vez, está associada à manutenção da inflamação e pode contribuir para a dor ao promover a ativação de células gliais no sistema nervoso central, promovendo a liberam mais citocinas e neuropeptídeos, aumentando a excitabilidade neuronal e perpetuando a sensação de dor (Graham et al., 2016).

Níveis elevados de TNF e IL-6 têm sido consistentemente associados à fisiopatologia da enxaqueca e acredita-se que contribuam para a neuroinflamação periférica e central (Oliveira et al., 2017; Yamanaka et al., 2021; Geng et al., 2022; Yamanaka et al., 2023). Por outro lado, a IL-10 é uma importante citocina anti-inflamatória que suprime a produção de mediadores pró-inflamatórios, limita a ativação das células imunes e promove a resolução da inflamação. A produção reduzida de IL-10 em pacientes com enxaqueca leva à contra-regulação insuficiente da resposta inflamatória, permitindo a atividade exacerbada do TNF e a perpetuação de processos neuroinflamatórios.(Oliveira et al., 2017; Geng et al., 2022) Esse desequilíbrio entre o aumento do TNF e a diminuição da IL-10 distorce o ambiente imunológico em direção a um fenótipo pró-inflamatório, o que pode diminuir o limiar para a dor, aumentar a excitabilidade neuronal e exacerbar os sintomas da enxaqueca (Franceschini et al., 2013; Oliveira et al., 2017; Yamanaka et al., 2021; Geng et al., 2022; Yamanaka et al., 2023).

Nossos dados mostraram que a combinação da estimulação com LPS e CGRP acentua ainda mais esse desequilíbrio, visto que o CGRP é conhecido por modular a função das células imunes e pode interagir com vias inflamatórias para aumentar a produção de citocinas. Em pacientes com enxaqueca, a resposta alterada das citocinas a esses estímulos pode refletir uma predisposição à neuroinflamação e à sensibilização à dor, distinguindo-os de controles saudáveis.(Franceschini et al., 2013; Gonzales et al., 2019; Yamanaka et al., 2021; Geng et al., 2022; Yamanaka et al., 2023) De modo geral, a literatura corrobora que esse perfil de citocinas contribui para a manutenção e

exacerbação da dor da enxaqueca por meio da sinalização inflamatória persistente e mecanismos de resolução prejudicados.

Em síntese, nossos resultados são consistentes com uma resposta menor de pacientes com enxaqueca frente ao estimulo isolado com o CGRP, podendo sugerir uma menor expressão ou funcionalidade deste receptor em PBMC destes indivíduos. Já em condições de estimulação pelo LPS houve uma potencialização da resposta inflamatória, com maior produção de TNF e IL-6, acompanhada de redução dos níveis de IL-10. Neste cenário pró-inflamatório favorece a potencialização de fenómeno doloroso tanto em intensidade quanto em duração.

8. Conclusões

Este estudo demonstra que o CGRP exerce um efeito modulador direto na produção de citocinas por células mononucleares do sangue periférico humanas, aumentando significativamente os níveis de IL-1β, TNF e IL-10 no grupo controle em condições basais. Foi observado um perfil de resposta distinto em indivíduos com migrânea, que exibiram menor sensibilidade ao estímulo isolado com CGRP, evidenciada por uma produção significativamente menor de IL-6 em comparação aos controles. Além disso, os pacientes com migrânea apresentaram um perfil imunológico basal alterado, caracterizado por uma produção consistentemente reduzida de IL-10 – tanto em condições basais quanto sob estímulo com CGRP – e uma produção aumentada de TNF quando desafiados com a combinação de LPS e CGRP. Este desequilíbrio imune, marcado por uma tendência pró-inflamatória com maior produção de TNF e supressão da IL-10, sugere uma capacidade ampliada de gerar e sustentar processos inflamatórios. O estado pró-inflamatório identificado, potencializado pela interação entre CGRP e vias imunes inatas, fornece um substrato fisiopatológico que pode contribuir diretamente para a intensificação e a cronificação da dor na migrânea, posicionando a modulação imunológica pelo CGRP como um mecanismo adicional na fisiopatologia das cefaleias primárias.

