



**FACULDADE DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**RELAÇÃO DO FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF)  
COM A MODULAÇÃO CORTICOESPINHAL DA DOR DE ACORDO COM O SEXO  
EM SUJEITOS SAUDÁVEIS**

**ASSUNTA GASPARIN**

**PORTO ALEGRE**

**2017**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS**

**RELAÇÃO DO FATOR NEUROTROFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF)**  
**COM A MODULAÇÃO CORTICOESPINHAL DA DOR DE ACORDO COM O SEXO**  
**EM SUJEITOS SAUDÁVEIS**

**ASSUNTA GASPARIN**

**ORIENTADOR**

**Prof. Wolnei Caumo, M.D., PhD.**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

**PORTO ALEGRE**

**2017**

CIP - Catalogação na Publicação

Gasparin, Assunta  
RELAÇÃO DO FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO  
(BDNF) COM A MODULAÇÃO CORTICOESPINHAL DA DOR DE  
ACORDO COM O SEXO EM SUJEITOS SAUDÁVEIS / Assunta  
Gasparin. -- 2017.  
94 f.  
Orientador: Wolnei Caumo.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa  
de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto  
Alegre, BR-RS, 2017.

1. Diferenças entre os sexos. 2. Excitabilidade  
cortical. 3. Sistema modulatório descendente da dor.  
4. BDNF- fator neurotrófico derivado do cérebro. I.  
Caumo, Wolnei, orient. II. Título.

**BANCA EXAMINADORA**

Profa. Dra. Iraci Lucena da Silva Torres

(PPGCM-UFRGS)

Profa. Dra. Carla de Oliveira

(PPGCM-UFRGS)

Profa. Dra. Luciana da Conceição Antunes

(PPGCM-UFRGS)

Profa. Dra. Luciana Paula Cadore Stefani

(PPGCM-UFRGS)

Profa. Dra. Joice Dickel Segabinazi

(PUC-RS)

*[...] Nunca se entregue, nasça sempre com as mãos  
Deixe a luz do sol brilhar  
No céu do seu olhar  
Fé na vida Fé no homem, fé no que virá  
Nós podemos tudo  
Nós podemos mais  
Vamos lá fazer o que será...*

Cantor Gonzaguinha, música Semente do amanhã

*Dedico esta dissertação para os meus pais, minha irmã e meu noivo, por todo apoio, amor e compreensão que sempre me deram. À minha querida avó Santana (in memoriam) que, de onde estiver, certamente está muito feliz pela minha conquista.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço de uma forma especial, ao meu orientador Prof. Dr. Wolnei Caumo, por me orientar e auxiliar durante todo o caminho percorrido. Se cheguei até aqui, foi graças a confiança que depositastes em mim. Sua dedicação é inspiradora, trabalhando sempre em prol da ciência e do conhecimento, fomentando a crítica e a reflexão. Serei infinitamente grata por todos os ensinamentos e oportunidades.

Agradeço aos professores das diversas áreas da saúde do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da UFRGS (PPGCM) pelos ensinamentos durante meu período de formação. Igualmente agradeço por compartilharem seus conhecimentos e suas experiências e, assim, colaborar para a construção da ciência e da multidisciplinaridade em saúde.

Aos pacientes do Ambulatório da Dor do Hospital de Clínicas, por estarem semanalmente esperando pelo atendimento prestado, enfrentando longas viagens, muitas vezes sem dormir e sem comer, mas acreditando que somos capazes de promover alívio da dor e diminuir o sofrimento. É pensando em vocês que buscamos sempre por melhores resultados para o sucesso dos tratamentos.

Aos meus colegas, instrutores de pilates e alunos, agradeço por compreenderem tantas trocas de horários na agenda, pela sensibilidade e carinho de cada um de vocês.

Aos colegas do Grupo de Pesquisa em Dor & Neuromodulação, que constituem a “grande família” de doutorandos, mestrandos e alunos de iniciação científica, agradeço pela ajuda em inúmeros momentos, no auxílio e manejo dos equipamentos utilizados nas coletas, pela paciência de ensinar quantas vezes fosse necessário. Aos pós-doutorandos do grupo, Dr. Maxciel e Dra. Luciana, por toda a ajuda e disponibilidade durante o processo de formação.

Gostaria de agradecer, em especial, aos laços de amizade criados e eternizados: Fabiana, Janete, Luciana, Jéssica, Aline, Evelyn, Gerardo, Tiago, José, Franciele e Alícia, sem vocês

nada teria sido tão especial.

Carinhosamente, agradeço minha colega e grande amiga Fabiana Carvalho. Foste fundamental no desenvolvimento e finalização deste trabalho. Sou feliz pela amizade que construímos, pela parceria que formamos e por saber que ainda iremos voar bem mais alto.

À equipe de Engenharia Biomédica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), constituída pelo Prof. Dr. Paulo Roberto Stefani Sanches e Engenheiro Danton Pereira Jr., pelas incontáveis vezes que me receberam, sempre disponíveis para desenvolver e inovar na confecção dos equipamentos.

Aos funcionários da recepção e segurança do Centro de Pesquisa Clínica (CPC) e da Unidade de Análises Moleculares e de Proteínas (UAMP), por estarem prontamente disponíveis.

À secretaria do Programa de Pós-Graduação: Ciências Médicas (PPGCM), sempre prontos a nos ajudar, em especial à Sra. Vera Ribeiro, por todo apoio dado durante todo período.

Ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA (GPPG-HCPA) e ao Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE-HCPA), pelo apoio financeiro para o desenvolvimento dos projetos.

Aos professores que compõem esta banca, pelo convite aceito.

Aos meus pais, Achilles e Valdemira, que sempre foram meus maiores incentivadores, minha base e meu exemplo de trabalho e união, não tenho palavras suficientes para agradecer o colo nos momentos frágeis e o amor incondicional, vocês são a minha vida.

À minha “sorella”, Marisa, por me ajudar a escalar o “castelinho do saber”, nosso benquisto HCPA, um universo de ciência. Obrigada por me amparar há 29 anos, compartilhando todos os momentos especiais junto a mim.

Ao meu querido noivo Fernando, por estar presente, mesmo quando não foi possível de



maneira física, mas sempre em pensamentos, ações e carinho. Obrigada por “remar” comigo em busca dos meus sonhos, por ajudar a tornar-me uma pessoa mais forte, isso me faz amar-te cada dia mais. À toda a sua família, meu carinho especial.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e ao PPGCM, pelo espaço de aprendizado.

À agência de fomento CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa concedida.

## RESUMO

**Introdução:** A Dor é uma experiência sensorial e emocional desagradável que resulta da ativação dos sistemas excitatórios e inibitórios endógenos. Diferentes fatores são considerados responsáveis pela variabilidade na percepção da dor entre os sexos e para a maior prevalência de dor crônica em mulheres. Por outro lado, as medidas de excitabilidade cortical, mensuradas a partir do potencial evocado motor (MEP), também podem ser influenciadas pelo sexo e idade. Logo, o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) insere-se neste contexto, pois trata-se de um biomarcador relacionado ao processamento da dor, o qual modula a neurotransmissão e o processamento somato-sensorial, sendo considerado um potencial marcador de neuroplasticidade, em que a diferença entre os sexos parece influenciar sua ação modulatória. Assim, este estudo teve como objetivo testar se os níveis séricos de BDNF podem influenciar de acordo com o sexo: (I) a função do sistema modulatório descendente da dor (SMDD) avaliada pela mudança na Escala numérica da dor durante a CPM-*task*, (Tarefa da Modulação Condicionada da Dor), (II) a excitabilidade da via corticoespinal avaliada pela amplitude do MEP e (III) o limiar de dor de calor (HPT– do inglês *Heat pain threshold*). **Métodos:** Através de um estudo transversal, foram recrutados sujeitos saudáveis - 32 homens (média de idade de  $25,59 \pm 5,40$ ) e 24 mulheres (média de idade de  $33,90 \pm 11,80$ ). Após responder aos questionários e posterior coleta de sangue, os indivíduos foram submetidos a uma avaliação da dor através do teste sensorial quantitativo (QST) para medir o HPT e uma tarefa de modulação de dor condicionada (CPM-*task*) para medir a função do SMDD. A excitabilidade corticoespinal foi aferida através da amplitude do MEP, por meio da estimulação magnética transcraniana (TMS). **Resultados:** Uma análise multivariada (MANOVA) demonstrou diferença entre os sexos na CPM-*task*, em que os homens tiveram uma menor mudança na escala numérica de dor (NPS) quando comparado com as mulheres. Este efeito foi mediado pelos níveis séricos de BDNF, que foi ajustado para a idade pois as mulheres eram mais velhas do que homens na amostra. Desta forma, esta neurotrofina foi positivamente associada a uma função inibitória aumentada apenas em mulheres. Além disso, a amplitude do MEP foi maior para os homens do que para as mulheres, embora os níveis de BDNF não tenham influenciado significativamente. Não foram encontradas diferenças significativas para HPT. **Conclusões:** A diferença na percepção da dor entre os sexos está relacionada a fatores neurofisiológicos relacionados à neuroplasticidade e à excitabilidade cortical. Parte dessas diferenças foram vistas em nosso estudo, através do SMDD e via corticoespinal, onde o efeito do BDNF foi oposto entre os sexos.

**Palavras-chave:** dor; sexo; BDNF; excitabilidade cortical; sistema modulador de dor descendente.

**Registro de estudos:** Estudo: WebGPPG 13-0155; WebGPPG 14-0281; WebGPPG 14-0624 e *clinicaltrials.gov*: NCT02408237.

## ABSTRACT

**Introduction:** Pain is an unpleasant sensory and emotional experience that results from the endogenous activity of the excitatory and inhibitory systems. Different factors are considered responsible for the variability in the perception of pain between the sexes and for the greater prevalence of chronic pain in females. On the other hand, measures of cortical excitability, using motor evoked potential (MEP) might be influenced by sex and age. Therefore, the neurotrophic factor derived from the brain (BDNF) is inserted in this context, because it is a biomarker related to the processing of pain, which modulates neurotransmission and somatosensory processing, being considered a potential marker of neuroplasticity, in which the difference between the sexes seems to influence their modulatory action. Thus, this study aimed to investigate how BDNF levels can be influenced according to sex with: (I) the function of the descending pain modulatory system (DPMS) assessed by the change in the Numerical Pain Scale during the CPM task, (II) the excitability of the corticospinal pathway assessed by the MEP amplitude and (III) the heat pain threshold (HPTh). Thus, this study aimed to investigate how BDNF levels can be influenced according to sex with: (I) the function of the descending pain modulatory system (DPMS) assessed by the change in the Numerical Pain Scale during the CPM task, (II) the excitability of the corticospinal pathway assessed by the MEP amplitude and (III) the heat pain threshold (HPTh). **Methods:** A cross-sectional investigation recruited 32 males (mean age of  $25.59 \pm 5.40$ ) and 24 females (mean age of  $33.90 \pm 11.80$ ), all healthy volunteers. After responding to a baseline evaluation and had a blood sample collected, they underwent a pain evaluation using a quantitative sensory testing (QST) to measure HPTh, and a conditioned pain modulation (CPM) task to measure DPMS function. Corticospinal excitability was estimated via motor-evoked potential (MEP) amplitude elicited with Transcranial Magnetic Stimulation (TMS). **Results:** A multivariate analysis (MANOVA) showed a difference between the sexes in the CPM-task, in which the men had a smaller change in the numerical pain scale (NPS) when compared to the women, indicating the increased the efficiency in the DMPS in the female. This effect was mediated by serum BDNF levels, which were adjusted for age because women were older than men in the sample. Thus, this neurotrophin was positively associated with an increased inhibitory function only in women. In addition, the amplitude of MEP was greater for males than for females, although BDNF levels did not significantly influence. No significant differences were found for HPTh. **Conclusions:** It seems the neurophysiological factors related to neuroplasticity and cortical excitability exert an independent role for pain perception, which is a potential hypothesis to understand sex differences. Robust sex differences were identified across sexes in the DPMS and corticospinal motor pathway with a BDNF effect in the opposite direction in female and males.

**Key words:** pain; sex differences; BDNF; cortical excitability; descending pain modulatory system.

**Registration of studies:** Study: WebGPPG 13-0155; WebGPPG 14-0281; WebGPPG 14-0624 and *clinical trials.gov*: NCT02408237.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	18
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b>	21
<b>2.1 Estratégias para a busca e seleção sistematizada das informações</b>	22
<b>2.2 Fisiopatologia da Dor</b>	22
<b>2.3 Sistema Modulatório Descendente da Dor</b>	26
<b>2.4 Processamento Cortical e Excitabilidade</b>	29
<b>2.5 Sexo e Dor</b>	32
<b>2.6 Relação entre função do BDNF e Sexo</b>	34
<b>2.7 Hormônios Gonadotróficos, BDNF e Dor</b>	36
<b>3. MARCO CONCEITUAL</b>	38
<b>4. JUSTIFICATIVA</b>	39
<b>5. OBJETIVOS</b>	40
<b>5.1 Objetivo primário</b>	40
<b>5.2 Objetivos secundários</b>	40
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	41
<b>7. ARTIGO</b>	51
<b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	77
<b>9. PERSPECTIVAS FUTURAS</b>	78
<b>ANEXOS</b>	79
<b>ANEXO 1: TCLE 1</b>	80
<b>ANEXO 2: TCLE 2</b>	82
<b>ANEXO 3: TCLE 3</b>	86
<b>ANEXO 4: STROBE</b>	92

## LISTA DE TABELAS DO ARTIGO

<b>Table 1.</b> Sociodemographic and psychological characteristics by sex. Data are presented as mean (standard deviation) (n=56).....	73
<b>Table 2.</b> Parameter estimates of the MANCOVA model for the dependent variables NPS during CPM task and MEP and BDNF index as a covariate according to sex (total n=56)...	74

## LISTA DE FIGURAS DA REVISÃO DA LITERATURA

<b>Figura 1:</b> Estratégia da busca sistematizada.....	22
<b>Figura 2:</b> Circuitos da dor.....	23
<b>Figura 3:</b> Avaliação da função do sistema descendente de dor com uso do QST .....	29
<b>Figura 4:</b> Posicionamento da bobina da TMS e eletrodos de EMG.....	31
<b>Figura 5:</b> Potencial Evocado Motor (MEP).....	32
<b>Figura 6:</b> Marco conceitual.....	38

## LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO 1

<b>Figure 1.</b> Comparisons of descending pain modulatory system measures between male (n=32) and female (n=24) groups.....	75
<b>Figure 2.</b> (A) A regression analysis 1 of the correlation between the change on NPS (0-10) during CPM-task with the BDNF index in males (n=32). (B) A regression analysis between the change on NPS (0-10) during CPM-task with the BDNF index in females (n=24).....	75
<b>Figure 3.</b> (A) A linear regression of the relationship change on NPS (0-10) during CPM-task with the MEP (Mv) in males (n=32). (B) A linear regression of the relationship between the change on NPS (0-10) during CPM-task with the MEP (Mv) in females (n=24).....	76

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ACC: córtex cingulado anterior
- Ach: acetilcolina
- AMPA: alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico
- BDNF: fator neurotrófico derivado do encéfalo – do inglês *Brain-Derived Neurotrophic Factor*
- CPM-*task*: Tarefa da modulação condicionada da dor
- CPM: modulação condicionada da dor – do inglês *Conditioned Pain Modulation*
- CSP: período silente cortical – do inglês *cortical silent period*
- DA: dopamina
- DC: dor crônica
- DHSC: corno dorsal da medula espinhal
- DNIC: Controle inibitório difuso nociceptivo – do inglês *Diffuse Noxious Inhibitory Controls*
- EMG: eletromiografia
- E0: estímulo teste
- E1: estímulo condicionante
- FDI: primeiro músculo dorsal interosseo
- FM: fibromialgia
- GABA: ácido gama-aminobutírico
- GRD: gânglios da raiz dorsal
- HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre
- HPT: limiar de dor ao calor – do inglês *Heat pain threshold*
- IASP: *International Association for the Study of Pain*
- ICF: facilitação intracortical – do inglês *intracortical facilitation*
- KCC2: cotransportador de K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>
- LC: *Locus coeruleus*
- LTD: Depressão de longa duração – do inglês *Long-term depression*
- LTP: Plasticidade sináptica de longa duração – do inglês *long-term potentiation*
- M1: córtex motor primário
- MEP: potencial evocado motor
- MT: limiar motor
- NGF: fator de crescimento neural
- NMDA: N-metil-D-aspartato

NS: nociceptores específicos

NPS 0-10: Escala Numérica Verbal de Dor – do inglês *Numerical pain scale* NPS (0-10)

NK1: receptor acoplado à proteína G da neurocinina-1

PA: Potencial de ação

PAG: substância cinzenta periaquedutal

PRGC: peptídeo relacionado ao gene da calcitonina

QST: teste quantitativo sensorial – do inglês *Quantitative sensory testing*

RVM: medula rostral ventromedial

SC: sensibilização central – do inglês *central sensitization*

SICI: inibição intracortical curta – do inglês *short intracortical inhibition*

SMDD: sistema modulatório descendente da dor – do inglês *DPMS*

SNC: sistema nervoso central

SP: substância P

ST: somação temporal

STT: Trato espinotalâmico

SI: Córtex somatossensorial primário

SII: Córtex somatossensorial secundário

TMS: estimulação magnética transcraniana – do inglês *transcranial magnetic stimulation*

trkB: receptor de proteína-tirosina quinase

UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

VAS: escala análogo visual – do inglês *Visual Analogue Scale*

WDR: *Wide Dynamic Range*

5-HT: serotonina



## **APRESENTAÇÃO**

**Esta dissertação está estruturada em seis capítulos:**

Capítulo I – Introdução

Capítulo II – Revisão da literatura

Capítulo III – Justificativa, mapa conceitual e objetivos

Referências da revisão da literatura

Capítulo IV – Artigo

Capítulo V – Considerações finais e perspectivas futuras

Capítulo VI - Anexo

## 1. INTRODUÇÃO

A dor é definida como uma experiência sensitiva e emocional desagradável associada a dano tecidual real ou potencial compreendendo aspectos sensório-discriminativos, cognitivo-avaliativos, afetivo-motivacionais e sociais (1). Trata-se de um evento multifatorial e multissistêmico, sendo considerado um fenômeno dinâmico determinado pela atividade sincronizada dos sistemas excitatório e inibitório. Pode ser classificada como aguda quando tem duração de até seis meses além do período esperado para a resolução do processo ou doença ou como crônica, quando persiste além de seis meses.

A dor aguda tem como mecanismo fisiopatológico central a nocicepção e tem caráter protetivo e adaptativo. Em contrapartida, a dor crônica é compreendida como um processo de plasticidade mal adaptativa. Ela é definida pela taxonomia da IASP (*International Association for the Study of Pain*) de 2017 pelo termo “nociplastic pain” que a define como: “dor que surge da nocicepção alterada, apesar de não existir evidência clara de danos teciduais que causam a ativação de nociceptores periféricos ou evidência de doença ou lesão do sistema somatossensorial” (2).

A percepção da dor aguda ou crônica é individual, pois depende da integridade dos sistemas de processamento das vias neurais fisiológicas, tanto ascendentes quanto descendentes de aspectos comportamentais. Por isso, o mesmo nível de ativação do nociceptor pode causar diferentes respostas e graus variados de percepção de dor (3). Na dor crônica (DC) no entanto, parecem ocorrer alterações nas vias neurais de dor que, por sua vez, tornam-se disfuncionais e levam à formação de circuitos com função “reverberante”, os quais sustentam o estado de hiperexcitabilidade (4). Este estado de hiperexcitabilidade pode induzir modificações funcionais que levam à sensibilização central (SC), condição caracterizada por induzir mudanças nas sinapses do corno dorsal da medula espinhal (DHSC) (5).

Em função de a percepção da dor transcender a nocicepção, a partir do entendimento de que o mesmo grau de atividade do nociceptor pode causar mais ou menos dor, tem-se a necessidade de se compreender melhor o seu processamento e os mecanismos que a modulam, visto que um melhor entendimento destes mecanismos pode abrir caminhos para novas possibilidades terapêuticas. Embora o processamento sensorial da dor seja sustentado por mecanismos facilitadores e inibidores, este balanço é modulado por múltiplos fatores contextuais e neurobiológicos, a exemplo idade, fármacos, sexo, dentre outros. Uma medida de caráter psicofísico que permite avaliar a função do sistema modulatório descendente da dor (SMDD) é a modulação condicionada da dor (do inglês *Conditioned Pain Modulation – CPM*) a qual permite avaliar esse sistema por provocar uma inibição difusa e seletiva dos neurônios *Wide Dynamic Range* (WDR) no DHSC (6,7).

