

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

EFICÁCIA DA MELATONINA NO TRATAMENTO DA ENDOMETRIOSE

CLAUDIA CARINA CONCEIÇÃO DOS SANTOS

Porto Alegre

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

EFICÁCIA DA MELATONINA NO TRATAMENTO DA ENDOMETRIOSE

CLAUDIA CARINA CONCEIÇÃO DOS SANTOS

Orientador: Prof. Dr. Wolnei Caumo

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

Porto Alegre

2012

CIP - Catalogação na Publicação

Conceição dos Santos, Claudia Carina
EFICÁCIA DA MELATONINA NO TRATAMENTO DA
ENDOMETRIOSE / Claudia Carina Conceição dos Santos. --
2012.
90 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, 2012.

1. Endometriose. 2. Melatonina. 3. Eixo
imunopineal. I. Caumo, Wolnei, orient. II. Título.

*Ao meu esposo Renato e ao meu filho Vitor,
por estenderem a mão amiga nos momentos mais difíceis!*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Wolnei Caumo, orientador que me possibilitou iniciar o mestrado e me conduziu na construção deste estudo, os maiores e mais sinceros agradecimentos, pelo seu brilhantismo acadêmico. Obrigada por ter acreditado na minha capacidade e também pelas críticas que contribuíram para o meu crescimento profissional.

À minha colega e amiga Gislene Dalferth Costa, que compartilhou comigo tantos momentos. Rimo, choramos e nos ajudamos mutuamente!

Ao bolsista de Iniciação Científica André Schwertner, pela competência, pela troca de ideias e pela amizade construída.

A Izabel Cristina Custodio de Souza, pela disponibilidade da ajuda com suas palavras gentis e alegres. Obrigada!

A Professora Maria Horto, minha revisora, por uma experiência maravilhosa com nossa língua portuguesa, por ser tão claro em tão pouco tempo.

A Caroline Buzzatti Machado, pela colaboração e disponibilidade na aplicação do SCID.

Aos demais colegas do Grupo de Dor e Neuromodulação, em especial Francisleia Sehn e Mônica Chassot, pela parceria e colaboração.

Aos pacientes da pesquisa, pela colaboração e empenho em permitir todos os passos necessários para que este estudo fosse realizado por completo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por oportunizarem meu crescimento científico.

À Unidade de Recuperação Pós-anestésica do HCPA, a meus colegas de trabalho e em especial a Mirela de Oliveira Tatsch e Alessandra Glaeser, por dividirem seus conhecimentos.

E, por último, mas com uma importância suprema, a Deus, pela bênção de viver.

“Senhor, tu me sondaste, e me conheces”.
Tu sabes o meu assentar e o meu levantar;
de longe entendes o meu pensamento... E conheces
todos os meus caminhos...
Tal ciência é para mim maravilhosa”.
(Salmo 139: 1-2)

RESUMO

Introdução: Endometriose é uma doença benigna que afeta mulheres em idade fértil. Tem caráter multifatorial estrogênio-dependente associado à resposta inflamatória generalizada na cavidade peritoneal e sendo a causa mais comum de dor pélvica crônica. **Objetivos:** O estudo comparou o efeito da melatonina (10 mg/dia) com placebo na dor e níveis séricos do *Brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) de pacientes com endometriose. **Métodos:** Foi realizado um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, em paralelo, controlado com placebo. Foram incluídas mulheres com idade entre 24 e 52 anos com diagnóstico de endometriose por laparoscopia selecionadas a partir da agenda diária de consultas do ambulatório de Ginecologia e por chamamento na mídia local, no período de setembro de 2010 a abril de 2012. Foram utilizados questionários para avaliar a frequência e a intensidade da dor (na relação sexual, na micção e no trabalho), sintomas depressivos, nível de pensamento catastrófico e o *Structured Clinical Interview for DSM-IV* (SCID) para diagnósticos psiquiátricos. **Resultados:** Na análise por intenção de tratar a média de dor no período menstrual foi de 4,8 cm \pm 0,15 no grupo que recebeu melatonina (n=20) e de 6,9 cm \pm 0,13 no grupo placebo (n=20), com diferença média (ajustada para o efeito de cada paciente) de 2,147 cm na escala análogo visual de dor (EAV) (IC 95%; 1,767 a 2,527; p<0,001). Também houve diferença entre as médias de dor ao urinar (diferença média=0,660; IC 95%; 0,348 a 0,971; p<0,001) e dor ao evacuar (diferença média=0,515; IC 95%; 0,180 a 0,849; p=0,003). Pacientes que receberam melatonina tiveram redução nos níveis séricos de BDNF. **Conclusões:** O uso da melatonina foi associado à redução da dor mesmo fora do período menstrual em pacientes com endometriose. O tratamento também reduziu os níveis de BDNF, sugerindo mudança em sistemas moduladores de dor. Tais achados sugerem que a melatonina é eficaz no tratamento da endometriose.