Referências Bibliográficas

Amara S.G., Jonas V, Rosenfeld MG, Ong ES, Evans RM. Alternative RNA processing in calcitonin gene expression generates mRNAs encoding different polypeptide products. Nature. 1982;298:240-4. doi: 10.1038/298240a0.

Bigal ME, Walter S. Monoclonal antibodies for migraine: Preventing calcitonin gene-related peptide activity. CNS Drugs. 2014;28:389-99.

Brennan KC, Charles A. Sleep and headache. Semin Neurol. 2009 Sep;29(4):406-18. doi: 10.1055/s-0029-1237113. Epub 2009 Sep 9. PMID: 19742415; PMCID: PMC5605773.

Burch R, Rizzoli P, Loder E. The Prevalence and Impact of Migraine and Severe Headache in the United States: Figures and Trends From Government Health Studies. Headache. 2018 Apr;58(4):496-505. doi: 10.1111/head.13281. Epub 2018 Mar 12. PMID: 29527677.

Callejas BE, Sousa JA, Flannigan KL, et al. Calcitonin gene-related peptide promotes epithelial reparative and anticolitic functions of IL-4 educated human macrophages. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2025;328(1):G1-G16. doi:10.1152/ajpgi.00159.2024.

Caronna E, Alpuente A, Torres-Ferrus M, Pozo-Rosich P. Chapter 7 - CGRP monoclonal antibodies and CGRP receptor antagonists (Gepants) in migraine prevention. In: Pozo-Rosich P, Martelletti P, editors. Migraine. Elsevier; 2022. p. 93-108. doi:10.1016/B978-0-12-823357-3.00013-5.

Duan JX, Zhou Y, Zhou AY, et al. Calcitonin gene-related peptide exerts anti-inflammatory property through regulating murine macrophages polarization in vitro. Mol Immunol. 2017;91:105-113. doi:10.1016/j.molimm.2017.08.020.

Edvinsson JCA, et al. The role of CGRP in migraine. Neurobiol Dis. 2018;115:1-9. doi: 10.1007/164_2018_201. PMID: 30725283.

Edvinsson JCA, Viganò A, Alekseeva A, Alieva E, Arruda R, De Luca C, et al. The fifth cranial nerve in headaches. J Headache Pain. 2020 Jun 5;21(1):65. doi: 10.1186/s10194-020-01134-1. PMID: 32503421; PMCID: PMC7275328.

Eller, M. T., Frank, F., Kaltseis, K., Karisik, A., Knoflach, M., & Broessner, G. Novel Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) Interfering Migraine Therapies and Stroke—A Review. International Journal of Molecular Sciences; 2024. 25(21), 11685.

Franceschini A, Vilotti S, Ferrari MD, et al. TNFα levels and macrophages expression reflect an inflammatory potential of trigeminal ganglia in a mouse model of familial hemiplegic migraine. PLoS One. 2013;8(1):e52394. doi:10.1371/journal.pone.0052394.

Geng C, Yang Z, Xu P, Zhang H. Aberrations in peripheral inflammatory cytokine levels in migraine: a systematic review and meta-analysis. J Clin Neurosci. 2022;98:213-218. doi:10.1016/j.jocn.2022.02.026.

Goadsby PJ, Lipton RB, Ferrari MD. Migraine--current understanding and treatment. N Engl J Med. 2002 Jan 24;346(4):257-70. doi: 10.1056/NEJMra010917. PMID: 11807151.

Goadsby PJ, Holland PR, Martins-Oliveira M, Hoffmann J, Schankin C, Akerman S. Pathophysiology of Migraine: A Disorder of Sensory Processing. Physiol Rev. 2017 Apr;97(2):553-622. doi: 10.1152/physrev.00034.2015. PMID: 28179394; PMCID: PMC5539409.

González-Cano R, et al. Cytokines and neurogenic inflammation in headaches. Curr Pain Headache Rep. 2019;23(7):1-10. doi:10.1007/s11916-019-0805-7.

Graham J, et al. The role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of migraine. J Headache Pain. 2016;17(1):1-9. doi:10.1186/s10194-016-0654-4.