Além da função do SMDD que envolve as vias infracorticais, pesquisas das últimas décadas têm avaliado a função da via corticoespinhal por meio do potencial evocado motor (MEP). Embora tenha ocorrido um grande avanço na compreensão dos mecanismos fisiopatológicos da dor, persistem lacunas importantes na compreensão dos processos neurobiológicos, tais como os efeitos do sexo e de hormônios gonadais, os quais corroboram, de maneira importante, para a diferença na prevalência de dor crônica entre os sexos e explicam, pelo menos em parte, a variabilidade individual à experiência dolorosa (8).

Mesmo considerando que os fatores psicossociais, culturais, de idade, genética e experiências pregressas possam explicar parcialmente essas variações nas respostas frente à dor, ainda permanece inconclusiva a resposta de como o sexo, tendo como um dos fatores implicados os hormônios gonadais, pode modificar os mecanismos de neuroplasticidade envolvidos na dor crônica (9–11). Neste contexto, inserem-se os avanços da medicina biomolecular que permitem mensurar mediadores envolvidos nos processos de plasticidade.

Dentre estes, emerge o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF – do inglês *Brain-Derived Neurotrophic Factor*), neurotrofina relacionada ao processamento da dor, a qual modula a neurotransmissão e o processamento somato-sensorial, sendo considerada um marcador de neuroplasticidade (12–14).

Como um dos papéis do BDNF parece ser a modulação central de dor e, como visto a partir deste racional, buscou-se uma melhor compreensão da interação do BDNF como modificador dos processos de excitabilidade em níveis cortical e infracortical. Em função disso, o presente estudo teve como objetivo testar se os níveis séricos de BDNF podem influenciar de acordo com o sexo: (I) a função do SMDD avaliada pela mudança na Escala numérica da dor durante a CPM-*task*, (Tarefa da Modulação Condicionada da Dor), (II) a excitabilidade da via corticoespinal avaliada pela amplitude do MEP e (III) o limiar de dor de calor (HPT– do inglês *Heat pain threshold*).

A estrutura da apresentação desta dissertação segue as normas do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). A formatação do artigo foi realizada de acordo com as normas do *Clinical Journal of Pain*, periódico ao qual será submetido.

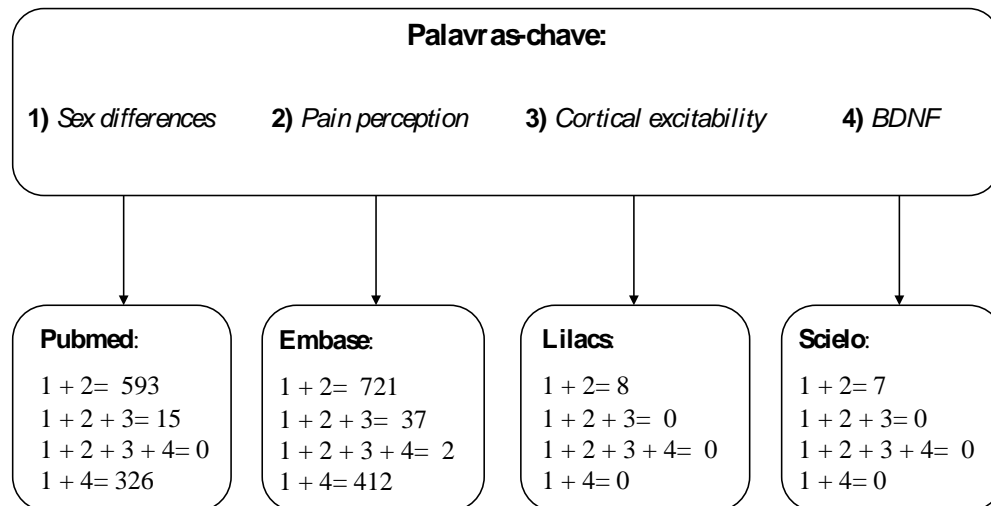
## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Estratégias para a busca e seleção sistematizada das informações

A partir desta revisão da literatura buscou-se enfatizar os aspectos pertinentes à variabilidade exercida pelas diferenças entre o sexo masculino e feminino, marcadores de neuroplasticidade – BDNF, excitabilidade cortical (pela avaliação do MEP) e função do SMDD nos limiares de dor em indivíduos saudáveis.

Para expor o tema central desse estudo, procurou-se suporte em estudos experimentais, observacionais, ensaios clínicos randomizados e duplo-cegos controlados. A estratégia de busca envolveu as seguintes bases de dados: MEDLINE (PubMed), EMBASE, SciELO e Lilacs, sem período delimitado. Foram realizadas buscas por meio dos descritores [MeSH (MEDLINE/PubMed) e Emtree (EMBASE)], além de palavras-chave quando os termos não foram encontrados: (1) *Nociceptive pain*; (2) *Pain perception*; (3) *Pain threshold*; (4) *Pain measurement*; (5) *Descending pain modulatory system*; (6) *Diffuse Noxious Inhibitory Control (DNIC)*; (7) *Conditional Pain Modulation (CPM)*; (8) *Sex differences*; (9) *Gender differences*; (10) *Cortical excitability*; (11) *Motor evoked potential*; (12) *Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)*. Os termos foram agrupados em: processamentos de dor, excitabilidade cortical e sexo.

Para a busca dos artigos, usaram-se as seguintes palavras-chaves, que foram agrupadas com o marcador AND entre cada uma delas (Figura 1). Após isso, os artigos foram selecionados por meio dos títulos e resumos e após a exclusão das duplicações e leitura dos *abstracts* para confirmação da relação com os temas, 67 artigos foram eleitos para a leitura completa. A figura 1 apresenta a estratégia da busca em cada base de dados.



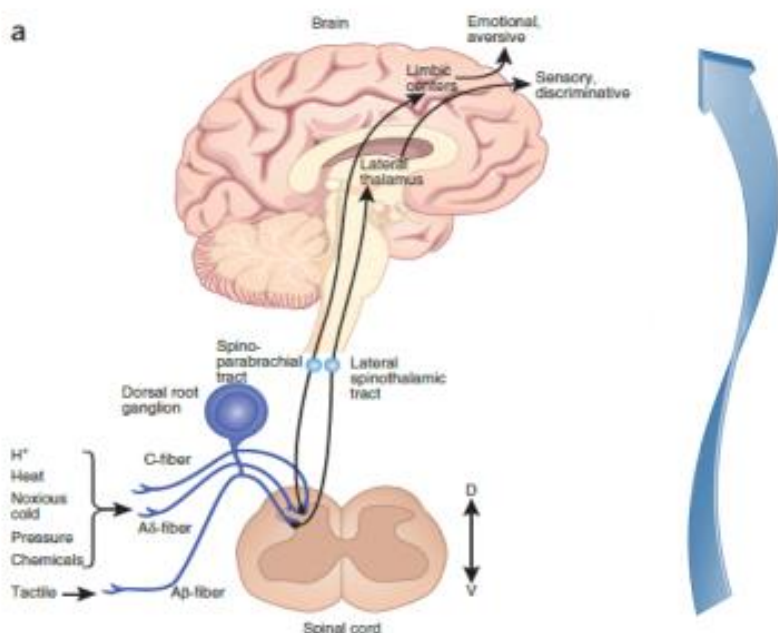
**Figura 1:** Estratégia da busca sistematizada.

## 2.2 Fisiopatologia da dor

A dor é definida como uma experiência sensitiva e emocional desagradável que está associada a dano tecidual real ou potencial dos tecidos e que compreende aspectos sensório-discriminativos, cognitivo-avaliativos, afetivo-motivacionais e sociais (1). A dor aguda tem como mecanismo fisiopatológico central a nocicepção e tem caráter protetivo e adaptativo, sendo a consequência fisiológica de uma lesão tecidual, a qual serve como uma função protetiva vital e compõe um dos sistemas de defesa do organismo (15). O processo sensorial denominando nocicepção é o gerador do componente sensório-discriminativo da dor e é o início do processamento da conversão de um estímulo danoso, que pode ser térmico, químico ou elétrico e é detectado pelas terminações periféricas (mecanotermorreceptores) e transmitido como um impulso elétrico até o encéfalo (3,16).

As fibras nervosas envolvidas na condução de estímulos da periferia podem ser classificadas em três grupos: o primeiro grupo corresponde às fibras A $\alpha$  e A $\beta$ , de diâmetro maior, mielinizadas grossas, caracterizadas por condução rápida. O encadeamento sináptico dos

estímulos ocorre nos neurônios de lâminas espinhais profundas, mais precisamente na lâmina III. O segundo tipo são as fibras A- $\delta$ , com pequeno diâmetro, mielinizadas finas e lenta condutividade, conduzem sinais nociceptivos principalmente para neurônios na lâmina I e lâmina II. Apresentam duas subdivisões: fibras de limiar alto, ou seja, respondem apenas à intensa estimulação mecânica; e as fibras que respondem ao calor, sejam temperaturas nocivas ou não. As fibras A- $\delta$  estão relacionadas com a sensação de dor. O terceiro tipo são as fibras C, consideradas de pequeno diâmetro, as quais conduzem o sinal de maneira lenta, não mielinizadas, transmitem os sinais nociceptivos principalmente para neurônios da lâmina I e lâmina II. Estas fibras conduzem os estímulos captados por meio dos receptores polimodais e mecanorreceptores e, assim, respondem a estímulos nocivos mecânicos, térmicos e químicos (3,16). Na figura 2, explica-se de maneira simplificada, os circuitos fisiológicos da dor.



**Figura 2:** Circuitos da dor. (a) uma visão geral esquematizada dos principais circuitos que medeiam a fisiologia da dor e algumas manifestações da dor crônica. Fonte: Adaptado de (17).

Os corpos dos neurônios dessas fibras sensitivas mielinizadas estão localizados nos gânglios da raiz dorsal (GRD) e gânglios trigeminais, enquanto que o corpo do primeiro neurônio das fibras do tipo C localiza-se no corno lateral da medula torácica e lombar alta (de T1 a L2). Assim, quando ocorre a ativação dos nociceptores por um estímulo que atinge o limiar desencadeando o potencial de ação (PA), esses estímulos são conduzidos pelas vias aferentes e processados no corno dorsal da medula espinal (DHSC) ou pela coluna intermédio-lateral, ao longo do tronco encefálico, tálamo, sistema límbico e córtex (3).

Ao se projetarem para o DHSC, tanto as fibras A- $\delta$  quanto as C, cruzam a linha média e ascendem via sistema anterolateral. Também no corno dorsal da medula espinal, os axônios desses neurônios decussam, transmitindo o estímulo pelos seguintes tratos: o espinotalâmico (STT) e o espinorreticular, que vão para o tronco encefálico e tálamo e então se direcionam para o córtex somatossensorial primário (SI), secundário (SII), ínsula e para o córtex cingulado anterior (ACC), levando à percepção da dor (15). Assim, a *percepção*, configura o estágio final do processo de sinalização da dor pelo qual a atividade neural na via de transmissão somatossensorial resulta na sensação subjetiva de dor. Deste modo, os neurônios talâmicos disseminam a informação nociceptiva para as seguintes regiões: o SI, região em que o aspecto sensorio-discriminativo da dor é efetivamente processado e para o SII, que parece exercer notável papel no reconhecimento, aprendizado e memória de episódios dolorosos (15).

No corpo celular, dentro do gânglio espinal é que os neurotransmissores utilizados pelas fibras nociceptivas são sintetizados, e as sinapses nesse local são excitatórias. O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório, atuando nos receptores  $\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) e ácido N-metil-D-aspártico (NMDA), seguido pela substância P (SP), que atua sobre o receptor NK1 e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (PRGC), tendo um efeito excitatório via receptor PRGC (3). Fisiologicamente, o canal do receptor NMDA é bloqueado pelo magnésio (18). A liberação sustentada de glutamato



por nociceptores, assim como de SP e do PRGC, conduz a despolarização de membrana deslocando o íon de magnésio do receptor NMDA, possibilitando, a ligação do glutamato ao receptor (18). Dessa forma, acontece o aumento rápido da eficácia sináptica permitindo a entrada de  $Ca^{2+}$  no neurônio, ativando inúmeras vias intracelulares, contribuindo para a manutenção da SC.

A SP, co-liberada com glutamato por nociceptores peptidérgicos não mielinizados, também relaciona-se à geração da SC (19–22) e liga-se ao receptor acoplado à proteína G da neurocinina-1 (NK1), expresso por neurônios espinotalâmicos, espinoparabraquiais e na substância cinzenta periaquedutal (PAG) através da espino-PAG (23), promovendo a despolarização de membrana de longa duração (24). O PRGC, também sintetizado por neurônios sensoriais de pequeno diâmetro, potencializa os efeitos da SP (25) e participa na SC por meio de receptores PRGC pós-sinápticos, que ativam proteína quinase A e proteína quinase C (26). A ativação da proteína quinase C aumenta a hiperexcitabilidade dos neurônios nociceptivos, reduzindo o bloqueio pelo íon de magnésio no receptor NMDA, facilitando o estado ativado destes receptores (27). Também diminui a transmissão inibitória em nível segmentar, reduzindo a inibição tônica do ácido gama-aminobutírico (GABA) e da glicina (28) e a inibição descendente da dor pela via da PAG (29).

A informação nociceptiva proveniente das fibras A- $\delta$  e C, conduzidas ao DHSC, estimula neurônios de segunda ordem localizados nas lâminas I, II, V e VI, onde dois tipos de neurônios desempenham função essencial nos mecanismos inibitórios de supressão da dor (30). São os chamados neurônios *Wide Dynamic Range* (WDR), que respondem a estímulos dolorosos (A- $\delta$  e C) e não dolorosos (A- $\alpha$  e A- $\beta$ ) e os neurônios nociceptores específicos (NS) (30). Os neurônios NS são ativados principalmente por estímulos dolorosos originários das fibras A $\delta$  e C (31). Estes neurônios do DHSC, além de receberem estímulos excitatórios dos nociceptores, são influenciados também por sinapses inibitórias e por células microgliais (32).

Contudo, é sabido que a percepção da dor aguda ou crônica é individual, pois depende da integridade dos sistemas de processamento das vias neurais fisiológicas, tanto ascendentes quanto descendentes e do contexto comportamental. Por isso, o mesmo nível de ativação do nociceptor pode causar diferentes respostas e graus variados de percepção de dor (3). Na dor crônica, no entanto, parecem ocorrer alterações nas vias neurais de dor que, por sua vez, tornam-se disfuncionais e levam à formação de circuitos com função “reverberante”, os quais sustentam o estado de hiperexcitabilidade (4). Este estado de hiperexcitabilidade pode induzir modificações funcionais que levam à SC, condição que se caracteriza por induzir mudanças nas sinapses do DHSC (5). Este estado disfuncional sustenta o quadro de dor mesmo após a lesão inicial ter cicatrizado. Inclui-se no processo de SC, além das modificações nas sinapses do DHSC, o fenômeno do *Wind-up*, que é fundamentalmente um sistema de amplificação nos neurônios da medula espinhal para responder a *inputs* nociceptivos cumulativos das fibras C (33).

### **2.3. Sistema modulatório descendente da dor**

A via que controla a resposta à dor é chamada de sistema modulatório descendente da dor (SMDD), que contra regula o efeito dos estímulos algogênicos. Desta forma, simultaneamente ao processamento ascendente da dor, as vias modulatórias descendentes enviam sinais de facilitação e inibição do encéfalo para a medula espinhal e na sequência, para a periferia, aumentando ou inibindo os sinais nociceptivos ascendentes (34), podendo exercer um controle bidirecional sobre a nocicepção.

As vias descendentes da dor se originam de distintas áreas encefálicas, entre elas, PAG, o núcleo magno da rafe (35,36) e as estruturas adjacentes da medula rostral ventro-medial (RVM) (34,37). Por sua vez, os córtices pré-frontal, cíngulo anterior (ACC) e a amígdala,

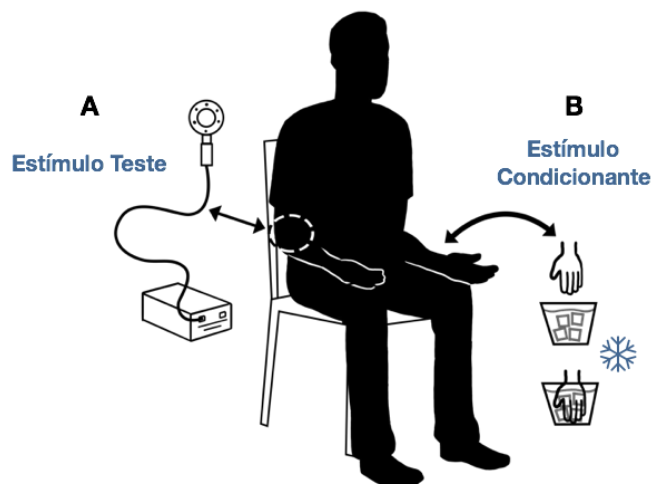
com projeções para a PAG, organizam as influências inibitórias e facilitatórias da RVM no processamento nociceptivo espinal (35,38,39). Essa via de modulação descendente da dor recebe o nome de via espinobulboespinal (36).

As vias descendentes inibitórias envolvidas nesse processo são as serotoninérgica, GABAérgica, adenosinérgica, opioidérgica e noradrenérgica (40–42). As projeções noradrenérgicas descendentes para o DHSC surgem dos grupos celulares adrenérgicos A5, A6 (*locus coeruleus* - LC) e A7, e essas regiões se comunicam com a RVM e PAG (35). Assim, essas projeções noradrenérgicas formam um importante componente da modulação da dor descendente por inibir a transmissão nociceptiva (35,43). Logo, todas essas vias modulam a entrada sensorial de fibras ascendentes e dos neurônios de projeção do DHSC e ativam comportamentos reflexos protetivos que influenciam a percepção da dor (36).

Estes sistemas fazem parte dos processos neurobiológicos de inibição das vias descendentes da dor. Seu papel nos mecanismos endógenos de controle de dor iniciou com estudos em animais anestesiados e foi denominado “controle inibitório difuso nociceptivo” (*Diffuse Noxious Inhibitory Controls* - DNIC) (44). O DNIC é um fenômeno fisiológico que foi descrito em animais no final da década de 70. Ele propõe que estímulos dolorosos podem desempenhar efeitos inibitórios sobre outros estímulos, sejam eles dolorosos ou não dolorosos (44). No entanto, estudos subsequentes mostraram que, quando são aplicados estímulos dolorosos em humanos conscientes, ocorre a ativação de outros mecanismos de modulação da dor, como por exemplo, a distração (45). Então, a partir do ano de 2010, foi proposta a inclusão de um novo termo - *conditioned pain modulation* (CPM) (45). Na verdade, a CPM incluiu o DNIC e também outros processos envolvidos na modulação da dor. A CPM avalia a resposta das vias endógenas descendentes inibitórias da dor, sendo que a chamada CPM-*task* (tarefa da modulação condicionada da dor) engloba os testes psicofísicos da dor em humanos, e envolve o fenômeno DNIC. Ele é desencadeado pela aplicação de um estímulo teste (E0), definido a

*priori* como suficiente para desencadear um escore de dor 6/10 na escala numérica verbal de dor (NPS 0-10). Na sequência, aplica-se o mesmo estímulo que produziu o escore de 6/10 na NPS, concomitantemente a um estímulo teste nociceptivo intenso aplicado em uma área remota do corpo (heterotópico), denominado de estímulo condicionante (E1) (8). O estímulo condicionante (E1) ativa fibras nociceptivas A- $\delta$  e C e induzirá uma diminuição na percepção da sensação de dor ao estímulo teste (6,7,44). Esse fenômeno é também conhecido como contrairritação (uma dor inibe outra dor) (46). A CPM é estimada pelo valor de delta ( $\Delta$ ), subtraindo o escore da medida E1 do escore 6/10. Quando o valor da medida do E1 subtraído do escore seis (6/10) for negativo, este resultado indica que o sistema modulador descendente da dor é eficaz; no entanto, quando este valor for zero, significa ausência de função e quando der positivo, indica efeito de somação (47).

A CPM-*task* pode ser realizada por meio de diferentes estímulos condicionantes (48), tais como o estímulo térmico ao frio (49), o estímulo elétrico (50) e o estímulo isquêmico (51). No Laboratório de Dor & Neuromodulação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) este teste é realizado por meio do Teste Quantitativo Sensorial (QST - *Quantitative sensory testing*) (52,53). Na figura 3 está apresentado o modelo de CPM realizado no Laboratório de Dor & Neuromodulação do HCPA.



**Figura 3:** Avaliação da função do sistema descendente de dor (DPMS) com uso do QST. A) Exemplo de estímulo teste - QST. B) Exemplo de estímulo condicionante – estímulo térmico ao frio. Fonte: Ilustração Grupo Dor & Neuromodulação.

A eficácia da CPM é preditiva para diferentes desfechos em saúde. Em indivíduos hígidos, o processo é ativado em resposta a um estímulo agudo de dor, o que leva, conseqüentemente, à diminuição difusa da sensibilidade dolorosa por meio do aumento do limiar nociceptivo (54). Os resultados do teste da CPM com valor zero ou positivo estão correlacionados a diversas condições de dor crônica e, no caso de somação, em que há uma resposta aumentada da dor durante o teste, implica um prejuízo no funcionamento desse sistema, característico de pacientes com dor crônica (55,56).