Palavras chave: endometriose; melatonina; eixo imunopineal.

ABSTRACT

Background: Endometriosis is a benign condition that affects women in childbearing age. It is a estrogen-dependent disease, multifactorial, associated with a generalized inflammatory response in the peritoneal cavity, being the most common cause of chronic pelvic pain.

Objective: This study have compared the effect of melatonin 10 mg / day with placebo in pain and in serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in patients with endometriosis.

Methods: We conducted a randomized, double-blind, parallel, placebo-controlled trial. We included women at aged between 24 and 52 years with the diagnosis of endometriosis by laparoscopy selected from the daily schedule of consultations of the Gynecology outpatient clinic and by calling the local media, for the period September 2010 to April 2012. Questionnaires were used to evaluate the frequency and intensity of pain (during intercourse, urination and work), depressive symptoms, level of catastrophic thinking and the Structured Clinical Interview for DSM-IV (SCID) for psychiatric diagnoses.

Results: In the analysis by intention to treat, the mean pain during menstruation was 4.8 ± 0.15 cm in the group receiving Melatonin (n = 20) and 6.9 ± 0.13 cm in the group placebo (n = 20), with mean difference (adjusted for the effect of each patient) of 2.147 cm in VAS (95% CI 1.767 to 2.527, p <0.001). There were also differences between the means of pain when urinating (mean difference = 0.660 95% CI 0.348 to 0.971, p <0.001), and pain when defecating (mean difference = 0.515 95% CI 0.180 to 0.849, p = 0.003). Patients who received melatonin had reduced serum levels of BDNF.

Conclusion: The use of melatonin was associated with reduced pain even outside the menstrual period in women with endometriosis. The treatment also reduced levels of BDNF, suggesting change in pain modulatory systems. These findings suggest that melatonin is effective in the treatment of endometriosis.

KEYWORDS: endometriosis, melatonin, pineal-immune axis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estratégia de busca de referências bibliográficas sobre as bases que fundamentam os objetivos deste estudo.....	16
Figura 2. Desequilíbrio imunoneuroendócrino na endometriose.....	20
Figura 3. Modelo conceitual que incorpora os aspectos da cronopatologia e cronoterapêutica e que fundamenta este estudo.....	22
Figura 4. Mecanismos antinociceptivos da melatonina.....	32

LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO

Figure 1. Flow chart showing recruitment and progress through the study.....	72
Figure 2. Weekly mean pain levels (as assessed by VAS) at baseline week W0 to W8, in the two experimental groups.....	73
Figure 3. Mean serum BDNF levels at baseline week W0 and W8, in the two experimental groups.....	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Modelos de dor, dose de melatonina e efeito	28
Tabela 2. Efeito da melatonina como pré-medicação no controle da dor aguda pós-operatória	34

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO EM INGLÊS

Table 1. Characteristics of the study sample. Values are given as the mean (SD) or frequency.....	75
Table 2. Treatment effect on the outcomes during the treatment period (8 weeks).....	76
Table 3. Multivariate linear regression of the pain reported compared with BDNF level, treatment group and daily pain VAS score.....	77

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- 5-LOX** - 5-lipoxigenase
- AANAT** - aril-alquil-N-acetiltransferase
- AMPC** - adenosina monofosfato cíclico
- BDNF** - fator neurotrófico derivado do cérebro
- CAT** - catalase
- COX-2** - ciclo-oxigenase-2
- EAV** - escala análogo visual de dor
- ERO** - espécies reativas de O₂
- GABA** - *Gamma-AminoButyric Acid*
- GnRH** - hormônio liberador de gonadotrofinas
- IL** - interleucina
- LTP** - potenciação sináptica de longa duração
- MCP** - proteína quimiotática de monócitos
- MDA** - malondialdeído
- NF- κ B** - fator nuclear kappa beta
- NOS** - óxido nítrico sintase
- PKA** - proteína quinase A
- POD** - peroxidação de lipídeos
- SOD** - superóxido desmutase
- TGF- β** - fator de crescimento transformante beta
- TNF- α** - fator de necrose tumoral alfa
- VEGF** - fator de crescimento endotelial vascular