Guo Z, Czerpaniak K, Zhang J, Cao YQ. Increase in trigeminal ganglion neurons that respond to both calcitonin gene-related peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in mouse models of chronic migraine and posttraumatic headache. Pain. 2021;162(5):1483-1499. doi:10.1097/j.pain.0000000000002147.

Headache Classification Committee of the International Headache Society. The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition. Cephalalgia. 2018 Jan;38(1):1-211. doi: 10.1177/0333102417738202.

Hindiyeh NA, Zhang N, Farrar M, Banerjee P, Lombard L, Aurora SK. The Role of Diet and Nutrition in Migraine Triggers and Treatment: A Systematic Literature Review. Headache. 2020 Jul;60(7):1300-1316. doi: 10.1111/head.13836. Epub 2020 May 25. PMID: 32449944; PMCID: PMC7496357.

Ho TW, Edvinsson L, Goadsby PJ. CGRP and its receptors provide new insights into migraine pathophysiology. Nat Rev Neurol. 2010;6:573-82. doi: 10.1038/nrneurol.2010.127.

Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum SA, Hudspeth AJ, editors. Principles of Neural Science. 5th ed. New York: McGraw-Hill; 2013.

Kong Q, Gao S, Li P, et al. Calcitonin gene-related peptide-modulated macrophage phenotypic alteration regulates angiogenesis in early bone healing. Int Immunopharmacol. 2024;130:111766. doi:10.1016/j.intimp.2024.111766.

Krause DN, Warfvinge K, Haanes KA, et al. Hormonal influences in migraine — interactions of oestrogen, oxytocin and CGRP. Nat Rev Neurol. 2021;17:621-33. doi: 10.1038/s41582-021-00544-2.

Li D, Chen ML, Yao MZ, Wu YH, Zhao S, Su J, et al. The effect of calcitonin gene-related peptide on T lymphocyte infiltration and its role in the therapeutic effects of acitretin in psoriasis vulgaris. Int J Clin Exp Med. 2016;9(6):10443-51.

Li Y, Wang L, Gao Z, et al. Neuropeptide calcitonin gene-related peptide promotes immune homeostasis of bacterial meningitis by inducing major histocompatibility complex class II ubiquitination. J Infect Dis. 2024;229(3):855-865. doi:10.1093/infdis/jiad358.

Ma W, Dumont Y, Vercauteren F, Quirion R. Lipopolysaccharide induces calcitonin gene-related peptide in the RAW264.7 macrophage cell line. Immunology. 2010;130(3):399-409. doi:10.1111/j.1365-2567.2009.03239.x.

Natoli J, Manack A, Dean B, et al. Global prevalence of chronic migraine: A systematic review. Cephalalgia. 2009;30(5):599-609. doi:10.1111/j.1468-2982.2009.01941.x.

Oliveira AB, Bachi ALL, Ribeiro RT, et al. Unbalanced plasma TNF-α and IL-12/IL-10 profile in women with migraine is associated with psychological and physiological outcomes. J Neuroimmunol. 2017;313:138-144. doi:10.1016/j.jneuroim.2017.09.008.

Ramachandran R. Neurogenic inflammation and its role in migraine. Semin Immunopathol. 2018 May;40(3):301-314. doi: 10.1007/s00281-018-0676-y. Epub 2018 Mar 22. PMID: 29568973.

Ramesh R, Ranganathan LN. Headache in infections. Curr Opin Neurol. 2025 Jun 1;38(3):281-287. doi: 10.1097/WCO.0000000000001348. Epub 2025 Jan 29. PMID: 39878050.

Ray JC, Stark RJ, Hutton EJ. Cluster headache in adults. Aust Prescr. 2022 Feb;45(1):15-20. doi: 10.18773/austprescr.2022.004. Epub 2022 Feb 1. PMID: 35233134; PMCID: PMC8882454.

Silva AV da, Bello VA, Frederico RCP, Oliveira CEC de, Antonucci AT, Reiche EMV, et al. The Role of Immune System in Migraine Pathophysiology. Headache Med [Internet]. 2024 Jun 14 [cited 2025 Oct 27];15(2):54-63. Available from: https://headachemedicine.com.br/index.php/hm/article/view/1030.