#### 2.4. Processamento cortical e excitabilidade

Barker *et al.* em 1985 (57), introduziu a estimulação magnética transcraniana (TMS), utilizada como ferramenta auxiliar na compreensão de parâmetros neurofisiológicos relacionados à excitabilidade cortical. Este equipamento possibilita comparar as propriedades neuropsicofarmacológicas *in vivo*, cujos parâmetros observados a partir de variações da excitabilidade cortical motora permitem inferir os possíveis sistemas neurobiológicos envolvidos na resposta, tanto da ação de fármacos quanto nas demais intervenções não

farmacológicas (58,59).

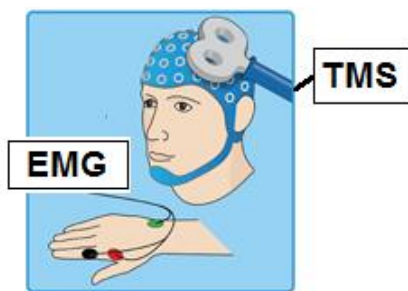
Apesar do crescente número de pesquisa sobre os efeitos neurofisiológicos da TMS, ainda são relativamente poucos os estudos acerca dos mecanismos neurobiológicos envolvidos (60). Achados têm sugerido que a TMS pode ter parte de seu efeito interposto pelas alterações no sistema nervoso autônomo simpático e no eixo neuroimunoendócrino, além do efeito em citocinas pró-inflamatórias e inflamatórias (60,61). Tais resultados reforçam a importância de investigar o efeito das técnicas de neuromodulação no sistema nociceptivo de excitação e de inibição, constituído pela integração de diversos sistemas neurobiológicos, tais como o glutamatérgico, o gabaérgico, o colinérgico, o noradrenérgico, o serotoninérgico, o opioidérgico, dentre outros.

Este processo faz parte do fenômeno da plasticidade sináptica, definida como a propriedade intrínseca do cérebro permitindo que o Sistema Nervoso Central (SNC) possa se adaptar a alterações ambientais, a mudanças fisiológicas e a distintas experiências (62). De acordo com a literatura, a compreensão do uso da TMS na DC deve analisar necessariamente fatores como: frequência da estimulação, forma da onda dos pulsos magnéticos, localização e tempo de estímulo, uma vez que a reorganização de redes neurais corticais e subcorticais, através de mecanismos de LTP (*Long-term potentiation*) e LTD (*Long-term depression*), parece ser uma das responsáveis pela melhora dos sintomas algícos em indivíduos com dor crônica (63–65). Atualmente, existe substancial corpo de evidências que corroboram acerca da região do córtex motor primário (M1), como sendo o sítio principal para uso do TMS no tratamento da DC (66).

O aparelho de TMS é constituído por um gerador de corrente formado por capacitores de alta voltagem apropriados para produzir uma corrente de descarga de diversos milhares de amperes que corre por meio de uma bobina de estimulação, gerando um pulso magnético com intensidades de campo até vários Teslas (66). A bobina é posicionada sobre o couro cabeludo

do indivíduo; o campo magnético ali gerado é capaz de induzir um campo elétrico suficiente para causar a despolarização dos axônios superficiais e para acionar as redes neurais no córtex (66). A TMS pode também ser aplicada em um único estímulo de cada vez, sendo chamada de TMS de pulso único, em pares de estímulos separados por um intervalo variável (TMS de pulso pareado) ou em trens (TMS repetitivo).

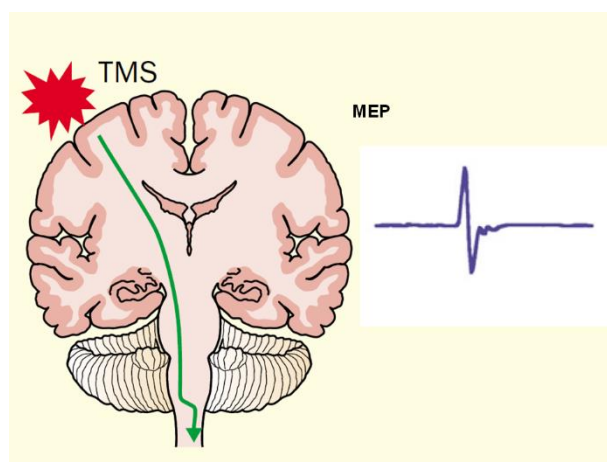
É por meio da eletromiografia (EMG), obtida com pulso único, que se obtém o registro da amplitude da contração muscular gerada pelo estímulo. Os sinais gráficos da EMG são obtidos a partir de eletrodos que são posicionados no primeiro músculo dorsal interósseo (FDI) direito, quando a avaliação da excitabilidade cortical é realizada em M1 do lado esquerdo, na região representativa do FDI (67,68). A figura 4 ilustra o princípio da técnica de TMS.



**Figura 4:** Posicionamento da bobina da TMS e eletrodos de EMG. Fonte: adaptado de (69).

A avaliação dos parâmetros neurofisiológicos relacionados à excitabilidade cortical usualmente pesquisados pela técnica de TMS e medidos por EMG são: o limiar motor (MT), o potencial evocado motor (MEP), a inibição intracortical curta (SICI), a facilitação intracortical (ICF) e o período silente cortical (CSP). No presente estudo, foi aferido somente o MT e o MEP. O MT é definido como a intensidade mínima de um estímulo de TMS que é necessária para gerar um MEP normalmente com amplitude  $\geq 50 \mu\text{V}$  de pico a pico no músculo alvo em repouso (70–72). O MT representa a excitabilidade da membrana axonal, muito provavelmente de axônios corticocorticais diretamente excitados pelo pulso da TMS na intensidade do limiar (73). O MEP é avaliado por meio de um pulso magnético único, com intensidades entre 120%

a 140% da amplitude do MT (74,75). A amplitude do MEP, induzida pela intensidade do estímulo claramente acima do limiar, reflete a ativação transsináptica dos neurônios corticoespinhais por meio de uma rede complexa de circuitos excitatórios controlados por circuitos inibitórios, demonstra não apenas a integridade do trato corticoespinal, mas também a excitabilidade do córtex motor e das raízes nervosas assim como a condução ao longo da via motora periférica aos músculos. A resposta do MEP poder ser influenciada por múltiplos fatores, tais como psicofármacos, idade, sexo, doenças diversas, incluindo dor, etc. Na figura 5 está representada a medida do MEP durante estímulo por TMS.



**Figura 5:** Potencial Evocado Motor (MEP). A figura mostra o potencial evocado motor (MEP) obtido por meio da estimulação magnética transcraniana (TMS). Fonte: Adaptado de (76).

## 2.5. Sexo e Dor

As características sexuais representam um importante fator na modulação da experiência dolorosa (77). Diferenças na percepção dolorosa, encontradas entre homens e mulheres, podem estar associadas à hiperalgesia em mulheres, assim como à redução da função do sistema inibitório de dor no sexo feminino (77). Diversos fatores podem ser responsáveis pela variabilidade na percepção da dor entre os sexos e para a maior prevalência de DC em mulheres (78). Fatores biológicos, tais como os hormônios sexuais, suportam um dos



mecanismos que explicam essas diferenças. Essa hipótese já foi confirmada por diversos estudos realizados em animais (79–82) e também em humanos (9). Os resultados demonstraram que as mulheres parecem apresentar maior risco de transtornos relacionadas ao estresse e também de desenvolverem doenças crônicas, como é o caso da dor crônica, tendo como exemplo, a fibromialgia (FM) (83). Além disso, o sintoma de dor, presente em situações como dor pélvica crônica, cólon irritável e cistite intersticial e frequentemente coexistem sem uma patologia evidente (84,85) e, igualmente nesses casos, as mulheres apresentaram mais sintomatologia dolorosa quando comparadas aos homens (86–88).

Uma parte dos mecanismos que explicam a variação nociceptiva entre os sexos, parece estar relacionada aos hormônios gonadais (89). O estradiol, amplamente relacionado à modulação dos mecanismos de dor, interage com o sistema GABAérgico no SNC (90). Mudanças em níveis séricos de estrogênio, também acompanham mudanças em diversos neurotransmissores, incluindo serotonina (5-HT), acetilcolina (ACh), dopamina (DA) e  $\beta$ -endorfinas. Logo, a diminuição na 5-HT central que acompanha a saída de estrogênio pode estar relacionada à redução do efeito auto-inibidor no receptor de 5-HT. O efeito dessa relação, parece estar associado ao aumento da incidência de cefaleias (91). Em modelos animais, a ausência de hormônios ovarianos, presumivelmente estradiol e progesterona, é uma característica que aumenta a nocicepção (92).

Um estudo que mensurou múltiplos mecanismos nociceptivos envolvidos com a somação temporal da dor (93) demonstrou que os escores médios de dor e o pico de dor, mas não a somação temporal, apresentavam redução significativa, evidenciadas pelo CPM; entretanto, não se observaram diferenças sexuais na analgesia pelo CPM (94). Estudos prévios sobre as diferenças entre os sexos apresentaram resultados contraditórios: dois estudos não demonstraram diferenças entre os sexos na efetividade desse mecanismo (95,96), enquanto outros quatro estudos apontaram maiores valores de CPM nos homens (97–100).

No intuito de investigar se a percepção da dor e a CPM variam com o ciclo menstrual, um estudo buscou averiguar os mecanismos excitatórios e inibitórios da dor durante o ciclo menstrual. Tendo sido demonstrada uma inibição significativamente maior da dor (efetividade da CPM) durante a fase ovulatória, em comparação com as fases menstrual e lútea (94), inferindo que os mecanismos inibitórios (analgésia pela CPM), e não os mecanismos excitatórios da dor, variam de acordo com o ciclo menstrual. A diminuição média na intensidade da dor foi maior durante a fase ovulatória do que na fase menstrual, concluindo que a CPM varia de acordo com o ciclo.

A partir do exposto, observa-se que a percepção de dor é influenciada por complexas interações entre as variáveis biológicas implicadas nos processos de plasticidade, como hormônios gonadais, vias do circuito da dor e fatores psicossociais. Assim, são necessários estudos adicionais para esclarecer com maior detalhamento os fatores biológicos e psicossociais básicos responsáveis por essas diferenças entre os sexos na percepção da dor, susceptibilidade e prevalência de dor crônica. Insere-se neste cenário uma melhor compreensão da relação entre o estado de neuroplasticidade e o sexo. Embora o estado de neuroplasticidade em humanos possa ser inferido, por vias indiretas, pela medida sérica do BDNF (101).

## **2.6 Relação entre função do BDNF e Sexo**

O *Brain-Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) é uma neurotrofina associada à modulação do processo nociceptivo (102) e considerado um potencial marcador de neuroplasticidade (13,14). Ele pertence à classe das neurotrofinas relacionadas aos fatores de crescimento, que influenciam sinapses de curto e longo prazos e modulam sinais excitatórios (glutamatérgicos) e inibitórios (GABAérgicos e glicinérgicos) (103). A maior parte das ações do BDNF são dadas por seu receptor de alta afinidade, o receptor proteína-tirosina quinase B (*Tropomyosine Receptor Kinase B* – trkB), abundante durante o desenvolvimento, e vastamente

disseminado no SNC de animais adultos (103).

Uma das funções do BDNF parece estar relacionada à modulação central de dor. Esta neurotrofina é importante moduladora da neurotransmissão sensorial nas vias nociceptivas, tanto em nível da medula espinal quanto supraespinal (103). Atua também como um regulador chave da plasticidade sináptica na periferia e no SNC, o qual, na dor aguda, parece ter função adaptativa aumentando a excitabilidade e tendo assim um papel de proteção; no entanto, quando há presença de DC, seu aumento torna-se mal-adaptativo (104). Níveis elevados de BDNF são observados em síndromes de dor crônica (13), além disso, ele tem um efeito facilitador no limiar da dor em mulheres, que não é observado em homens. Este fato sustenta a ideia de que o BDNF é um modificador de efeito quando o sexo é considerado no limiar da dor em indivíduos saudáveis (13).

O BDNF sérico também pode ser afetado por hormônios gonadais e esses fatores podem influenciar as medidas de excitabilidade cortical (105,106). Os achados relacionados à idade e sexo no MT são ainda inconclusivos. Um estudo realizado com indivíduos saudáveis, apresentou maior amplitude de MEP no sexo feminino (72), enquanto estudos subsequentes demonstraram o oposto (107–109). Embora não haja consenso sobre as medidas de excitabilidade cortical em relação ao sexo, parece haver uma variabilidade desses parâmetros entre o sexo feminino e o sexo masculino (110–113), demonstrando a necessidade de mais estudos neste sentido.

## 2.7. Hormônios Gonadotróficos, BDNF e Dor

A relação entre os sexos, dor e BDNF ainda não está bem elucidada; entretanto, boa parte dos efeitos dos hormônios sexuais na percepção da dor e que, anteriormente atribuída somente à liberação gonadal de hormônios, pode ser atribuída também à síntese hormonal em outros órgãos, como o cérebro e a medula espinal (p. ex., progesterona e estradiol) (89,114–117). Algumas áreas centrais envolvidas com a dor, como por exemplo, a PAG, medula e os GRD contêm diversos receptores, dentre eles os receptores para estrógenos e andrógenos e que possuem a capacidade de sintetizar esteroides localmente (118–120). A ligação dos esteroides aos seus determinados receptores nas regiões centrais e periféricas, possivelmente, está envolvida em processos transcricionais dependentes de ligantes, influenciando a expressão de diferentes neurotransmissores (121). Diferentes trabalhos sugerem que os hormônios esteroides afetam as funções por meio de neurotransmissão moduladora (122–124) e neste caso, atuariam como esteroides neuroativos - termo empregado para hormônios que modulam a excitabilidade neuronal por meio de receptores de neurotransmissores e canais iônicos (125,126). Contudo, além de exercerem importante papel na circuitaria molecular envolvida no ajustamento da plasticidade celular, os hormônios gonadais, como por exemplo o estrógeno, parece aumentar a concentração do fator de crescimento neural (NGF) no GRD (90). O NGF é membro da família das neurotrofinas, assim como o BDNF. Essa neurotrofina pode ser sintetizada por uma variedade de células, compreendendo neurônios sensoriais e motores, células imunológicas, microglia e astrócitos (90,127–129). No geral, opera como um regulador chave da plasticidade sináptica do SNC e periferia (104).

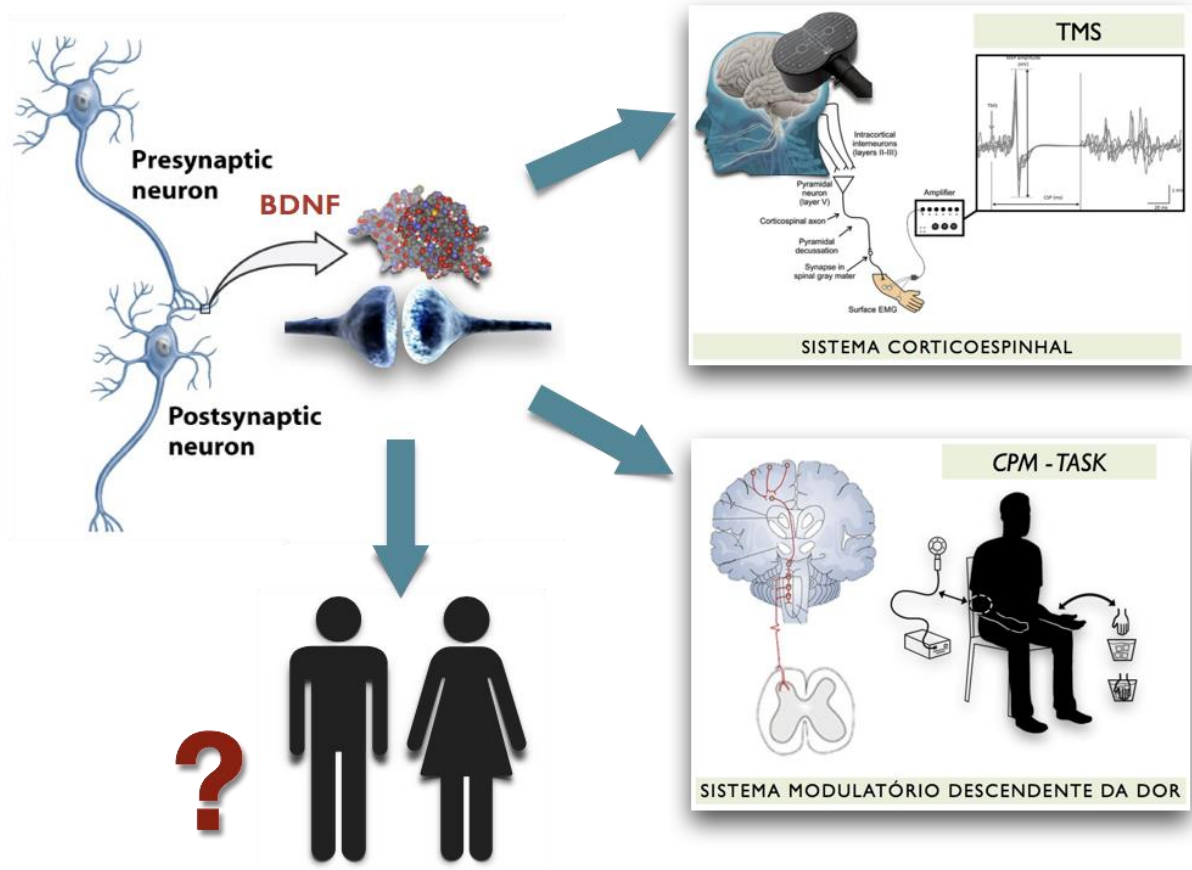
Periféricamente, o BDNF pode ser sintetizado por células como fibroblastos e condroblastos (130) e a inflamação periférica é desencadeadora para a sua liberação na periferia (131,132), assim como em nível espinal nos neurônios de raiz dorsal e gânglio trigeminal

(131,133,134). O BDNF proveniente de gânglios resulta em aumento da excitabilidade (131), ligando-se aos receptores de proteína-tirosina quinase (trkB) dos neurônios de segunda ordem (131). Assim, exerce importante papel no sistema inibitório da dor, o BDNF diminui a ação inibitória na dor da neurotransmissão por GABA assim como a inibição mediada por receptor de glicina (135).

No SNC, o BDNF foi associado à diminuição da inibição sináptica de GABA e provocador da facilitação nociceptiva descendente no núcleo magno da rafe (136), com importante função na manutenção da sensibilização da dor em condições de DC (137). O BDNF em concentrações aumentadas na DC diminui as concentrações do cotransportador de K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> (KCC2), resultando em prejuízo da inibição GABAérgica e desinibição de neurônios do núcleo magno da rafe responsáveis pela facilitação descendente da dor (136). O BDNF possui diversas implicações positivas sobre a disponibilidade de dopamina no encéfalo, como o aumento da liberação de dopamina e a atividade elétrica espontânea dos neurônios dopaminérgicos do mesencéfalo (138). A dopamina exerce função sobre o funcionamento adequado da antinocicepção (139), assim como a analgesia opióide (140). Estes achados confirmam que a ação do BDNF sobre o SMDD não é tão simples de ser compreendida, exercendo efeito tanto sobre sistema descendente facilitatório quanto sobre o sistema descendente inibitório, relacionado com os mecanismos fisiopatogênicos e modulador da dor.

No entanto, a diferença entre os sexos parece influenciar a ação modulatória do BDNF. Em estudos animais com ratas, o BDNF está relacionado ao aumento da dor (141), enquanto em ratos machos, observou-se o contrário. Em achados humanos, o BDNF apresentou um efeito facilitador no limiar da dor em mulheres, porém, um efeito oposto nos homens (13).

### 3. MARCO CONCEITUAL



**Figura 6:** Marco conceitual. Relação dos níveis séricos de BDNF na resposta do sistema corticoespinal, sistema modulatório descendente da dor relacionado as possíveis diferenças biológicas exercidas pelo sexo em voluntários saudáveis.

#### **4. JUSTIFICATIVA**

Embora o crescente número de estudos que relacionam os parâmetros das medidas fisiológicas associados à integridade do SMDD e da via corticoespinal tenha avançado, é necessária a realização de pesquisas adicionais, a fim de compreender de que maneira esses sistemas se relacionam com a individualidade decorrente das diferenças entre os sexos e entre os marcadores de neuroplasticidade. Como se pode observar, a partir da exibição desse referencial teórico e, considerando a relação entre o SMDD, MEP, BDNF e sexo, este estudo justifica-se especialmente pelo seu objetivo principal de avaliar como se relacionam os parâmetros de neuroplasticidade – BDNF, função do SMDD, excitabilidade da via corticoespinal e limiares de dor ao estímulo térmico com a variabilidade biológica exercida pelo sexo. O estudo dessas variáveis contribuirá para possíveis esclarecimentos das razões das diferenças entre a sinalização nociceptiva e aspectos neurofisiológicos relacionados à excitabilidade cortical entre os sexos, ampliando a possibilidade de protocolos de pesquisa que poderão ampliar no futuro a inserção de terapias cada vez mais individualizadas.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo primário

O objetivo deste estudo é investigar como se relacionam os parâmetros de neuroplasticidade – secreção de BDNF, função do SMDD, excitabilidade da via corticoespinal e limiares de dor de acordo com o sexo.