Soultanova A, Mikulski Z, Pfeil U, Grau V, Kummer W. Calcitonin peptide family members are differentially regulated by LPS and inhibit functions of rat alveolar NR8383 macrophages. PLoS One. 2016;11(10):e0163483. doi:10.1371/journal.pone.0163483.

Tao J, Wang X, Xu J. Expression of CGRP in the Trigeminal Ganglion and Its Effect on the Polarization of Macrophages in Rats with Temporomandibular Arthritis. Cell Mol Neurobiol. 2024 Feb 16;44(1):22. doi: 10.1007/s10571-024-01456-7. Erratum in: Cell Mol Neurobiol. 2025 Jan 9;45(1):11. doi: 10.1007/s10571-024-01527-9. PMID: 38363424; PMCID: PMC10873438.

Taylor FR. CGRP, Amylin, Immunology, and Headache Medicine. Headache. 2019 Jan;59(1):131-150. doi: 10.1111/head.13432. Epub 2018 Nov 3. PMID: 30390312.

Torii H, Hosoi J, Beissert S, Xu S, Fox FE, Asahina A, et al. Regulation of cytokine expression in macrophages and the Langerhans cell-like line XS52 by calcitonin gene-related peptide. J Leukoc Biol. 1997 Feb;61(2):216-23. doi: 10.1002/jlb.61.2.216. PMID: 9021928.

Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, Lozano R, Michaud C, Ezzati M, et al. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. Lancet. 2012;380(9859):2163-96. doi:10.1016/S0140-6736(12)61729-2.

Walker CS, Conner AC, Poyner DR, Hay DL. Regulation of signal transduction by calcitonin gene-related peptide receptors. Trends Pharmacol Sci. 2010;31(10):476-83. doi:10.1016/j.tips.2010.06.006.

Yamanaka G, Suzuki S, Morishita N, et al. Role of neuroinflammation and blood-brain barrier permutability on migraine. Int J Mol Sci. 2021;22(16):8929. doi:10.3390/ijms22168929.

Yamanaka G, Hayashi K, Morishita N, et al. Experimental and clinical investigation of cytokines in migraine: a narrative review. Int J Mol Sci. 2023;24(9):8343. doi:10.3390/ijms24098343

Anexos:

CAAE: 80761324.4.0000.8667

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

Você está sendo convidado para participar da pesquisa – **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO IMUNOBIOLÓGICO BLOQUEADOR DO RECEPTOR CGRP (ERENUMAB) SOBRE A ATIVAÇÃO DE MASTÓCITOS, MACRÓFAGOS E LINFÓCITOS T**, coordenado por mim, Professor Associado Carlo José Freire de Oliveira. O objetivo dessa pesquisa é a análise da resposta, pós ativação das células imunológicas, como mastócitos, macrófagos e linfócitos frente ao uso do imunobiológico bloqueador do receptor CGRP, usado para tratamento de cefaleias. Gostaria de contar com sua participação, uma vez que com o crescente uso do Erenumab, e considerando que os receptores para o CGRP são também expressos em células do sistema imune inato e adaptativo, são necessários estudos que possam levar à compreensão dos possíveis efeitos que o bloqueio do receptor possa causar, além do efeito direto desejado

Caso aceite participar dessa pesquisa será necessário a coleta de 24ml de sangue periférico, em local adequado no Ambulatório Maria da Gloria; por membro da equipe da pesquisa devidamente capacitado, com tempo estimado de 15 minutos, na data de 01/02/2025 à 01/04/2025

Os riscos previstos de sua participação nessa pesquisa são exposição de dados pessoais e riscos inerentes à coleta de sangue, como dor local, hematoma e infecção. Como medidas para minimizar estes riscos serão tomadas as seguintes providências: as coletas serão realizadas pelo membro da equipe com mais experiência, não será realizada identificação por meio do nome completo, não será divulgado nenhum dado pessoal, informações ou imagens que possam ser associadas aos pacientes.

A pesquisa não apresenta benefício para os participantes da pesquisa.

Sua participação é voluntária, e em decorrência dela você não receberá qualquer valor em dinheiro. Você não terá nenhum gasto por participar nesse estudo, pois qualquer gasto que você tenha por causa dessa pesquisa lhe será ressarcido.