### 5.2 Objetivos secundários

Avaliar se os níveis séricos de BDNF podem influenciar de acordo com o sexo:

(I) a função do SMDD aferida pela mudança na Escala numérica da dor durante a CPM-*task*, (Tarefa da Modulação Condicionada da Dor).

(II) a excitabilidade da via corticoespinal avaliada pela amplitude do MEP.

(III) o limiar de dor de calor (HPT– do inglês *Heat pain threshold*).



## 6. REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA

1. Williams AC de C, Craig KD. Updating the definition of pain. *Pain* [Internet]. 2016;157(11):2420–3. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00006396-201611000-00006>
2. Kosek E, Cohen M, Baron R, Gebhart GF, Mico J-A, Rice ASC, et al. Do we need a third mechanistic descriptor for chronic pain states? *Pain*. 2016;157(7):1382–6.
3. Julius D. Molecular mechanisms of nociception . *Nature*. 2001;413(September):203–10.
4. Woolf CJ. Pain: Moving from Symptom Control toward Mechanism-Specific Pharmacologic Management. Vol. 140, *Annals of Internal Medicine*. 2004. p. 441–51.
5. Caumo W, Antunes LC, Elkfury JL, Herbstrith EG, Sipmann RB, Souza A, et al. The central sensitization inventory validated and adapted for a Brazilian population: Psychometric properties and its relationship with brain-derived neurotrophic factor. *J Pain Res*. 2017;10:2109–22.
6. Le Bars D, Villanueva L, Bouhassira D, Willer JC, LeBars D, Villanueva L, et al. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC) in animals and in man. *Patol Fiziol i Eksp Ter*. 1992;4(4):55–65.
7. Lefebvre C, Fisher K, Cahill CM, Coderre TJ. Evidence that DHPG-induced nociception depends on glutamate release from primary afferent C-fibres. *Neuroreport* [Internet]. 2000;11(8):1631–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10852214>
8. Yarnitsky D, Arendt-Nielsen L, Bouhassira D, Edwards RR, Fillingim RB, Granot M, et al. Recommendations on terminology and practice of psychophysical DNIC testing. Vol. 14, *European Journal of Pain*. 2010. p. 339.
9. Bartley EJ, Fillingim RB. Sex differences in pain: A brief review of clinical and experimental findings. Vol. 111, *British Journal of Anaesthesia*. 2013. p. 52–8.
10. Fillingim RB, King CD, Ribeiro-Dasilva MC, Rahim-Williams B, Riley JL. Sex, Gender, and Pain: A Review of Recent Clinical and Experimental Findings. Vol. 10, *Journal of Pain*. 2009. p. 447–85.
11. Diatchenko L, Nackley AG, Slade GD, Fillingim RB, Maixner W. Idiopathic pain disorders - Pathways of vulnerability. Vol. 123, *Pain*. 2006. p. 226–30.
12. Merighi A, Salio C, Ghirri A, Lossi L, Ferrini F, Betelli C, et al. BDNF as a pain modulator. Vol. 85, *Progress in Neurobiology*. 2008. p. 297–317.
13. Stefani LC, Torres IL da S, De Souza ICC, Rozisky JR, Fregni F, Caumo W. BDNF as an effect modifier for gender effects on pain thresholds in healthy subjects. *Neurosci Lett*. 2012;514(1):62–6.
14. Zanette SA, Dussan-Sania JA, Souza A, Deitos A, Torres ILS, Caumo W. Higher Serum S100B and BDNF Levels are Correlated with a Lower Pressure-Pain Threshold in Fibromyalgia. *Mol Pain* [Internet]. 2014;10:1744-8069-10-46. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1186/1744-8069-10-46>
15. Raja SN, Hoot MR, Dougherty PM. Chapter 1 - Anatomy and physiology of

- somatosensory and pain processing [Internet]. Third Edit. Essentials of Pain Medicine (Third Edition). Elsevier Inc.; 2011. 1-7 p. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781437722420000109>
16. Arcourt A, Lechner SG. Peripheral and spinal circuits involved in mechanical allodynia. Pain [Internet]. 2015;156(2):220–1. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25599442> [http://journals.lww.com/pain/Fulltext/2015/02000/Peripheral\\_and\\_spinal\\_circuits\\_involved\\_in.5.aspx](http://journals.lww.com/pain/Fulltext/2015/02000/Peripheral_and_spinal_circuits_involved_in.5.aspx)
  17. Kuner R. Central mechanisms of pathological pain. Nat Med [Internet]. 2010;16(11):1258–66. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nm.2231>
  18. Mayer ML, Westbrook GL, Guthrie PB. Voltage-dependent block by Mg<sup>2+</sup> of NMDA responses in spinal cord neurones. Nature. 1984;309(5965):261–3.
  19. Afrah AW, Fiskå A, Gjerstad J, Gustafsson H, Tjolsen A, Olgart L, et al. Spinal substance P release in vivo during the induction of long-term potentiation in dorsal horn neurons. Pain. 2002;96(1–2):49–55.
  20. Khasabov SG, Rogers SD, Ghilardi JR, Peters CM, Mantyh PW, Simone DA. Spinal neurons that possess the substance P receptor are required for the development of central sensitization. JNeurosci [Internet]. 2002;22(20):9086–98. Available from: <http://www.scopus.com/scopus/inward/record.url?eid=2-s2.0-0037109674&partnerID=40>
  21. Mantyh PW. Inhibition of Hyperalgesia by Ablation of Lamina I Spinal Neurons Expressing the Substance P Receptor. Science (80- ) [Internet]. 1997;278(5336):275–9. Available from: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.278.5336.275>
  22. Willis WD. Long-term potentiation in spinothalamic neurons. Vol. 40, Brain Research Reviews. 2002. p. 202–14.
  23. Gauriau C, Bernard J-F. Pain Pathways and Parabrachial Circuits in the Rat. Exp Physiol [Internet]. 2002;87(2):251–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1113/eph8702357>
  24. Henry JL. Effects of substance P on functionally identified units in cat spinal cord. Brain Res. 1976;114(3):439–51.
  25. Woolf C, Wiesenfeld-Hallin Z. Substance P and calcitonin gene-related peptide synergistically modulate the gain of the nociceptive flexor withdrawal reflex in the rat. Neurosci Lett. 1986;66(2):226–30.
  26. Sun R-Q, Tu Y-J, Lawand NB, Yan J-Y, Lin Q, Willis WD. Calcitonin gene-related peptide receptor activation produces PKA- and PKC-dependent mechanical hyperalgesia and central sensitization. J Neurophysiol. 2004;92(5):2859–66.
  27. Chen L, Mae Huang L-Y. Protein kinase C reduces Mg<sup>2+</sup> block of NMDA-receptor channels as a mechanism of modulation. Nature [Internet]. 1992;356(6369):521–3. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/356521a0>
  28. Lin Q, Peng YB, Willis WD. Inhibition of primate spinothalamic tract neurons by spinal glycine and GABA is reduced during central sensitization. J Neurophysiol. 1996;76(2):1005–14.
  29. Lin Q, Peng YB, Willis WD. Possible role of protein kinase C in the sensitization of primate spinothalamic tract neurons. J Neurosci. 1996;16(9):3026–34.

30. Almeida TF, Roizenblatt S, Tufik S. Afferent pain pathways: A neuroanatomical review. Vol. 1000, Brain Research. 2004. p. 40–56.
31. Price DD, Greenspan JD, Dubner R. Neurons involved in the exteroceptive function of pain. Vol. 106, Pain. 2003. p. 215–9.
32. Mense S, Schiltenswolf M. Fatigue and pain; what is the connection? Pain. 2010;148(2):177–8.
33. Price DD, Staud R. Neurobiology of fibromyalgia syndrome. In: Journal of Rheumatology. 2005. p. 22–8.
34. Vanegas H, Schaible HG. Descending control of persistent pain: Inhibitory or facilitatory? Vol. 46, Brain Research Reviews. 2004. p. 295–309.
35. Ossipov MH, Morimura K, Porreca F. Descending pain modulation and chronification of pain. Curr Opin Support Palliat Care [Internet]. 2014;8(2):143–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24752199> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4301419>
36. Millan MJ. Descending control of pain. Vol. 66, Progress in Neurobiology. 2002. p. 355–474.
37. Fields HL, Rowbotham M, Baron R. Postherpetic neuralgia: irritable nociceptors and deafferentation. Neurobiol Dis. 1998;5(4):209–27.
38. Kobayashi S. Organization of neural systems for aversive information processing: Pain, error, and punishment. Frontiers in Neuroscience. 2012.
39. Mobbs D, Marchant JL, Hassabis D, Seymour B, Tan G, Gray M, et al. From Threat to Fear: The Neural Organization of Defensive Fear Systems in Humans. J Neurosci [Internet]. 2009;29(39):12236–43. Available from: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.2378-09.2009>
40. Camarata PJ, Yaksh TL. Characterization of the spinal adrenergic receptors mediating the spinal effects produced by the microinjection of morphine into the periaqueductal gray. Brain Res. 1985;336(1):133–42.
41. Yaksh TL. Direct evidence that spinal serotonin and noradrenaline terminals mediate the spinal antinociceptive effects of morphine in the periaqueductal gray. Brain Res. 1979;160(1):180–5.
42. Yaksh TL, Tyce GM. Microinjection of morphine into the periaqueductal gray evokes the release of serotonin from spinal cord. Brain Res. 1979;171(1):176–81.
43. Pertovaara A. Noradrenergic pain modulation. Vol. 80, Progress in Neurobiology. 2006. p. 53–83.
44. Le Bars D, Dickenson AH, Besson J-M. Diffuse Noxious Inhibitory Controls. I. Effects on Dorsal Horn Convergent Neurons in the Rat. Pain. 1979;6(August 2014):283–304.
45. Yarnitsky D. Conditioned pain modulation (the diffuse noxious inhibitory control-like effect): its relevance for acute and chronic pain states. Curr Opin Anaesthesiol [Internet]. 2010;23(5):611–5. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00001503-201010000-00014>
46. Schweinhardt P. The many faces of counter-irritation. Vol. 152, Pain. 2011. p. 1445–6.

47. Popescu A, Leresche L, Truelove EL, Drangsholt MT. Gender differences in pain modulation by diffuse noxious inhibitory controls: A systematic review. Vol. 150, Pain. 2010. p. 309–18.
48. Pud D, Granovsky Y, Yarnitsky D. The methodology of experimentally induced diffuse noxious inhibitory control (DNIC)-like effect in humans. Vol. 144, Pain. 2009. p. 16–9.
49. Arendt-Nielsen L, Gotliebsen K. Segmental inhibition of laser-evoked brain potentials by ipsi- and contralaterally applied cold pressor pain. Eur J Appl Physiol Occup Physiol. 1992;64(1):56–61.
50. Motohashi K, Umino M. Heterotopic painful stimulation decreases the late component of somatosensory evoked potentials induced by electrical tooth stimulation. Cogn Brain Res. 2001;11(1):39–46.
51. Fujii K, Motohashi K, Umino M. Heterotopic ischemic pain attenuates somatosensory evoked potentials induced by electrical tooth stimulation: Diffuse noxious inhibitory controls in the trigeminal nerve territory. Eur J Pain. 2006;10(6):495–504.
52. Schestatsky P, Félix-Torres V, Fagundes Chaves ML, Câmara-Ehlers B, Mucenic T, Caumo W, et al. Brazilian Portuguese Validation of the Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs for Patients with Chronic Pain. Pain Med. 2011;12(10):1544–50.
53. Schestatsky P, Stefani LC, Sanches PR, Silva J?nior DP da, Torres ILS, Dall-Agnol L, et al. Validation of a Brazilian quantitative sensory testing (QST) device for the diagnosis of small fiber neuropathies. Arq Neuropsiquiatr. 2011;69(6):943–8.
54. Lee YC, Nassikas NJ, Clauw DJ. The role of the central nervous system in the generation and maintenance of chronic pain in rheumatoid arthritis, osteoarthritis and fibromyalgia. Arthritis Res Ther [Internet]. 2011;13(2):211. Available from: <http://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar3306>
55. Paul-Savoie E, Marchand S, Morin M, Bourgault P, Brissette N, Rattavong V, et al. Is the deficit in pain inhibition in fibromyalgia influenced by sleep impairments? Open Rheumatol J [Internet]. 2012;6(1):296–302. Available from: <http://benthamopen.com/ABSTRACT/TORJ-6-296%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23091577%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3474944>
56. Hilgenberg-Sydney PB, Kowacs PA, Conti PCR. Somatosensory evaluation in Dysfunctional Syndrome patients. J Oral Rehabil. 2016;43(2):89–95.
57. Barker AT, Jalinous R, Freeston IL. Non-Invasive Magnetic Stimulation of Human Motor Cortex [Internet]. Vol. 325, The Lancet. 1985. p. 1106–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673685924134>
58. Ziemann U. TMS and drugs. Vol. 115, Clinical Neurophysiology. 2004. p. 1717–29.
59. Ziemann U, Reis J, Schwenkreis P, Rosanova M, Strafella A, Badawy R, et al. TMS and drugs revisited 2014. Vol. 126, Clinical Neurophysiology. 2015. p. 1847–68.
60. Li X, Nahas Z, Kozel FA, Anderson B, Bohning DE, George MS. Acute left prefrontal transcranial magnetic stimulation in depressed patients is associated with immediately increased activity in prefrontal cortical as well as subcortical regions. Biol Psychiatry. 2004;55(9):882–90.
61. Han DW, Kweon TD, Lee JS, Lee YW. Antiallodynic effect of pregabalin in rat models

- of sympathetically maintained and sympathetic independent neuropathic pain. *Yonsei Med J.* 2007;48(1):41–7.
62. Pascual-Leone A, Amedi A, Fregni F, Merabet LB. The plastic human brain cortex. *Annu Rev Neurosci* [Internet]. 2005;28:377–401. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.neuro.27.070203.144216>
  63. Kanda M, Mima T, Oga T, Matsushashi M, Toma K, Hara H, et al. Transcranial magnetic stimulation (TMS) of the sensorimotor cortex and medial frontal cortex modifies human pain perception. *Clin Neurophysiol* [Internet]. 2003;114(5):860–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12738431>
  64. Esser SK, Huber R, Massimini M, Peterson MJ, Ferrarelli F, Tononi G. A direct demonstration of cortical LTP in humans: A combined TMS/EEG study. *Brain Res Bull.* 2006;69(1):86–94.
  65. Maeda F, Keenan JP, Tormos JM, Topka H, Pascual-Leone A. Modulation of corticospinal excitability by repetitive transcranial magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol.* 2000;111:800–5.
  66. Lefaucheur JP, Andre-Obadia N, Antal A, Ayache SS, Baeken C, Benninger DH, et al. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS). *Clin Neurophysiol.* 2014;125(11):2150–206.
  67. Day BL, Dressler D, Maertens de Noordhout A, Marsden CD, Nakashima K, Rothwell JC, et al. Electric and magnetic stimulation of human motor cortex: surface EMG and single motor unit responses. *J Physiol* [Internet]. 1989;412(1):449–73. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1113/jphysiol.1989.sp017626>
  68. Kernell D, Chien-Ping W. Post-synaptic effects of cortical stimulation on forelimb motoneurons in the baboon. *J Physiol.* 1967;191(3):673–90.
  69. Freitas C, Farzan F, Pascual-Leone A. Assessing brain plasticity across the lifespan with transcranial magnetic stimulation: Why, how, and what is the ultimate goal? *Front Neurosci.* 2013;(7 APR).
  70. Awiszus F. Chapter 2 TMS and threshold hunting. *Suppl Clin Neurophysiol.* 2003;56(C):13–23.
  71. Rossini PM, Barker AT, Berardelli A, Caramia MD, Caruso G, Cracco RQ, et al. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1994;91(2):79–92.
  72. Chen R, Cros D, Curra A, Di Lazzaro V, Lefaucheur JP, Magistris MR, et al. The clinical diagnostic utility of transcranial magnetic stimulation: Report of an IFCN committee. *Clin Neurophysiol.* 2008;119(3):504–32.
  73. Di Lazzaro V, Ziemann U, Lemon RN. State of the art: Physiology of transcranial motor cortex stimulation. Vol. 1, *Brain Stimulation.* 2008. p. 345–62.
  74. Davey NJ, Smith HC, Savic G, Maskill DW, Ellaway PH, Frankel HL. Comparison of input-output patterns in the corticospinal system of normal subjects and incomplete spinal cord injured patients. *Exp Brain Res.* 1999;127(4):382–90.
  75. Han TR, Kim JH, Lim JY. Optimization of facilitation related to threshold in transcranial magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol.* 2001;112(4):593–9.

76. Kobayashi M, Pascual-Leone A. Transcranial magnetic stimulation in neurology. *Lancet Neurol.* 2003;2(3):145–56.
77. Palmeira CC de A, Ashmawi HA, Posso I de P. Sex and pain perception and analgesia. *Rev Bras Anesthesiol* [Internet]. 2011;61(6):814–28. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034709411700915>
78. Tousignant-Laflamme Y, Marchand S. Excitatory and inhibitory pain mechanisms during the menstrual cycle in healthy women. *Pain.* 2009;146(1–2):47–55.
79. Fillingim RB, Gear RW. Sex differences in opioid analgesia: Clinical and experimental findings. *Eur J Pain.* 2004;8(5):413–25.
80. Gaumont I, Arsenault P, Marchand S. Specificity of female and male sex hormones on excitatory and inhibitory phases of formalin-induced nociceptive responses. *Brain Res.* 2005;1052(1):105–11.
81. Thompson AD, Angelotti T, Nag S, Mokha SS. Sex-specific modulation of spinal nociception by  $\alpha 2$ -adrenoceptors: Differential regulation by estrogen and testosterone. *Neuroscience.* 2008;153(4):1268–77.
82. Hagiwara H, Kimura F, Mitsushima D, Funabashi T. Formalin-induced nociceptive behavior and c-Fos expression in middle-aged female rats. *Physiol Behav.* 2010;100(2):101–4.
83. Wolfe F, Ross K, Anderson J, Russell IJ. Aspects of fibromyalgia in the general population: Sex, pain threshold, and fibromyalgia symptoms. *J Rheumatol.* 1995;22(1):151–6.
84. Triadafilopoulos G, Finlayson M, Grellet C. Bowel dysfunction in postmenopausal women. *Women Health* [Internet]. 1998;27(4):55–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9796084>
85. Cervero F, Laird JMA. Role of ion channels in mechanisms controlling gastrointestinal pain pathways. *Curr Opin Pharmacol.* 2003;3(6):608–12.
86. Howard FM. Chronic pelvic pain. Vol. 101, *Obstetrics and Gynecology.* 2003. p. 594–611.
87. Daniels JP, Khan KS. Chronic pelvic pain in women. *Bmj* [Internet]. 2010;341(oct05 2):c4834–c4834. Available from: <http://www.bmj.com/cgi/doi/10.1136/bmj.c4834>
88. Vincent K. Chronic pelvic pain in women. *Postgrad Med J.* 2009;85(999):24–9.
89. Amateau SK, Alt JJ, Stamps CL, McCarthy MM. Brain estradiol content in newborn rats: Sex differences, regional heterogeneity, and possible de novo synthesis by the female telencephalon. *Endocrinology.* 2004;145(6):2906–17.
90. Rudick CN, Woolley CS. Estradiol induces a phasic Fos response in the hippocampal CA1 and CA3 regions of adult female rats. *Hippocampus.* 2000;10(3):274–83.
91. Silberstein SD. Hormone-related headache. Vol. 85, *Medical Clinics of North America.* 2001. p. 1017–35.
92. Hernandez-Leon A, De la Luz-Cuellar YE, Granados-Soto V, González-Trujano ME, Fernández-Guasti A. Sex differences and estradiol involvement in hyperalgesia and allodynia in an experimental model of fibromyalgia. *Horm Behav.* 2018;97:39–46.
93. Hansen FR, Bendix T, Skov P, Jensen C V., Kristensen JH, Krohn L, et al. Intensive,

- Dynamic Back-Muscle Exercises, Conventional Physiotherapy, or Placebo-Control Treatment of Low-Back Pain. *Spine (Phila Pa 1976)* [Internet]. 1993;18(1):98–108. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00007632-199301000-00015>
94. Tousignant-Laflamme Y, Pagé S, Goffaux P, Marchand S. An experimental model to measure excitatory and inhibitory pain mechanisms in humans. *Brain Res.* 2008;1230:73–9.
  95. France CR, Suchowiecki S. A comparison of diffuse noxious inhibitory controls in men and women. *Pain.* 1999;81(1–2):77–84.
  96. Baad-Hansen L, Poulsen HF, Jensen HM, Svensson P. Lack of sex differences in modulation of experimental intraoral pain by diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). *Pain.* 2005;116(3):359–65.
  97. Serrao M, Rossi P, Sandrini G, Parisi L, Amabile GA, Nappi G, et al. Effects of diffuse noxious inhibitory controls on temporal summation of the RIII reflex in humans. *Pain.* 2004;112(3):353–60.
  98. Ge H-Y, Madeleine P, Arendt-Nielsen L. Sex differences in temporal characteristics of descending inhibitory control: an evaluation using repeated bilateral experimental induction of muscle pain. *Pain* [Internet]. 2004;110(1):72–8. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00006396-200407000-00011>
  99. Ge HY, Madeleine P, Arendt-Nielsen L. Gender differences in pain modulation evoked by repeated injections of glutamate into the human trapezius muscle. *Pain.* 2005;113(1–2):134–40.
  100. Staud R, Robinson ME, Vierck CJ, Price DD. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC) attenuate temporal summation of second pain in normal males but not in normal females or fibromyalgia patients. *Pain.* 2003;101(1–2):167–74.
  101. Leal G, Comprido D, Duarte CB. BDNF-induced local protein synthesis and synaptic plasticity. *Neuropharmacology* [Internet]. 2014;76(PART C):639–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.04.005>
  102. Malenka RC, Bear MF. LTP and LTD: An embarrassment of riches. Vol. 44, *Neuron.* 2004. p. 5–21.
  103. Merighi A, Bardoni R, Salio C, Lossi L, Ferrini F, Prandini M, et al. Presynaptic functional trkB receptors mediate the release of excitatory neurotransmitters from primary afferent terminals in lamina II (substantia gelatinosa) of postnatal rat spinal cord. *Dev Neurobiol.* 2008;68(4):457–75.
  104. Bao Y, Hou W, Liu R, Gao Y, Kong X, Yang L, et al. PAR2-Mediated Upregulation of BDNF Contributes to Central Sensitization in Bone Cancer Pain. *Mol Pain* [Internet]. 2014;10:1744-8069-10–28. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1186/1744-8069-10-28>
  105. Mhalla A, de Andrade DC, Baudic S, Perrot S, Bouhassira D. Alteration of cortical excitability in patients with fibromyalgia. *Pain.* 2010;149(3):495–500.
  106. Wassermann EM. Variation in the response to transcranial magnetic brain stimulation in the general population. *Clin Neurophysiol.* 2002;113(7):1165–71.

107. Pitcher JB, Ogston KM, Miles TS. Age and sex differences in human motor cortex input-output characteristics. *J Physiol* [Internet]. 2003;546(2):605–13. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1113/jphysiol.2002.029454>
108. Oliviero A, Profice P, Tonali PA, Pilato F, Saturno E, Dileone M, et al. Effects of aging on motor cortex excitability. *Neurosci Res* [Internet]. 2006;55(1):74–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16584795>
109. Groppa S, Werner-Petroll N, Münchau A, Deuschl G, Ruschworth MFS, Siebner HR. A novel dual-site transcranial magnetic stimulation paradigm to probe fast facilitatory inputs from ipsilateral dorsal premotor cortex to primary motor cortex. *Neuroimage*. 2012;62(1):500–9.
110. Perciavalle V, Coco M, Alagona G, Maci T. Gender differences in changes of motor cortex excitability during elevated blood lactate levels. *Somatosens Mot Res* [Internet]. 2010;27(3):106–10. Available from: </home/michael/Dokumente/Exp.Ortho/Literatur%5CnAwiszus/pdf/7059.pdf>
111. Pell GS, Roth Y, Zangen A. Modulation of cortical excitability induced by repetitive transcranial magnetic stimulation: Influence of timing and geometrical parameters and underlying mechanisms. Vol. 93, *Progress in Neurobiology*. 2011. p. 59–98.
112. Kuo M-F, Paulus W, Nitsche M a. Sex differences in cortical neuroplasticity in humans. *Neuroreport*. 2006;17(16):1703–7.
113. Chaieb L, Antal A, Paulus W. Transcranial alternating current stimulation in the low kHz range increases motor cortex excitability. *Restor Neurol Neurosci*. 2011;29(3):167–75.
114. Micevych P, Sinchak K, Mills RH, Tao L, LaPolt P, Lu JKH. The luteinizing hormone surge is preceded by an estrogen-induced increase of hypothalamic progesterone in ovariectomized and adrenalectomized rats. *Neuroendocrinology*. 2003;78(1):29–35.
115. Sinchak K, Mills RH, Tao L, LaPolt P, Lu JKH, Micevych P. Estrogen induces de novo progesterone synthesis in astrocytes. *Dev Neurosci*. 2003;25(5):343–8.
116. Hojo Y, Hattori T-A, Enami T, Furukawa A, Suzuki K, Ishii H-T, et al. Adult male rat hippocampus synthesizes estradiol from pregnenolone by cytochromes P45017alpha and P450 aromatase localized in neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(3):865–70.
117. Kretz O. Hippocampal Synapses Depend on Hippocampal Estrogen Synthesis. *J Neurosci* [Internet]. 2004;24(26):5913–21. Available from: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.5186-03.2004>
118. Bennett HL, Gustafsson JA, Keast JR. Estrogen receptor expression in lumbosacral dorsal root ganglion cells innervating the female rat urinary bladder. *Auton Neurosci* [Internet]. 2003;105(2):90–100. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12798205>
119. Evrard HC. Estrogen synthesis in the spinal dorsal horn: a new central mechanism for the hormonal regulation of pain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* [Internet]. 2006;291(2):R291-9. Available from: <http://ajpregu.physiology.org/content/291/2/R291.full.pdf>
120. Müller-Lissner S a, Fumagalli I, Bardhan KD, Pace F, Pecher E, Nault B, et al. Tegaserod, a 5-HT(4) receptor partial agonist, relieves symptoms in irritable bowel syndrome patients with abdominal pain, bloating and constipation. *Aliment Pharmacol Ther*. 2001;15(10):1655–66.



121. Greenspan JD, Craft RM, LeResche L, Arendt-Nielsen L, Berkley KJ, Fillingim RB, et al. Studying sex and gender differences in pain and analgesia: A consensus report. Vol. 132, Pain. 2007.
122. Simpson ER. Sources of estrogen and their importance. In: Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology. 2003. p. 225–30.
123. Foster TC. Interaction of rapid signal transduction cascades and gene expression in mediating estrogen effects on memory over the life span. Vol. 26, Frontiers in Neuroendocrinology. 2005. p. 51–64.
124. Robichaud M, Debonnel G. Oestrogen and testosterone modulate the firing activity of dorsal raphe nucleus serotonergic neurones in both male and female rats. J Neuroendocrinol. 2005;17(3):179–85.
125. Paul SM, Purdy RH. Neuroactive steroids. FASEB J [Internet]. 1992;6(6):2311–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1347506>
126. Rupprecht R, Holsboer F. Neuroactive steroids: Mechanisms of action and neuropsychopharmacological perspectives. Vol. 22, Trends in Neurosciences. 1999. p. 410–6.
127. Watkins LR, Hutchinson MR, Ledebor A, Wieseler-Frank J, Milligan ED, Maier SF. Glia as the “bad guys”: Implications for improving clinical pain control and the clinical utility of opioids. Brain Behav Immun. 2007;21(2):131–46.
128. Coull JAM, Beggs S, Boudreau D, Boivin D, Tsuda M, Inoue K, et al. BDNF from microglia causes the shift in neuronal anion gradient underlying neuropathic pain. Nature. 2005;438(7070):1017–21.
129. Michael GJ, Averill S, Nitkunan A, Rattray M, Bennett DL, Yan Q, et al. Nerve growth factor treatment increases brain-derived neurotrophic factor selectively in TrkA-expressing dorsal root ganglion cells and in their central terminations within the spinal cord. J Neurosci [Internet]. 1997;17(21):8476–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9334420>
130. Simão AP, Mendonça VA, De Oliveira Almeida TM, Santos SA, Gomes WF, Coimbra CC, et al. Involvement of BDNF in knee osteoarthritis: The relationship with inflammation and clinical parameters. Rheumatol Int. 2014;34(8):1153–7.
131. Takeda M, Takahashi M, Junichi K, Kanazawa T, Nasu M, Matsumoto S. Brain-derived neurotrophic factor enhances the excitability of small-diameter trigeminal ganglion neurons projecting to the trigeminal nucleus interpolaris/caudalis transition zone following masseter muscle inflammation. Mol Pain [Internet]. 2013;9(1):49. Available from: <http://www.molecularpain.com/content/9/1/49>
132. Tao W, Chen Q, Zhou W, Wang Y, Wang L, Zhang Z. Persistent inflammation-induced up-regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) promotes synaptic delivery of  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor GluA1 subunits in descending pain modulatory circuits. J Biol Chem. 2014;289(32):22196–204.
133. Li Y, Yan X, Liu J, Li L, Hu X, Sun H, et al. Pulsed electromagnetic field enhances brain-derived neurotrophic factor expression through L-type voltage-gated calcium channel- and Erk-dependent signaling pathways in neonatal rat dorsal root ganglion neurons. Neurochem Int. 2014;75:96–104.
134. Tomotsuka N, Kaku R, Obata N, Matsuoka Y, Kanzaki H, Taniguchi A, et al. Up-

- regulation of brain-derived neurotrophic factor in the dorsal root ganglion of the rat bone cancer pain model. *J Pain Res.* 2014;7:415–23.
135. Ferrini F, De Koninck Y. Microglia control neuronal network excitability via BDNF signalling. Vol. 2013, *Neural Plasticity.* 2013.
136. Zhang Z, Wang X, Wang W, Lu Y-G, Pan ZZ. Brain-Derived Neurotrophic Factor-Mediated Downregulation of Brainstem K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> Cotransporter and Cell-Type-Specific GABA Impairment for Activation of Descending Pain Facilitation. *Mol Pharmacol* [Internet]. 2013;84(4):511–20. Available from: <http://molpharm.aspetjournals.org/cgi/doi/10.1124/mol.113.086496>
137. Porreca F, Ossipov MH, Gebhart GF. Chronic pain and medullary descending facilitation. *Trends Neurosci.* 2002;25(6):319–25.
138. Pecina M, Martinez-Jauand M, Love T, Heffernan J, Montoya P, Hodgkinson C, et al. Valence-Specific Effects of BDNF Val66Met Polymorphism on Dopaminergic Stress and Reward Processing in Humans. *J Neurosci* [Internet]. 2014;34(17):5874–81. Available from: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=24760847](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=24760847)
139. Lapirot O, Melin C, Modolo A, Nicolas C, Messaoudi Y, Monconduit L, et al. Tonic and phasic descending dopaminergic controls of nociceptive transmission in the medullary dorsal horn. *Pain.* 2011;152(8):1821–31.
140. Brewer KL, Baran CA, Whitfield BR, Jensen AM, Clemens S. Dopamine D3 receptor dysfunction prevents anti-nociceptive effects of morphine in the spinal cord. *Front Neural Circuits* [Internet]. 2014;8(June):62. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4052813&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
141. Li F, Zhang J-W, Wei R, Luo X-G, Zhang J-Y, Zhou X-F, et al. Sex-differential modulation of visceral pain by brain derived neurotrophic factor (BDNF) in rats. *Neurosci Lett* [Internet]. 2010;478(3):184–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2010.05.013>

**ARTIGO**

**Brain derived neurotrophic factor modulates the effect of sex on the descending pain  
modulatory system in healthy volunteers**

Será submetido a The Clinical Journal of Pain

Impact Factor 2.703

**Brain derived neurotrophic factor modulates the effect of sex on the descending  
pain modulatory system in healthy volunteers**

Assunta Gasparin<sup>1,2</sup>, Maxciel Zortea<sup>1,2</sup>, Fabiana Carvalho<sup>1,2</sup>, Iraci Lucena da Silva Torres<sup>1,3</sup>,  
Andressa de Souza<sup>4</sup>, Felipe Fregni<sup>6</sup>, Wolnei Caumo<sup>1,2,5,7\*</sup>.

<sup>1</sup>Post-Graduate Program in Medical Sciences, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.

<sup>2</sup>Laboratory of Pain and Neuromodulation at UFRGS, Porto Alegre, Brazil.

<sup>3</sup>Associate Professor, Pharmacology Department, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS, Porto Alegre, Brazil.

<sup>4</sup>Postgraduate Program in Health and Human Development, La Salle University Center, Canoas, Brazil.

<sup>5</sup>Anesthesiologist, Pain and Palliative Care Service at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil.

<sup>6</sup>Associate Professor of Physical Medicine & Rehabilitation, Associate Professor of Neurology Harvard Medical School. Berenson-Allen Center for Noninvasive Brain Stimulation, Department of Neurology, Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School, Boston, USA.

<sup>7</sup>Associate Professor of Pain and Anesthesia in Surgery Department, School of Medicine, UFRGS, Porto Alegre, Brazil.

\*Correspondence:

Wolnei Caumo MD, Ph.D.,

Laboratory of Pain & Neuromodulation, School of Medicine at UFRGS, Professor of Pain and Anesthesia in Surgery Department, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Ramiro Barcelos Street, Porto Alegre, RS, 90035-003, Brazil.

wcaumo@hcpa.edu.br

## Abstract

**Objectives:** Here we investigate sex differences and the influence of the Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the descending pain modulatory system (DPMS) as measured by the change on Numerical Pain Scale (NPS 0-10) during the conditioned pain modulation (CPM-task) (primary outcome), the function of corticospinal motor pathway and the heat pain threshold (HPT).

**Materials and Methods:** This cross-sectional study included healthy volunteers age range 18 to 45 years old: 32 males and 24 females. The assessments included the serum BDNF, the HPT, the change on Numerical Pain Scale (NPS 0-10) during the CPM-task and the motor-evoked potential (MEP).

**Results:** A multivariate analysis of variance (MANCOVA) revealed sex differences in the CPM-task. The average in the NPS (0-10) during CPM-task changed more substantially in the female compared to the male [-3.25 (2.01) vs. -2.29 (1.34)], respectively. While the average in the MEP amplitude was larger in males compared to females [1.55 (0.34) vs. 1.27 (0.27)], respectively ( $P < 0.05$  for both comparisons). A higher serum BDNF adjusted index increased the efficiency in the DPMS in the female, and it grew the motor cortex excitability in the male. The BDNF modulated the DPMS function and the MEP amplitude in the opposite direction in the sexes.

**Conclusions:** Robust sex differences were identified across sexes in the DPMS and corticospinal motor pathway with a BDNF effect in the opposite direction in female and males.

**Keywords:** pain; sex differences; BDNF; cortical excitability; descending pain modulatory system.

## INTRODUCTION

Pain is an unpleasant sensory and emotional experience that results from the endogenous activity of the excitatory and inhibitory systems<sup>1</sup>. Epidemiological evidence has shown that chronic pain is more prevalent in women (e.g., migraine, fibromyalgia, irritable bowel syndrome, and temporomandibular disorders)<sup>2</sup>. According to previous functional magnetic resonance imaging (fMRI) showed specific sex differences in brain pain processing, either at resting -state functional fMRI and to task-related pain<sup>3</sup>. In fact, during the nociceptive stimulus women have higher medial prefrontal activation while in the men the activation occurred predominantly in the somatosensory and insular cortex<sup>4</sup>. Also, in men, they found higher connectivity to the uncus, insula, and the prefrontal cortex, whereas in women a higher connectivity was identified in the periaqueductal gray (PAG) and the middle cingulate cortex<sup>5</sup>. Indeed, the PAG neurons project to the raphe nuclei, and thus the raphe neurons project down to the spinal dorsal horn neurons, where they inhibit (modulate) pain transmission information carried by the pain fibers<sup>6</sup>. This comprises part of the descending pain modulatory system (DPMS), and this is a reason for which has been hypothesized that its dysfunction, particularly the dysfunction of the PAG neurons, may be critical to either the development and to maintenance the chronic pain states<sup>7,8</sup>.

In chronic pain, we observe that the disengagement of DPMS has been correlated positively with either the corticospinal pathway excitability indexed by the MEP and the serum BDNF<sup>9</sup>. Also, it seems that the MEP amplitude depend on its input-output characteristics, and other factors such as sex and age<sup>10</sup>. Accordingly, females tend to have higher motor evoked potential (MEP) variability than males of the same age<sup>10</sup> and also the MEP vary throughout the menstrual cycle<sup>11-13</sup>. Even though exists sex difference<sup>11</sup> in the activity of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF), it is important marker and modulator of neural activity and NMDA receptor-dependent neuronal plasticity related to gender<sup>14</sup> although this mechanism is not completely comprehended.

In fact, the BDNF has a central role in the synaptic plasticity at central and peripheral nervous, and its effect is regulated by the gonadotropic hormones<sup>13,15</sup>. However, at present the literature about sex differences and motor cortex excitability is varied. There is a study in healthy subjects showing a higher amplitude of MEP in the females<sup>16</sup>, while studies are showing the opposite<sup>10,17,18</sup>. Differently from the result found by Cueva Mascoso (2012)<sup>19</sup>, where MEP values did not make difference between the sexes. Although there is no consensus about the sex differences and measures of cortical excitability, it is recognized that exist sex differences in the pain threshold, pain processing in the brain and the corticospinal motor pathway function<sup>20-23</sup>. Also, persist a gap to explain the sex differences in neuroplasticity mechanism involved in the physiopathology of chronic pain. Hence, a better comprehension of the relationship between the sex, the potency of the descending inhibition system, the corticospinal pathway excitability and BDNF could improve future therapeutic approaches in chronic pain.

Thus, based on the hypothesis that the sex differences play a central role in excitatory and inhibitory inputs as a mechanism of chronic pain we investigate sex differences and in the influence of the BDNF in the following outcomes: (i) DPMS as measured by the change on Numerical Pain Scale (NPS 0-10) during the conditioned pain modulation (CPM-task) (primary outcome), (II) the corticospinal pathway excitability as assessed by MEP amplitude, and (III) the heat pain threshold (HPT) (secondary outcomes).

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Study Design, Setting, and Participants**

All volunteers provided have written informed consent before participating in this study, and the protocol was approved by the Research Ethics Committee at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (Institutional Review Board IRB - 13-0155, 14-0281, 14-0624 - according to the Declaration of Helsinki).

The volunteers have been recruited from the general population by advertisement postings in the universities, on the internet, and in public places in Porto Alegre area. Subjects have been considered eligible to participate if they were males and females right-handed, aged between 19 and 45 years old, and they were screened for eligibility by phone. They have answered a structured questionnaire that assessed the following variables: current acute or chronic pain conditions, use of analgesics in the past week, rheumatologic disease, clinically significant or unstable medical or psychiatric disorder, history of alcohol or substance abuse in the past 6 months, neuropsychiatric comorbidity, and use of psychotropic drugs. Volunteers responding affirmatively to any of these questions, and those with contra-indications for TMS<sup>24</sup> have been excluded. Subjects with Beck Depression Inventory (BDI-II) scores higher than 13 were also excluded<sup>25</sup>. Also, women were excluded if they met the criteria for menopause (absence of menses during the past 12 months).

### **Instruments and Assessments**

The primary outcome was the change on NPS (0-10) during the conditioned pain modulation (CPM) induced by cold water. The secondary outcomes were the MEP and HPT.

a) The motor cortex excitability was assessed using TMS with a MagPro X100 (MagVenture Company, Lucerne marked, Denmark). The coil was centered over the motor cortex (M1), held tangentially to the scalp to reach the midline at 45°. To ensure a relaxation of arms and correct positioning of the hand, subjects have been sat in a comfortable reclining chair. Cortical excitability parameters were registered through surface electromyography recordings gathered at the contralateral right first dorsal interosseous muscles using Ag/AgCl electrodes. First, the resting motor threshold (RMT) was determined by obtaining five out of ten consecutive trials motor evoked potentials (MEPs) with a peak-to-peak amplitude of 50  $\mu$ V when the first dorsal interosseus muscle was completely relaxed. After that, ten MEPs were recorded with an



intensity of 130% of RMT.

**b) Heat pain threshold (HPT).** To perform QST, we have used a computerized version of the thermostat (Heat Pain Stimulator 1.1.10, Brazil)<sup>26</sup> to determine the heat pain threshold (HPTh), heat pain tolerance (HPTo) and the heat pain ratings (HPR) during the CPM task. The participants remained seated, and a thermode (30x30 mm) was positioned on the forearm of the dominant side of the body. The temperature started at 32°C, and the thermode was heated at a rate of 1.0°C/sec to a maximum of 52°C when the temperature began to drop. For the HPTh, the participants have been asked to press a button when they “felt the first pain sensation”. HPTh was determined by the average of three evaluations with a 40s interval between them. Subsequently, they were asked to press the button at the first pain threshold and then after “when the pain had reached its maximum” for the HPTo (this was done only once due to possible sensitization effect).