Você pode recusar a participar do estudo, ou se retirar a qualquer momento, sem que haja qualquer prejuízo quanto ao acompanhamento ambulatorial que o paciente está participando, para isso basta dizer ao pesquisador que lhe entregou este documento. Em qualquer momento, você pode obter quaisquer informações sobre a sua participação nesta pesquisa, diretamente com os pesquisadores ou por contato com o CEP/HC-UFTM.

Sua identidade não será revelada para ninguém, ela será de conhecimento somente dos pesquisadores da pesquisa, seus dados serão publicados em conjunto sem o risco de você ser identificado, mantendo o seu sigilo e privacidade. Você tem direito a requerer indenização diante de eventuais danos que você sofra em decorrência dessa pesquisa.

Os dados obtidos de você através da amostra de sangue serão utilizados somente para os objetivos dessa pesquisa. Todas as amostras de material biológico serão destruídas ou devolvidas às instituições de origem após sua utilização conforme previsto nesse projeto. Em caso de descarte, elas serão descartadas em lixeiras clínicas específicas para material biológico e serão incineradas. após 10 anos do fim da pesquisa. Caso haja interesse, por parte dos pesquisadores, em utilizar seus dados em outro projeto de pesquisa, você será novamente contatado para decidir se participa ou não dessa nova pesquisa e se concordar deve assinar novo TCLE.

Contato

Pesquisadores Responsáveis:Carlo José Freire de Oliveira

Rafael Rocha Rodrigues

Endereço: Av. Getúlio Guaritá, 130 - Nossa Sra. da Abadia, Uberaba - MG, 38025-440

E-mail: oliveiracjf@gmail.com rafaelrocharodrigues@yahoo.com.br

Telefone/Celular: (034) 98856-7251 ou (34) 99212-1131

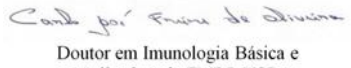
*Dúvidas ou denúncia em relação a esta pesquisa, entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (CEP/HC-UFTM), pelo e-mail: cep.hctm@ebserh.gov.br, pelo telefone (34) 3318-5319, ou diretamente no endereço: Antiga Santa Casa - 2º andar (Acesso pela portaria principal do HC-UFTM) - Av. Getúlio Guaritá, 130 - Bairro Nossa Senhora da Abadia – Uberaba – MG – de segunda a sexta-feira, das 8h30min às 11h30min e das 13h30min às 16h30min.

Eu, _____, li e/ou ouvi o esclarecimento acima referente a pesquisa AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO IMUNOBIOLÓGICO BLOQUEADOR DO RECEPTOR CGRP (ERENUMAB) SOBRE A ATIVAÇÃO DE MASTÓCITOS, MACRÓFAGOS E LINFÓCITOS T., coordenado pelo professor associado Carlo José Freire de Oliveira. Compreendi para que serve a pesquisa e quais procedimentos serei submetido. A explicação que recebi esclarece os riscos e benefícios da pesquisa. Entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento, sem justificar minha decisão e que isso não afetará o acompanhamento ambulatorial que estou recebendo. Sei que meu nome não será divulgado, que não terei despesas e não receberei dinheiro para participar da pesquisa. Concordo em participar da pesquisa, AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO IMUNOBIOLÓGICO BLOQUEADOR DO RECEPTOR CGRP (ERENUMAB) SOBRE A ATIVAÇÃO DE MASTÓCITOS, MACRÓFAGOS E LINFÓCITOS T, e receberei uma via assinada deste documento.

LOCAL, _____/_____/_____

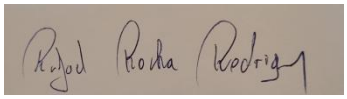
_____

NOME/ ASSINATURA DO VOLUNTÁRIO



Doutor em Imunologia Básica e
Aplicada pela FMRP-USP

Carlo José Freire de Oliveira (34) 98856-7251
PESQUISADOR RESPONSÁVEL



Rafael Rocha Rodrigues (34) 99212-1131

PESQUISADOR ASSISTENTE