**c) Conditioned pain modulation.** In human studies, the descending pain modulatory system is investigated using a conditioned pain modulation (CPM) paradigm. The CPM involves the diffuse noxious inhibitory control (DNIC) system, which is intact when a painful conditioning stimulus inhibits pain in a remote area<sup>27,28</sup>. To measure the CPM-task we evaluated the pain intensity in two tonics HPT test stimuli separated by a CPM-task. We used the HPT as conditioning pain stimulus to elicit a prolonged pain sensation to trigger CPM. The CPM-task consisted of immersion of non-dominant hand in cold water at a temperature of zero to 1°C for one minute; using a thermostat to control the temperature variation. The QST procedure was introduced after 30 seconds of cold-water immersion. To determine the CPM we have used the difference between the pain score on NPS (0-10) QST during cold water immersion at the temperature of the point at which subjects felt 6/10 pain on the NPS scale [during the initial time period (T0)].

## **Potential Confounding Factors**

The psychological tests used in the current study was validated for the Brazilian population<sup>29,30</sup>. Two independent medical examiners have been trained to conduct the psychological tests. The patients depressive symptoms were assessed using the Beck Depression Inventory II<sup>29</sup>. The catastrophizing thinking related to pain was evaluated using the Brazilian Portuguese of the Catastrophizing Scale (B-PCS)<sup>30</sup>. Anxiety was measured with the State-Trait Anxiety Inventory (STAI), adapted to Brazilian Portuguese<sup>31</sup>. State-anxiety (a situation-driven transient anxiety) and trait-anxiety (stable personality disposition reflecting general level of fearfulness) have been also evaluated. We have used a standardized questionnaire to assess demographic data and medical comorbidities.

## **Sample Size**

The power of the study was estimated based on type II and type I error of 20% and 0.05 respectively, and in anticipation of an effect size ( $f^2$  = determination coefficient) of 0.15 for the multiple hierarchical regression analysis allowing for two predictors (the Post hoc statistical power calculator for hierarchical multiple regression: (Post-hoc Statistical Power Calculator for Hierarchical Multiple Regression): <http://www.danielsoper.com/statcal3/calc.aspx?id=17>). A sample of 56 patients would detect an affect size for correlation of 0.15, with a power of 85% at a 0.05 alpha level.

## **Statistical analysis**

Descriptive statistics were used to summarize the main socio-demographic features of the sample. T-Tests for independent samples were used to compare continuous between groups sexes. To test for normality it was used the Shapiro-Wilk test. Taking into account that the age was statistically different between sexes and it could affect the biological process of BDNF

secretion, we have built an adjusted index. A multivariate regression model controlled by multicollinearity was used to obtain an adjusted index used as the surrogate of the BDNF. We corrected for multiple comparisons using Bonferroni correction. A multivariate covariance analysis (MANCOVA) model was used to explore the relationship between the males and females to multiple outcomes [cortical excitability (MEP), change on NPS (0-10) during CMP-task and HPT]. The covariate included in the model was the BDNF index. Bonferroni's Multiple Comparison Test was used to identify the source of significant differences. To explore the relationship between change on NPS (0-10) during CPM-task and the BDNF index by sex, as well with its relationship with the MEP, we run univariate regression analysis (Figures 2 and 3). The p-value considered for the difference statistically significant was lower than 0.05. The data were analyzed using SPSS software version 22.0 (SPSS, Chicago, IL).

## Results

The demographic and psychological characteristics by sex are in Table 1. It was observed that female was older than the male with a statistically significant difference. Therefore it was found that the serum BDNF was higher in men.

-----Insert table 1-----

### **3.2. Multivariate analysis of the relationship between the descending pain modulatory system assessed by the CPM-task paradigm (primary outcome), MEP and HPT (secondary outcome) according to sex.**

Male presented higher levels of BDNF, while females were older than males. Therefore, the serum BDNF was adjusted for the age ( $r$ -squared = 0.36, standard  $\beta$  coefficient for the BDNF =  $-0.51$ ,  $t = -2.73$ ,  $P < 0.008$ ). The mean of serum BDNF adjusted for age was 30.04 (3.05) ng/mL in the males and 27.08 (6.31) ng/mL in the females. In the MANCOVA model was use this adjusted index of BDNF.

The multiple dependent variables on the MANCOVA model, including the change on NPS (0-10) during the CPM-task, the MEP and HPT according to males and females, and the BDNF index, as an independent variable, are shown in (Table 2). A MANCOVA model using Bonferroni's Multiple Comparison Test revealed a significant relationship between the males and females and the outcomes related to descending pain modulatory system as assessed by the change on NPS (0-10) during CPM-task and cortical excitability measured by the MEP (Hotelling's Trace = 0.27, F= 6.05, P < 0.006). This analysis presented a power of 0.86. The adjusted determination coefficient of this model was (R<sup>2</sup>) it was 0.17 and 0.14 for the MEP and changed on NPS (0-10) during CPM-task respectively. That is, the variables included in the model explain 17% and 14% of the variance in the outcome variables. The results of this adjusted multivariate model are shown in (Table 2).

-----Insert table 2 -----

In Figure 1 (A and B), the relationships according to sex and the change in the NPS (0-10) during CPM-task (primary outcome) and the MEP (secondary outcome) are shown. The means were compared using MANCOVA with Bonferroni's Multiple Comparison tests are shown in (Table 2). The females compared to males presented higher function in the descending pain modulatory system with an adjusted mean equal to -3.25 (2.01) vs. -2.29 (1.34), respectively. In the other hand, males presented an MEP amplitude larger than females, with an average of 1.55 (0.34) vs. 1.27 (0.27), respectively.

-----Insert figure 1 -----

**3.3. Exploratory analysis to assess the correlation between the descending pain modulatory system as measured by the change on NPS in paradigm of CPM-task, BDNF index, and MEP by sex.**

To determine the relationship between the descending pain modulatory system as measured by the change on NPS in the paradigm of CPM-task with BDNF index by gender is presented in figure 2. It was observed a negative correlation statistically significant between the descending pain modulatory system function with BDNF index in the females, but not in males. In the interpretation, this association needs to consider that lower values in the CPM indicates a higher efficiency of DPMS. The coefficient determination in this model of linear regression in females was 0.22. Thus, the BDNF index explains 22% the variance in the change on NPS (0-10) during CPM-task.

-----Insert figure 2 -----

To assess the relationship between the descending pain modulatory system as measured by the change on NPS in the paradigm of CPM-task with MEP by sex is presented in figure 3 (A, B). It was observed a positive correlation statistically significant between the descending pain modulatory system with the MEP amplitude in males, but not in females. In the interpretation, this association needs to consider that higher values in the CPM indicate a higher efficiency of DPMS, in the sense that in the males the lower function of the descending pain modulatory system is associated with higher excitability in the cortical excitability. The coefficient determination in this model of linear regression in females was 0.14; thus, the change in the MEP amplitude explain 14% the variance in the NPS (0-10) during CPM-task.

-----Insert figure 3 -----

## **Discussion**

This study highlights the sex differences in the DPMS by the changes on NPS using a

CPM-paradigm. The role of DPMS was associated negatively with BDNF in the females, but not in the males. On the other hand, MEP amplitudes were higher for men than for women, indicating a higher level of corticospinal pathway excitability. Besides, higher MEP amplitudes were positively correlated to the changes in NPS during the CPM task only in males, in the sense that the lower the inhibitory function of the DPMS is associated with a higher motor corticospinal excitability. No significant sex differences were found in the HPT.

The current study expanded on the data in the literature showing that the higher magnitude of inhibition in regulating sensory information in females was positively associated with a higher index of BDNF. This paradigm of the CPM-task is a consequence of a critical diffuse inhibition performed by the Wide Dynamic Range (WDR) neurons located in the dorsal horn of the spinal cord, which is activated by a robust heterotopic stimulus applied in remote areas of the body (about a test stimulus)<sup>32</sup>. Accordingly, a higher BDNF levels induced a stronger inhibitory function of the DPMS in females compared to males. This data reinforces the idea of the central role of BDNF in the pain perception<sup>33</sup>.

Although we can assess the role of the BDNF as a modulator in the pain pathways indirectly by psychophysical and behavior measures until we know this is the first study to extend some evidence about its effect in the DPMS as a possible marker to explain sex differences in pain perception. Even a higher response was observed in the females, who are prone to show a higher sensitivity of pain and higher rates of chronic pain, this finding suggests that the BDNF may have an inhibitory effect in the pain processing is evident in the females. Thus, it is plausible that this top-down influences associated with sex are a result of a modulatory effect produced by an interplay between the BDNF and gonadal hormones. Even the mechanism to explain this distinct functional changes in the pain pathways according to sex is not precise; it is found biological plausibility by several lines of evidence underneath mentioned. (i) After the menopause when levels of estrogen and progesterone are deficient, the

sex differences in pain become much less marked<sup>34</sup>. (ii) In subject around 40 years (middle age) was found a decline in the inhibitory effect induced by a painful conditioning stimulus inhibits pain in a remote area<sup>35</sup>. (iii) During the process of sex reassignment where the hormonal milieu in humans can be ethically altered to that of the opposite gender was observed that approximately one-third of the males to females developed chronic pain during their treatment with estrogen and androgens. Whereas, more than half those women to men who had chronic pain before the start of treatment, improved after commencing testosterone treatment<sup>36</sup>. (iv) The additional mechanisms associated with the distinct influences of BDNF according to sex is an estrogen-sensitive response in the BDNF gene, suggesting that estrogen regulates BDNF expression<sup>37</sup> and also the dendritic spine changes are induced by BDNF and estrogen<sup>38</sup>.

This interdependent effect between the BDNF and the estrogen was found in females rats undergone to ovariectomy, which decreases BDNF mRNA in the hippocampus, whereas estrogen treatment restores it<sup>39</sup>. While it was found that exogenous BDNF facilitates the release of glutamate in the hippocampus in the spinal cord, it promotes the release of GABA<sup>40,41</sup>. Indeed, intrathecal grafts of BDNF-secreting neurons or overexpression of BDNF in the spinal cord have been shown to alleviate chronic neuropathic pain<sup>42,43</sup>. Additionally, as mentioned earlier the estrogens are involved in the DPMS, and it increases the availability of mu-opioid and the 5-hydroxytryptamine in the spinal cord<sup>36</sup>. Even though the hormonal effects in the DPMS are still controversial, the present finding suggests that in the females the BDNF might improve the top-down inhibitory modulation. Accordingly, we found previously that higher BDNF levels are associated with higher pain thresholds in the women, and the opposite was observed in men<sup>44</sup>.

The larger MEP amplitude in males observed in the current study indicates higher excitability of the motor cortex, which may modulate intra cortical excitability as well as the transmission efficiency of corticospinal neurons resulting in lower facilitation<sup>45</sup>. Even when we

analyze the adjusted BDNF index, the serum BDNF is higher in the males. However, it was negatively correlated with the change in NPS (0-10) during CMP-task in females but not in males. These results suggest that the potency of DPMS was substantial in women, implying that increases the efficiency of the descending pain inhibitory in the females may be related to gonadal hormones (i.e., estrogen). On the other side, we observed a positive correlation between the MEP amplitude with the change on CMP-task only in males, in the sense that the DMPS was less efficient. Even though the mechanisms underlying these findings are unclear, our finding suggests that the increase in inhibitory activity and the decrease in excitatory synaptic activity in the cortex involving the BDNF is likely modulated by gonadal hormones<sup>46</sup>. This could explain why a higher level of BDNF index in males compared to females was associated with higher cortical excitability as assessed by the MEP amplitude. This hypothesis supported by the previous finding, which showed that cyclic hormonal changes might modulate the cortical excitability, having increased cortical inhibition (assessed by TMS) during the luteal phase in comparison to the follicular phase<sup>11</sup>. Although the hormonal effect on pain measures and cortical excitability are known, it is very difficult to fully control their potential confounding effect in women in the reproductive cycle, in consequence, the widely use hormonal contraception method. Whereas there is this limitation, these results permit us to comprehend neurophysiological mechanisms to explain the role of on neuronal excitability according to sex.

Taking into account that the BDNF may be affected by age<sup>47</sup>, it is essential to control for the potential concealed influence of this factor in the BDNF secretion and in the outcomes measures. Thus, we used a BDNF adjusted index for age as an approach to evaluate the contribution of BDNF as the independent variable on the cortical excitability (MEP) and in the DPMS function on a standard scale. Thus the lower MEP amplitude in the females may be explained by the interplay of BDNF with the progesterone, which increases the activity of



GABAergic system using increasing activity of the GABA<sub>A</sub> receptor<sup>11,48,49</sup>. This finding corroborates previous studies that found higher MEP amplitude in males compared to females<sup>10,17,18</sup>. In overall, these findings are relevant to understand neuroplastic mechanisms that can explain differences in pain between sexes. Although the design of this study does not allow establishing a cause-effect relationship, it is a good starting point to generate hypotheses for future studies.

We have not found any significant differences in pain thresholds in our research. This is by other investigations. Jensen and Petersen (2006)<sup>50</sup>, noted that heat pain thresholds were comparable between males and females, but females reported higher peak pain produced by a prolonged 45.0°C (1 minute) stimulus. In fact, the literature is mixed with the results related to pain threshold and sex. Possibly in consequence of methodological aspects, and other factors that could explain the sex difference in pain response, such as physiological and psychological variables, including mechanisms of endogenous inhibition, the capability to endure pain, genetic factors, pain expectation and personality traits<sup>51,52</sup>. Furthermore, sex differences in pain modulation may be dependent on the type of stressor and pain modality, for example, in response to speaking stressor, males exhibited a greater stress-related reduction in heat pain, whereas females showed a more significant reduction with ischemic pain<sup>53</sup>.

Our investigation had some limitations about the lack of a measure to evaluate hormonal characteristics of the sample, regarding the menstrual cycle in females or hormonal levels in males and females. Thus, the association of BDNF and hormones needs to be further investigated in future studies. First, it should be stand out that our original aim was to understand the role of BDNF in pain perception differences between men and women, considering that the hormonal impact on pain has been extensively reported<sup>54</sup>. Second, the MEP was used to assess the corticospinal excitability. Although it is a hallmark index for cortical and spinal excitability and it has been vastly used in this context, larger MEP amplitude is associated

with different CNS mechanisms<sup>55</sup>. Third, we aimed to understand the relationship between cortical excitability and DPMS and, in fact, our results showed a significant association between them, evidencing the higher the MEP amplitude, the stronger the inhibitory function of pain descending pathways in males. Future studies could put to the test our conclusions by measuring cortical excitability with other TMS measures, such as intra-cortical inhibition, intra-cortical facilitation and cortical silent period. Previous research from our lab has demonstrated the role of these tests on clinical pain<sup>56-58</sup>.

In sum, these findings revealed a robust sex differences were identified across sexes in the DPMS and corticospinal motor pathway with a BDNF effect in the opposite direction in female and males. In overall, they might have significant clinical implications to advance the comprehension of the neurobiological mechanisms involved in the difference of pain processing between sexes, as well to plan new therapeutic approaches.

### **Acknowledgments**

This research was supported by grants and material support from the following Brazilian agencies: Committee for the Development of Higher Education Personnel – CAPES - PNPd/CAPES (grants to Assunta Gasparin) and material support. National Council for Scientific and Technological Development - CNPq (grants to Dr. I.L.S. Torres, Dr. W. Caumo). Postgraduate Program in Medical Sciences at the School of Medicine of the Federal University of Rio Grande do Sul (material support). Foundation for Support of Research at Rio Grande do Sul (FAPERGS) (material support). Brazilian Innovation Agency (FINEP) process number - 1245/13 (Dr. I.L.S. Torres, Dr. W. Caumo). Research grant: National Council for Scientific and Technological Development-CNPq (Torres, I.L.S. 302345/2011-6 and Caumo, W. WC-301256/2013-6).

## Declaration of interests

We affirm that we did not have support from any other organization for the submitted work.

## References

1. Woolf, C. J. Pain: Moving from Symptom Control toward Mechanism-Specific Pharmacologic Management. *Annals of Internal Medicine* **140**, 441–451 (2004).
2. Fillingim, R. B., King, C. D., Ribeiro-Dasilva, M. C., Rahim-Williams, B. & Riley, J. L. Sex, Gender, and Pain: A Review of Recent Clinical and Experimental Findings. *Journal of Pain* **10**, 447–485 (2009).
3. Kong, J. *et al.* A functional magnetic resonance imaging study on the neural mechanisms of hyperalgesic placebo effect. *J. Neurosci.* **28**, 13354–13362 (2008).
4. Gupta, A. *et al.* Sex-based differences in brain alterations across chronic pain conditions. *Journal of Neuroscience Research* **95**, 604–616 (2017).
5. Averbuch, M. & Katzper, M. Gender and the placebo analgesic effect in acute pain. *Clin. Pharmacol. Ther.* **70**, 287–291 (2001).
6. Ossipov, M. H., Dussor, G. O. & Porreca, F. Review series Central modulation of pain. *J. Clin. Invest.* **120**, 3779–3787 (2010).
7. Apkarian, A. V., Baliki, M. N. & Geha, P. Y. Towards a theory of chronic pain. *Progress in Neurobiology* **87**, 81–97 (2009).
8. Porreca, F., Ossipov, M. H. & Gebhart, G. F. Chronic pain and medullary descending facilitation. *Trends Neurosci.* **25**, 319–325 (2002).
9. Botelho, L. M. *et al.* A Framework for Understanding the Relationship between Descending Pain Modulation, Motor Corticospinal, and Neuroplasticity Regulation Systems in Chronic Myofascial Pain. *Front. Hum. Neurosci.* **10**, (2016).
10. Pitcher, J. B., Ogston, K. M. & Miles, T. S. Age and sex differences in human motor cortex input-output characteristics. *J. Physiol.* **546**, 605–613 (2003).
11. Smith, M. J. *et al.* Menstrual cycle effects on cortical excitability. *Neurology* **53**, 2069–2069 (1999).
12. Smith, M. T. & Haythornthwaite, J. A. How do sleep disturbance and chronic pain interrelate? Insights from the longitudinal and cognitive-behavioral clinical trials literature. *Sleep Medicine Reviews* **8**, 119–132 (2004).
13. Wassermann, E. M. Variation in the response to transcranial magnetic brain stimulation in the general population. *Clin. Neurophysiol.* **113**, 1165–1171 (2002).
14. Malenka, R. C. & Bear, M. F. LTP and LTD: An embarrassment of riches. *Neuron* **44**,

- 5–21 (2004).
15. Mhalla, A., de Andrade, D. C., Baudic, S., Perrot, S. & Bouhassira, D. Alteration of cortical excitability in patients with fibromyalgia. *Pain* **149**, 495–500 (2010).
  16. Chen, R. *et al.* The clinical diagnostic utility of transcranial magnetic stimulation: Report of an IFCN committee. *Clin. Neurophysiol.* **119**, 504–532 (2008).
  17. Groppa, S. *et al.* A novel dual-site transcranial magnetic stimulation paradigm to probe fast facilitatory inputs from ipsilateral dorsal premotor cortex to primary motor cortex. *Neuroimage* **62**, 500–509 (2012).
  18. Oliviero, A. *et al.* Effects of aging on motor cortex excitability. *Neurosci Res* **55**, 74–77 (2006).
  19. Cueva, A. S. *et al.* Normative data of cortical excitability measurements obtained by transcranial magnetic stimulation in healthy subjects. *Neurophysiol. Clin. Neurophysiol.* **46**, 43–51 (2016).
  20. Perciavalle, V., Coco, M., Alagona, G. & Maci, T. Gender differences in changes of motor cortex excitability during elevated blood lactate levels. *Somatosens. Mot. Res.* **27**, 106–110 (2010).
  21. Pell, G. S., Roth, Y. & Zangen, A. Modulation of cortical excitability induced by repetitive transcranial magnetic stimulation: Influence of timing and geometrical parameters and underlying mechanisms. *Progress in Neurobiology* **93**, 59–98 (2011).
  22. Kuo, M.-F., Paulus, W. & Nitsche, M. a. Sex differences in cortical neuroplasticity in humans. *Neuroreport* **17**, 1703–1707 (2006).
  23. Chaieb, L., Antal, A. & Paulus, W. Transcranial alternating current stimulation in the low kHz range increases motor cortex excitability. *Restor. Neurol. Neurosci.* **29**, 167–175 (2011).
  24. Rossi, S., Hallett, M., Rossini, P. M., Pascual-Leone, A. & Safety of TMS Consensus Group. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clin. Neurophysiol.* **120**, 2008–39 (2009).
  25. Beck, A. T., Steer, R. A., Ball, R. & Ranieri, W. Comparison of Beck Depression Inventories -IA and -II in psychiatric outpatients. *J. Pers. Assess.* **67**, 588–597 (1996).
  26. Schestatsky, P. *et al.* Validation of a Brazilian quantitative sensory testing (QST) device for the diagnosis of small fiber neuropathies. *Arq. Neuropsiquiatr.* **69**, 943–948 (2011).
  27. Pud, D., Granovsky, Y. & Yarnitsky, D. The methodology of experimentally induced diffuse noxious inhibitory control (DNIC)-like effect in humans. *Pain* **144**, 16–19 (2009).
  28. Yarnitsky, D. Conditioned pain modulation (the diffuse noxious inhibitory control-like effect): its relevance for acute and chronic pain states. *Curr. Opin. Anaesthesiol.* **23**, 611–615 (2010).

29. Gomes-Oliveira, M. H., Gorenstein, C., Neto, F. L., Andrade, L. H. & Wang, Y. P. Validation of the Brazilian Portuguese Version of the Beck Depression Inventory-II in a community sample. *Rev. Bras. Psiquiatr.* **34**, 389–394 (2012).
30. Sehn, F. *et al.* Cross-Cultural Adaptation and Validation of the Brazilian Portuguese Version of the Pain Catastrophizing Scale. *Pain Med* **13**, 1425–1435 (2012).
31. Kaipper, M. B., Chachamovich, E., Hidalgo, M. P. L., da Silva Torres, I. L. & Caumo, W. Evaluation of the structure of Brazilian State-Trait Anxiety Inventory using a Rasch psychometric approach. *J. Psychosom. Res.* **68**, 223–233 (2010).
32. Almeida, T. F., Roizenblatt, S. & Tufik, S. Afferent pain pathways: A neuroanatomical review. *Brain Research* **1000**, 40–56 (2004).
33. Merighi, A. *et al.* Presynaptic functional trkB receptors mediate the release of excitatory neurotransmitters from primary afferent terminals in lamina II (substantia gelatinosa) of postnatal rat spinal cord. *Dev. Neurobiol.* **68**, 457–475 (2008).
34. Vincent, K. & Tracey, I. Hormones and their Interaction with the Pain Experience. *Rev. pain* **2**, 20–4 (2008).
35. Larivi?re, M., Goffaux, P., Marchand, S. & Julien, N. Changes in Pain Perception and Descending Inhibitory Controls Start at Middle Age in Healthy Adults. *Clin. J. Pain* **23**, 506–510 (2007).
36. Aloisi, A. M. *et al.* Cross-sex hormone administration changes pain in transsexual women and men. *Pain* **132**, (2007).
37. Kight, K. E. & McCarthy, M. M. Sex differences and estrogen regulation of BDNF gene expression, but not propeptide content, in the developing hippocampus. *J. Neurosci. Res.* **95**, 345–354 (2017).
38. Segal, M. & Murphy, D. Estradiol Induces Formation of Dendritic Spines in Hippocampal Neurons: Functional Correlates. *Horm. Behav.* **40**, 156–159 (2001).
39. Singh, M., Meyer, E. M. & Simpkins, J. W. The effect of ovariectomy and estradiol replacement on brain-derived neurotrophic factor messenger ribonucleic acid expression in cortical and hippocampal brain regions of female Sprague-Dawley rats. *Endocrinology* **136**, 2320–2324 (1995).
40. Levine, E. S., Crozier, R. A., Black, I. B. & Plummer, M. R. Brain-derived neurotrophic factor modulates hippocampal synaptic transmission by increasing N-methyl-D-aspartic acid receptor activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **95**, 10235–9 (1998).
41. Tanaka, T., Saito, H. & Matsuki, N. Inhibition of GABAA synaptic responses by brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in rat hippocampus. *J. Neurosci.* **17**, 2959–2966 (1997).
42. Eaton, M. J., Blits, B., Ruitenber, M. J., Verhaagen, J. & Oudega, M. Amelioration of chronic neuropathic pain after partial nerve injury by adeno-associated viral (AAV) vector-mediated over-expression of BDNF in the rat spinal cord. *Gene Ther.* **9**, 1387–

- 1395 (2002).
43. Cejas, P. J. *et al.* Lumbar transplant of neurons genetically modified to secrete brain-derived neurotrophic factor attenuates allodynia and hyperalgesia after sciatic nerve constriction. *Pain* **86**, 195–210 (2000).
  44. Stefani, L. C. *et al.* BDNF as an effect modifier for gender effects on pain thresholds in healthy subjects. *Neurosci. Lett.* **514**, 62–66 (2012).
  45. Dall’Agnol, L. *et al.* Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation Increases the Corticospinal Inhibition and the Brain-Derived Neurotrophic Factor in Chronic Myofascial Pain Syndrome: An Explanatory Double-Blinded, Randomized, Sham-Controlled Trial. *J. Pain* **15**, 845–855 (2014).
  46. Saland, S. K., Schoepfer, K. J. & Kabbaj, M. Hedonic sensitivity to low-dose ketamine is modulated by gonadal hormones in a sex-dependent manner. *Sci. Rep.* **6**, (2016).
  47. Zhang, X. Y. *et al.* BDNF levels and genotype are associated with antipsychotic-induced weight gain in patients with chronic schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* **33**, 2200–2205 (2008).
  48. Kokate, T. G., Svensson, B. E. & Rogawski, M. a. Anticonvulsant activity of neurosteroids: correlation with gamma-aminobutyric acid-evoked chloride current potentiation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **270**, 1223–1229 (1994).
  49. Lan, N. C. & Gee, K. W. Neuroactive steroid actions at the GABAA receptor. *Hormones and behavior* **28**, 537–544 (1994).
  50. Jensen, M. T. & Petersen, K. L. Gender differences in pain and secondary hyperalgesia after heat/capsaicin sensitization in healthy volunteers. *J. Pain* **7**, 211–217 (2006).
  51. Wiesenfeldhallin, Z. Sex differences in pain perception. *Gend. Med.* **2**, 137–145 (2005).
  52. Keefe, F. J. *et al.* The relationship of gender to pain, pain behavior, and disability in osteoarthritis patients: the role of catastrophizing. *Pain* **87**, 325–334 (2000).
  53. Bragdon, E. E. *et al.* Group differences in pain modulation: Pain-free women compared to pain-free men and to women with TMD. *Pain* **96**, 227–237 (2002).
  54. Paller, C. J., Campbell, C. M., Edwards, R. R. & Dobs, A. S. Sex-based differences in pain perception and treatment. *Pain Medicine* **10**, 289–299 (2009).
  55. Bestmann, S. & Krakauer, J. W. The uses and interpretations of the motor-evoked potential for understanding behaviour. *Experimental Brain Research* **233**, 679–689 (2015).
  56. Da Graca-Tarragó, M. *et al.* Electrical intramuscular stimulation in osteoarthritis enhances the inhibitory systems in pain processing at cortical and cortical spinal system. *Pain Med. (United States)* **17**, 877–891 (2016).
  57. Tarrago, M. da G. L. *et al.* Descending Control of Nociceptive Processing in Knee Osteoarthritis Is Associated with Intracortical Disinhibition. *Medicine (Baltimore)*. **95**,

e3353 (2016).

58. Caumo, W. *et al.* Motor Cortex Excitability and BDNF Levels in Chronic Musculoskeletal Pain According to Structural Pathology. *Front. Hum. Neurosci.* **10**, 357 (2016).

## LEGENDS

**Table 1.** Sociodemographic and psychological characteristics by sex. Data are presented as mean (standard deviation) (n=56).

**Table 2.** Parameter estimates of the MANCOVA model for the dependent variables NPS during CPM task and MEP and BDNF index as a covariate according to sex (total n=56).

**Figure 1.** Comparisons of descending pain modulatory system measures between male (n=32) and female (n=24) groups. \*  $P < 0.05$ , considering estimated marginal means covaried by BDNF index from the MANCOVA model adjusted by the Bonferroni test.

**Figure 2. (A)** A regression analysis 1 of the correlation between the change on NPS (0-10) during CPM-task with the BDNF index in males (n=32). **(B)** A regression analysis between the change on NPS (0-10) during CPM-task with the BDNF index in females (n=24).

**Figure 3. (A)** A linear regression of the relationship change on NPS (0-10) during CPM-task with the MEP (Mv) in males (n=32). **(B)** A linear regression of the relationship between the change on NPS (0-10) during CPM-task with the MEP (Mv) in females (n=24).



**Table 1.** Sociodemographic and psychological characteristics by sex. Data are presented as mean (standard deviation) (n=56).

	Male (n=32)	Female (n=24)	P-value
Age (ys)	25.59 (5.40)	33.90 (11.80)	0.007
Schooling (ys)	16.18 (4.35)	17.25 (2.67)	0.31
Pittsburgh Sleep Quality Index	5.9630 (5.67)	4.00 (2.31)	0.11
State-Trait Anxiety	20.14 (4.39)	20.10 (8.16)	0.98
Trait Anxiety Scale	16.59 (3.87)	17.55 (3.79)	0.40
Beck Depression Inventory II	3.10 (3.36)	2.10 (2.44)	0.10
Brazilian Pain Catastrophizing Scale	8.33 (.43)	4.80 (7.36)	0.13
Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) (ng/ml)	33.06 (11.87)	23.71(13.71)	0.001

**Table 2.** Parameter estimates of the MANCOVA model for the dependent variables NPS during CPM task and MEP and BDNF index as a covariate according to sex (total n=56).

<b>Main effects</b>							
	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	P-value	Partial Eta Squared
Model	Motor evoked potential (Mv)	1.243 <sup>a</sup>	2	.622	6.566	.003	.199
	Quantitative Sensory Testing (°C)	32.133 <sup>b</sup>	2	16.067	1.588	.214	.057
	Change on NPS (0-10) during CPM-task	28.062 <sup>c</sup>	2	14.031	5.533	.007	.173
Sex	Motor evoked potential (Mv)	1.116	1	1.116	11.788	.001	.182
	Quantitative Sensory Testing (°C)	22.070	1	22.070	2.181	.146	.040
	Change on NPS (0-10) during CPM-task	11.253	1	11.253	4.437	.040	.077
BDNF index	Motor evoked potential (Mv)	.000	1	.000	.005	.943	.000
	Quantitative Sensory Testing (°C)	19.707	1	19.707	1.947	.169	.035
	Change on NPS (0-10) during CPM-task	24.202	1	24.202	9.543	.003	.153
Residual	Motor evoked potential (Mv)	5.017	53	.095			
	Quantitative Sensory Testing (°C)	536.375	53	10.120			
	Change on NPS (0-10) during CPM-task	134.410	53	2.536			
Corrected Total	Motor evoked potential (Mv)	6.260	55				
	Quantitative Sensory Testing (°C)	568.508	55				
	Change on NPS (0-10) during CPM-task	162.472	55				

**(B) Coefficients**

Model Term	B	Std. Error	t	P-value	CI 95%
<b>Dependent variable : Motor evoked potential (Mv)</b>					
Intercept	1.242	.248	5.006	.000	(0.74 to 1.74)
Male (n=32)	.299	.087	3.433	.001	(0.12 to 0.47)
Female (n=24)	0 <sup>reference</sup>				
BDNF index	.001	.009	.072	.943	(-0.02 to 0.03)
<b>Quantitative Sensory Testing (°C)</b>					
Intercept	45.506	2.564	17.746	.000	(40.36 to 50.65)
Male (n=32)	1.330	.901	1.477	.146	(-0.48 to 3.14)
Female (n=24)	0 <sup>reference</sup>				
BDNF index	-.128	.092	-1.395	.169	(-0.31 to 0.06)
<b>Change on NPS (0-10) during CPM-task</b>					
Intercept	.827	1.284	.644	.522	(-1.75 to 3.40)
Male (n=32)	.950	.451	2.106	.040	(0.05 to 1.85)

Female (n=24)	O <sub>reference</sub>				
BDNF index	-0.142	.046	-3.089	.003	(-0.23 to -0.05)

*R Squared = .199 (Adjusted R Squared = .168)<sup>a</sup>*  
*R Squared = .057 (Adjusted R Squared = .021)<sup>b</sup>*  
*R Squared = .173 (Adjusted R Squared = .142)<sup>c</sup>*  
 Notes. NPS = numeric pain scale; CPM = conditioned pain modulation; MEP = motor evoked potential.

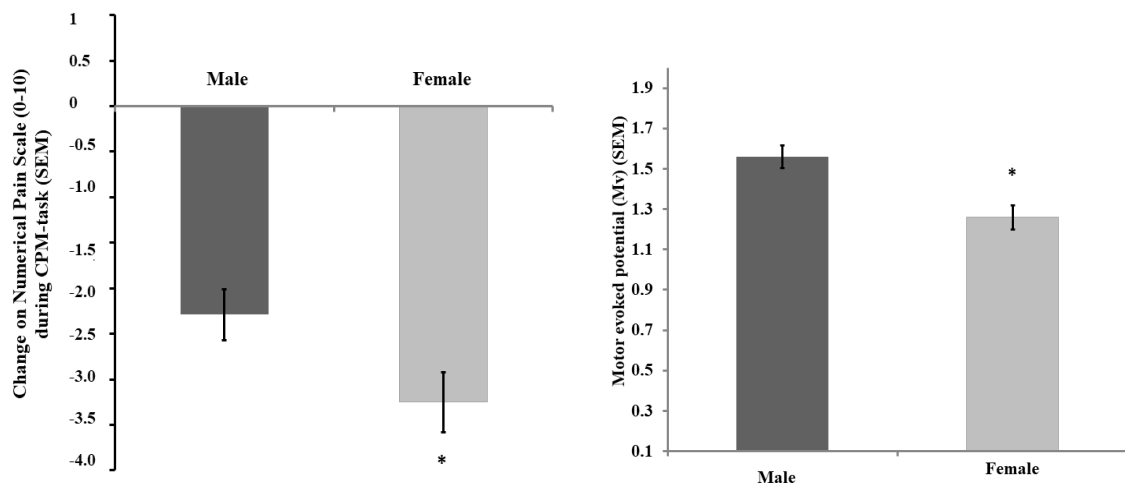


Figure 1.

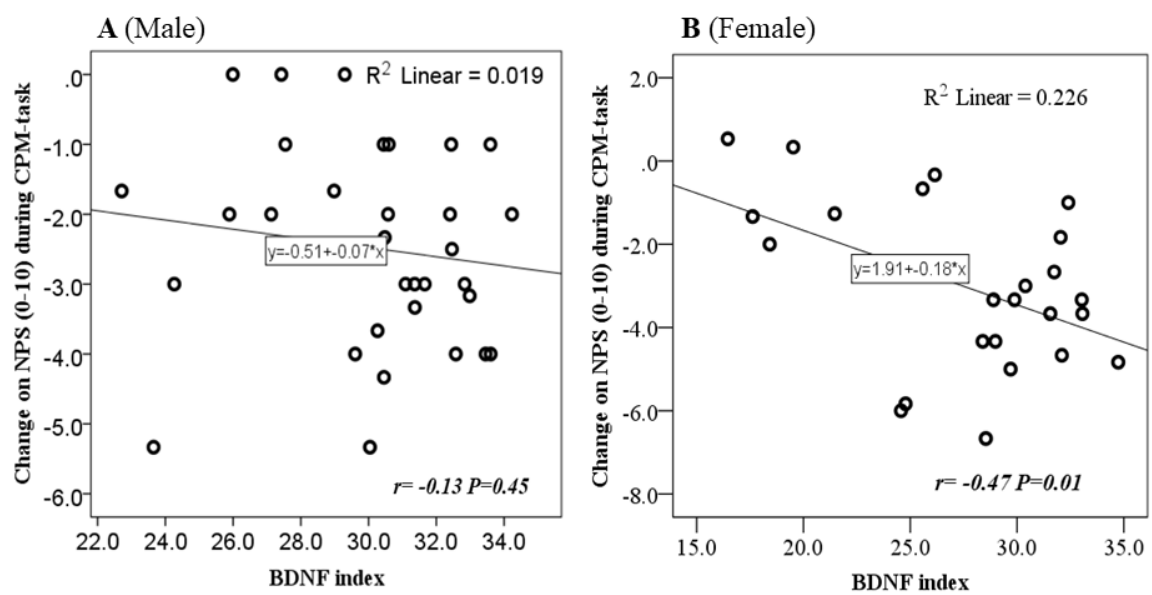
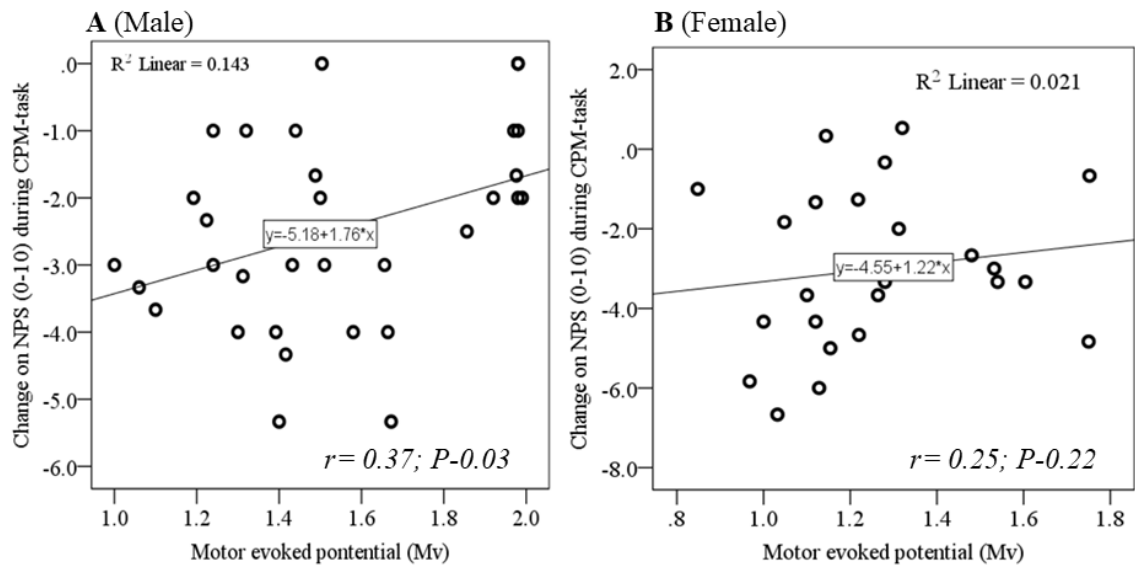


Figure 2.



**Figure 3.**

## **8. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os resultados obtidos com esta dissertação de mestrado permitem as seguintes conclusões:

- A diferença entre os sexos durante a realização da tarefa do CPM evidenciou que os homens tiveram uma menor mudança na escala numérica de dor (NPS) quando comparado com as mulheres. Esse achado suporta a ideia de que esse efeito tenha sido mediado pelos níveis séricos de BDNF.

- A amplitude do MEP foi maior para os homens do que para as mulheres, indicando um maior nível de excitabilidade da via corticoespinal, embora os níveis de BDNF não tenham influenciado significativamente.

- Não foram encontradas diferenças significativas para o limiar de dor de calor (avaliado pelo HPT) em relação ao sexo.

## **9. PERSPECTIVAS FUTURAS**

A presente dissertação teve como finalidade investigar como se relacionam os parâmetros de neuroplasticidade – secreção de BDNF, função do SMDD, excitabilidade da via corticoespinal e limiares de dor de acordo com a variabilidade biológica exercida pelo sexo. A compreensão das variáveis estudadas nesta dissertação contribuirá para o esclarecimento das diferenças entre a sinalização nociceptiva e aspectos neurofisiológicos relacionados à dor e excitabilidade cortical, possibilitando a realização de protocolos de pesquisa que poderão ampliar no futuro a inserção de terapias cada vez mais individualizadas.

## **ANEXOS**

## ANEXO 1: TCLE 1

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

#### NOME DO ESTUDO: EFEITO DA MELATONINA À ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA TRANSCRANIANA DE CORRENTE CONTINUA NA NEUROPLASTICIDADE E NO LIMIAR DE DOR EM SUJEITOS SAUDÁVEIS

Número do protocolo: \_\_\_\_\_  
Instituição: Hospital de Clínicas de Porto Alegre- HCPA  
Pesquisador Responsável: Dr. Wolnei Caumo – 9981-3977  
Comitê de Ética e Pesquisa do HCPA: (51) 3359-8304

Você está sendo convidado para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Após ser esclarecido sobre as informações a seguir e retirado todas as suas dúvidas sobre a pesquisa, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável.

#### 1. OBJETIVO DO ESTUDO

O objetivo do estudo é avaliar o efeito da estimulação transcraniana de corrente contínua (TDCs) que é um tratamento para dor em que o estímulo é realizado na cabeça (Figura 1). No entanto, o efeito desta estimulação será avaliado combinado a uma substância chamada de melatonina, que regula o sono e também tem demonstrado efeito na dor. O efeito deste tratamento será avaliado por exames de sangue, funções dos nervos avaliados por estímulos leves que produzem as sensações de calor. Haverá perguntas sobre os seus sentimentos, nível de dor e pensamentos que lhe aparecem na cabeça durante o tratamento.

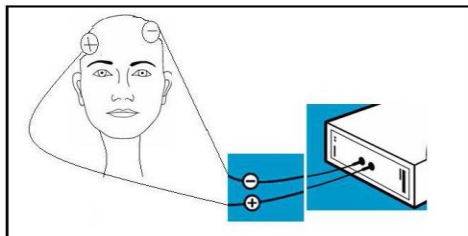


Figura 1

#### 2. EXPLICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

Ao participar da pesquisa é necessário responder a várias perguntas antes e durante o exame. Será necessário coletar quatro amostras de sangue, o volume é de 10 ml a cada coleta, o equivalente a duas colheres de sopa. As amostras de sangue serão coletadas antes de iniciar o estudo, ao final da primeira intervenção, antes de iniciar a segunda intervenção e ao final da mesma.

#### 3. TRATAMENTOS

Neste estudo, as sessões do tratamento com TDCs serão realizadas conforme o protocolo de duas sessões com o uso de eletrodos de borracha que serão colocados na sua cabeça, através dos quais vão passar uma eletricidade fraca que pode no máximo causar uma leve coceira. Serão aplicados dois tipos de tratamento. Será feito um sorteio, você receberá tanto o tratamento ativo como o placebo, com uma semana de intervalo entre os dois. No tratamento placebo os equipamentos não emitirão nenhum estímulo. Se concordar em participar do estudo, terá que cooperar em todas as etapas do mesmo. Nem o senhor nem a enfermeira que lhe aplicará os questionários saberão qual tratamento o senhor receberá.

O senhor receberá melatonina sublingual 0,25 mg/kg (dose máxima de 20mg), antes de iniciar o TDCs, esta é uma substância que regula o sono.

#### 4. POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS

Um possível desconforto poderá ser sentido, por algumas pessoas, na coleta de sangue. Durante a aplicação da estimulação poderá ocorrer vermelhidão, sensações de coceira, leve formigamento no local



onde serão colocados os eletrodos. O senhor também poderá sentir sonolência, dor de cabeça, náuseas ou tonturas.

#### 5. POSSÍVEIS BENEFÍCIOS DESTES ESTUDOS

O tratamento que será realizado visa avaliar o limite para a dor. Com os resultados deste estudo poderemos obter informações importantes sobre o quanto estes tratamentos poderão beneficiar outros pacientes com quadros de dor.

#### 6. DIREITO DE DESISTÊNCIA

O Senhor poderá desistir de participar a qualquer momento da pesquisa. Sua decisão de não participar ou de deixar a pesquisa depois de iniciada não o prejudicará.

#### 7. PRIVACIDADE

Todas as informações obtidas deste estudo poderão ser publicas com finalidades científicas, preservando os dados de identificação.

#### 8. CONTATO DOS PESQUISADORES

Caso o Senhor tenha alguma dúvida poderá entrar em contato com os pesquisadores através dos telefones: Profº Dr. **Wolnei Caumo** 9981-3977 (2º andar do HCPA Laboratório de Neuromodulação - sala 2201E – telefone 3359-8083) ainda com o Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas. Este é um órgão composto por profissionais de diferentes áreas de conhecimento e por representantes da comunidade, são responsáveis pela avaliação ética e metodológica dos projetos de pesquisa que envolva seres humanos - telefone 3359-8304.

#### 9. RESSARCIMENTO DE DESPESAS

O Senhor não terá despesas com a sua participação na pesquisa.

#### 10. ARMAZENAMENTO DE MATERIAIS BIOLÓGICOS

O sangue coletado será avaliado no Laboratório de Pesquisa Experimental do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Este material não será armazenado nem utilizado em pesquisas futuras.

#### 11. CONSENTIMENTO

Este termo de Consentimento Livre e Esclarecido será fornecido uma via para o sujeito da pesquisa e uma via será arquivada pelo pesquisador, sendo as duas vias assinadas e rubricadas todas as páginas por ambos.

Declaro ter lido – ou me foi lido – as informações acima antes de assinar este formulário. Foi-me dada ampla oportunidade de fazer perguntas, esclarecendo plenamente minhas duvidas. Por este instrumento, torno-me parte, voluntariamente, do presente estudo.

Nome do sujeito da pesquisa: \_\_\_\_\_

Assinatura do sujeito da pesquisa: \_\_\_\_\_

Nome do pesquisador : \_\_\_\_\_

Assinatura do pesquisador : \_\_\_\_\_

Porto Alegre, de de 20

## ANEXO 2: TCLE 2

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Número do protocolo: \_\_\_\_\_

Você está sendo convidada a participar de um estudo com nome “**Efeito agudo da pregabalina na excitabilidade cortical, parâmetros psicofísicos e marcadores séricos dos processos neuroplásticos em fibromiálgicas**”: Ensaio clínico randomizado, duplo cego, crossover, controlado com placebo”, cujo objetivo é avaliar o efeito agudo de uma medicação utilizada no tratamento da dor em pacientes com FM por meio de imagem que analisa a região do cérebro que controla os movimentos, e por meio de estímulos magnéticos de baixa intensidade aplicados na cabeça, porém de forma não invasiva.

#### 1. EXPLICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

Se você aceitar participar do estudo, serão realizadas três visitas com intervalo de cinco dias entre cada visita. Na primeira visita faremos uma avaliação da sua dor por meio de questionários, exames de sangue, por estímulos leves que produzem as sensações de calor, de frio e de pressão, e faremos avaliação do funcionamento do cérebro por meio da aplicação de pulso magnético de baixa intensidade sobre a cabeça (TMS) – conforme a figura 1. E também utilizando um exame chamado método óptico de neuroimagem funcional (NIRS) - conforme figura 2. Na segunda e terceira visitas, os mesmos procedimentos serão realizados, porém nestes dias a senhora receberá o remédio antes das avaliações.

Figura 1: TMS



Figura 2: NIRS



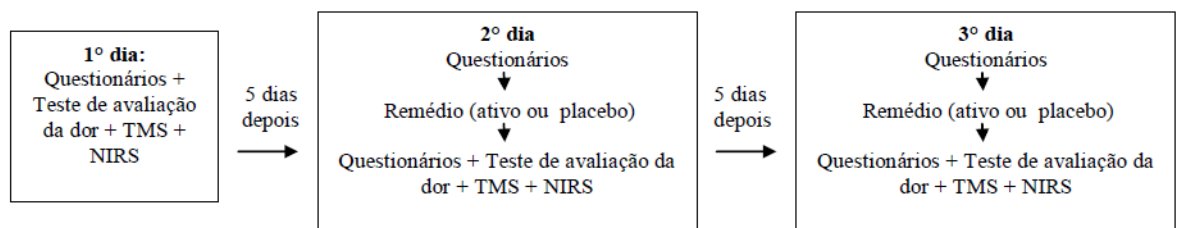
Antes e após tomar o remédio você será convidada a responder alguns questionários para verificar a qualidade do sono, características de

sintomas depressivos, nível de dor e os pensamentos sobre a dor que vem sentindo.

Você poderá receber primeiro a medicação ativa ou o placebo (não ativo), mas receberá os dois tipos de intervenção durante a realização das sessões. Nem você, nem o avaliador que lhe atenderá nestes dias, saberão qual intervenção você recebeu cada dia. O procedimento completo terá a duração de 3hs em cada um dos três dias.

**Recomendações:** Você deverá continuar com todos os tratamentos para a dor que já utiliza (medicamentos, fisioterapia), e não deve interromper nenhum tipo de tratamento que realiza. Nos dias em que participar deste estudo evite usar gel ou cremes para o cabelo.

O quadro abaixo descreve os procedimentos envolvidos no estudo:



## 2. POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS

Um possível desconforto do presente estudo poderá ser sentido, por algumas pessoas, na coleta de sangue. Durante a avaliação com o TMS a senhora poderá sentir sonolência. O remédio não apresenta efeitos adversos graves, mas a senhora poderá sentir sonolência, tontura, ou dor de cabeça.

## 3. POSSÍVEIS BENEFÍCIOS DESTES ESTUDOS

Você poderá não beneficiar-se diretamente da participação neste estudo pois, embora o remédio que será avaliado visa diminuir a dor e melhorar a qualidade de vida, você receberá uma dose única deste. Porém, com os resultados deste estudo poderemos obter informações importantes sobre o quanto este remédio poderá beneficiar outros pacientes com quadros de dor semelhantes ao seu, ou você mesma num futuro próximo.

#### **4. EXCLUSÃO DO ESTUDO**

O investigador responsável poderá ao longo do estudo considerar o seu afastamento caso você não esteja se beneficiando da participação.

#### **5. DIREITO DE DESISTÊNCIA**

Você pode desistir de participar a qualquer momento da pesquisa, sinta-se à vontade. Sua decisão de não participar ou de deixar a pesquisa depois de iniciada não prejudicará a atenção recebida no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

#### **6. PRIVACIDADE**

Todas as informações obtidas deste estudo poderão ser publicadas com finalidade científica, preservando os dados de identificação dos participantes.

#### **7. CONTATO DOS PESQUISADORES**

Caso você tenha alguma dúvida poderá entrar em contato com o pesquisador responsável por este estudo: Prof<sup>o</sup> Dr. Wolnei Caumo, através do telefone 3359-8083, no 2º andar do HCPA, Laboratório de Dor & Neuromodulação - sala 2201E. Ou, poderá contatar o Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, que está localizado no 2º andar do HCPA sala 2227, com funcionamento de segunda à sexta- feira, das 8hs às 17hs – telefone 3359-7640.

#### **8. RESSARCIMENTO DE DESPESAS**

Você não terá despesas com a sua participação na pesquisa e não será remunerada por ela.

## 9. CONSENTIMENTO

Este termo de Consentimento Livre e Esclarecido será assinado em duas vias, uma para você e uma via será arquivada pelo pesquisador. Desta forma, declaro ter lido – ou me foi lido – as informações acima antes de assinar este Termo. Foi-me dada ampla oportunidade de fazer perguntas, esclarecendo plenamente minhas dúvidas. Por este instrumento, torno-me parte, voluntariamente, do presente estudo.

Nome do participante:

---

Assinatura do participante:

---

Nome do pesquisador:

---

Assinatura do pesquisador:

---

Porto Alegre, de de 201 .

### **ANEXO 3: TCLE 3**

#### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está sendo convidado (a) participar do estudo: “Desenvolvimento de aparato de estimulação transcraniana de corrente contínua (ETCC) para uso domiciliar”.

#### **1. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA DO ESTUDO**

A ETCC tem sido estudada e utilizada para o tratamento de diversas doenças, especialmente na neuropsiquiatria (tratamento de doenças psiquiátricas), na reabilitação (tratamento de síndromes dolorosas e síndromes neurológicas) e na melhora do aprendizado. Em função disso, a intenção deste estudo é desenvolver e validar um aparelho de estimulação transcraniana de corrente contínua para uso domiciliar.

Para isso iremos comparar o efeito do ETCC de uso ambulatorial e domiciliar para verificar se a forma de uso domiciliar terá o mesmo resultado do uso ambulatorial que já foi amplamente estudado. O desenvolvimento do ETCC domiciliar possibilitará a manutenção dos benefícios já encontrados no tratamento ambulatorial, possibilitando que futuramente os pacientes possam realizar o tratamento na sua residência, sem custo com deslocamento nem sobrecarga do sistema de saúde.

#### **2. PROCEDIMENTOS DO ESTUDO**

Se você aceitar participar deste estudo, você será sorteado para um dos quatro grupos:

1) ETCC ativo ambulatorial (Figura A): O procedimento iniciará com a localização do ponto em que usaremos os eletrodos. Após, eles serão colocados e presos em dois locais na sua cabeça. Depois o aparelho será ligado nos parâmetros pré-estabelecidos durante 20

minutos. Será realizada uma sessão única, que será feita no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). A sala usada para o atendimento fica no Centro de Pesquisa Clínica (CPC) do hospital. O tempo total, com avaliação inicial, sessão de ETCC e avaliação final será de aproximadamente 4 horas.

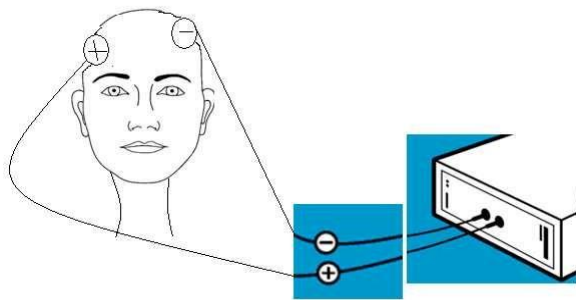
2) ETCC *sham* ambulatorial: Mesmo procedimento e tempo que o anterior, porém o aparelho estará na modalidade *sham* (inativo). Neste grupo também será realizada uma sessão única, que será feita no HCPA. A sala usada para o atendimento fica no CPC do hospital. O tempo total, com avaliação inicial, sessão de ETCC e avaliação final será de aproximadamente 4 horas.

3) ETCC ativo de uso domiciliar (Figura B): O procedimento será exatamente da mesma forma e tempo de estimulação que o ETTC de uso ambulatorial, porém será utilizado o aparato de uso domiciliar. Será explicado para o participante a forma de colocação da touca e o manejo do aparelho. Neste grupo serão feitas 11 sessões de ETTC, sendo a primeira realizada no HCPA, com supervisão do pesquisador, e as demais 10 serão realizadas no domicílio do participante. No 5º dia de aplicação o pesquisador ligará para o participante e fará perguntas sobre o uso do equipamento. Ao final das 10 sessões o participante se deslocará ao HCPA para entrega do aparelho e responderá novamente às perguntas sobre uso do equipamento. O participante se deslocará para o HCPA duas vezes. O tempo total do primeiro encontro, com avaliação inicial, sessão de ETCC e avaliação final será cerca de 4 horas. O tempo da última avaliação será de aproximadamente 1 hora.

4) ETCC *sham* de uso domiciliar: Mesmo procedimento e tempo que o ativo de uso domiciliar, porém o aparelho estará na modalidade *sham* (inativo). Neste grupo também serão realizadas 11 sessões, sendo a primeira realizada no HCPA, com supervisão do pesquisador, e as demais 10 serão realizadas no domicílio do participante. A sala usada para

o atendimento fica no CPC do hospital. O participante se deslocará para o HCPA duas vezes. O tempo total do primeiro encontro, com avaliação inicial, sessão de ETCC e avaliação final será cerca de 4 horas. O tempo da última avaliação será de aproximadamente 1 hora.

Figura ilustrativa das duas formas de uso do ETCC.



A. ETCC ambulatorial



B. ETCC domiciliar

Você deverá preencher questionários que verificarão seu perfil, hábitos de vida e sua qualidade de sono. Será necessário coletar duas amostras de sangue, o volume é de 10 ml a cada coleta, o equivalente a duas colheres de sopa. As amostras de sangue serão coletadas antes de iniciar o estudo e ao final da primeira intervenção. Para os grupos domiciliares, será feita mais uma coleta ao final dos 10 dias. O sangue será coletado para avaliação dos efeitos do equipamento testado, por meio da avaliação de marcadores sanguíneos relacionados à capacidade do cérebro de se remodelar – BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro). Todos os participantes realizarão uma avaliação dos sinais emitidos pelo cérebro (excitabilidade cortical) e uma avaliação do limiar de dor aos estímulos térmicos e de pressão antes e após a aplicação do ETCC (ambulatorial ou domiciliar). O estímulo de pressão será realizado aplicando-se uma pressão em seu braço com um dispositivo com mola até atingir o seu limite de dor. Para o estímulo térmico, será colocado um dispositivo em seu braço que esquenta gradualmente. Você



será treinado (a) a pressionar um botão quando atingir o seu limite de dor. Caso a temperatura seja superior a 52°C, o dispositivo retornará automaticamente para o valor inicial e será registrado o valor de 52°C.

Nem você nem o pesquisador responsável saberão qual dos grupos de ETCC ambulatorial ou domiciliar está. Ao final do estudo o grupo será desvendado.

Os grupos *Sham* têm uma importante função neste estudo, pois estes grupos nos permitirão verificar se o tratamento ambulatorial e domiciliar teve efeito e também comparar os resultados encontrados em cada um deles.

### **3. BENEFÍCIOS, RISCOS E DESCONFORTOS**

Possíveis benefícios: a sua participação no estudo não trará benefício direto para você, mas os resultados deste estudo poderão beneficiar pacientes com dor crônica, doenças psiquiátricas ou síndromes neurológicas que poderão ter uma nova alternativa de tratamento de uso domiciliar.

Possíveis riscos e desconfortos: um possível desconforto do presente estudo poderá ser sentido, em algumas pessoas, na coleta de sangue. O tratamento pode produzir algum risco ou desconforto durante a aplicação. Poderá ocorrer vermelhidão, sensações de coceira, leve formigamento no local onde serão colocados os eletrodos. Você também poderá sentir sonolência, porém não necessita de acompanhante na aplicação ambulatorial, pois a sonolência é de intensidade leve. Pode ocorrer desconforto no momento da resposta aos questionários.

### **4. VOLUNTARIEDADE**

Sua participação no estudo é totalmente voluntária e a não participação ou desistência após ingressar no estudo não implicará em nenhum tipo de prejuízo para você.

Se você se recusar em participar ou desistir do estudo, isso não acarretará em nenhum prejuízo no seu atendimento na instituição.

## **5. RESSARCIMENTO**

A participação neste projeto não acarretará qualquer despesa financeira em relação aos procedimentos envolvidos e nenhum tipo de remuneração por sua participação no estudo.

## **6. CONFIDENCIALIDADE DOS DADOS**

Todas as informações obtidas deste estudo poderão ser publicadas com finalidades científicas, preservando os dados de identificação. Os resultados deste estudo quando forem apresentados serão divulgados de maneira agrupada, sem a identificação individual dos participantes do estudo.

## **7. ESCLARECIMENTOS E CONTATO DOS PESQUISADORES**

Todas as suas dúvidas poderão ser esclarecidas antes e durante o curso da pesquisa, por meio do contato com pesquisador responsável: Prof<sup>o</sup> Dr. Wolnei Caumo ou preferencialmente com a pesquisadora **Fabiana Carvalho** (51) 3362.1686 ou (45) 9124.1109. Os dois pesquisadores poderão ser encontrados no 2º andar do HCPA Laboratório de Dor & Neuromodulação - sala 2201E – telefone (51) 3359-8083.

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas poderá ser contatado para o esclarecimento de dúvidas, no 2º andar do HCPA, sala 2227 ou por meio do telefone: (51) 3359.7640, das 08h às 17h, de segunda a sexta-feira.

## **8. CONSENTIMENTO**

Este termo de Consentimento Livre e Esclarecido será elaborado em duas vias, sendo entregue uma via para você e outra será arquivada pelo pesquisador. As duas vias serão assinadas e rubricadas em todas as páginas por ambos.

Declaro ter lido – ou me foi lido – as informações acima antes de assinar este formulário. Foi-me dada ampla oportunidade de fazer perguntas, esclarecendo plenamente minhas dúvidas. Por

este instrumento, torno-me parte, voluntariamente, do presente estudo.

Nome do participante:

---

Assinatura do participante:

---

Nome do pesquisador:

---

Assinatura do pesquisador:

---

Porto Alegre,        de                    de 201\_\_.

## ANEXO 4: STROBE

STROBE Statement—Checklist of items that should be included in reports of *cross-sectional studies*

			Artigo
	Item No	Recommendation	
Title and abstract	1	(a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract	52
		(b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found	52
<b>Introduction</b>			
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported	53 e 54
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses	54
<b>Methods</b>			
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper	54 e 55
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection	54 e 55
Participants	6	(a) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants	55
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable	55 a 57
Data sources/ measurement	8*	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group	55 a 57
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias	57
Study size	10	Explain how the study size was arrived at	57

Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why	57 e 58
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding	57 e 58
		(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions	58
		(c) Explain how missing data were addressed	NA
		(d) If applicable, describe analytical methods taking account of sampling strategy	NA
		(e) Describe any sensitivity analyses	NA
<b>Results</b>			
Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed	58 e 72
		(b) Give reasons for non-participation at each stage	NA
		(c) Consider use of a flow diagram	NA
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders	58 e 72
		(b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest	NA
Outcome data	15*	Report numbers of outcome events or summary measures	NA
Main results	16	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included	58 a 60 72 a 74
		(b) Report category boundaries when continuous variables were categorized	58 a 60

		(c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period	NA
Other analyses	17	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses	NA
<b>Discussion</b>			
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives	61
Limitations	19	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias	64
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence	61 a 65
Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results	61 a 65
<b>Other information</b>			
Funding	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based	65 e 66

\*Give information separately for exposed and unexposed groups.

**Note:** An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at <http://www.plosmedicine.org/>, Annals of Internal Medicine at <http://www.annals.org/>, and Epidemiology at <http://www.epidem.com/>). Information on the