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS DO ARTIGO EM INGLÊS

BDNF - brain-derived neurotrophic factor

CGRP - calcitonin gene-related peptide

CNS - central nervous system

CPP - chronic pelvic pain

EACCP - endometriosis-associated chronic pelvic pain

ELISA - Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay

ER - estrogen receptor

NGF - nerve growth factor

QID - four times per day

STAI - State-Trait Anxiety Inventory

VAS - visual analogue scale

VASQS - visual analog sleep quality scale

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 ESTRATÉGIAS PARA LOCALIZAR E SELECIONAR AS INFORMAÇÕES	16
2.2 ASPECTOS CONCEITUAIS DA ENDOMETRIOSE, FISIOPATOGENIA E DIAGNÓSTICO	17
2.2.1 Teoria imunomediada da endometriose	19
2.2.2 Sistema imune e secreção de melatonina	21
2.3 O SISTEMA MELATONÉRGICO E SEU PAPEL NA NOCICEPÇÃO	23
2.4 ASPECTOS TERAPÊUTICOS DA ENDOMETRIOSE	24
2.4.1 Tratamento medicamentoso	24
2.4.2 Tratamento cirúrgico	25
2.5 MELATONINA COMO AGENTE TERAPÊUTICO	26
2.5.1 Evidências pré-clínicas do efeito antinociceptivo da melatonina	27
2.5.2 Evidências Clínicas do Efeito Analgésico da Melatonina	32
3 MARCO TEÓRICO	35
4 JUSTIFICATIVA	36
5 OBJETIVOS	37
5.1 OBJETIVOS PRIMÁRIOS	37
5.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS	37
6 REFERÊNCIAS	38
7 ARTIGO	51
8 CONCLUSÕES	78
9 PERSPECTIVAS FUTURAS	79

10 ANEXOS	80
ANEXO A - Consentimento livre esclarecido.....	81
ANEXO B - Questionário demográfico.....	82
ANEXO C - Diário de dor.....	84
ANEXO D - Diário de sono e dor.....	85
ANEXO E - Escala de depressão de Hamilton.....	86
ANEXO F - Escala de pensamento catastrófico sobre a dor.....	87
ANEXO G – Questionario saude SF-12.....	88
ANEXO H – Who - Bem estar (versão 1998).....	89

1 INTRODUÇÃO

Endometriose é uma doença crônica de caráter multifatorial, estrogênio-dependente, que afeta mulheres em idade fértil. Foi descrita pela primeira vez por Rokitansky (1869) após observar tecidos semelhantes ao endométrio em material de necropsia. A causa da endometriose permanece desconhecida, mas fatores como hereditariedade, menstruação retrógrada, função imunológica e toxinas ambientais têm sido implicados. O estresse oxidativo tem sido proposto como um fator potencial na fisiopatologia da doença⁽¹⁻³⁾.

É associada à resposta inflamatória generalizada com implantação de tecido endometrial na cavidade peritoneal, constituindo a causa mais comum de dor pélvica crônica em mulheres em idade reprodutiva⁽⁴⁾. Estudos recentes relatam que o fluido peritoneal dessas mulheres encontra-se alterado, contendo um nível elevado de citocinas (proteína quimiotática de monócitos (MPC) -1, Interleucinas), fatores de crescimento (fator de necrose tumoral, fator de crescimento transformante, fator de crescimento endotelial vascular) e radicais livres^(5, 6).

Acomete cerca de 10% da população feminina em idade reprodutiva, sendo que a prevalência pode chegar a 40% em pacientes com infertilidade. Pode cursar com dor pélvica crônica intensa que interfere nas atividades diárias, gerando problemas psicossociais, frustração e isolamento⁽⁷⁻⁹⁾.

Teorias mais recentes têm caracterizado a endometriose como uma doença inflamatória imunomediada. Nesse contexto, agentes com propriedades imunomediadas e anti-inflamatórias, como a melatonina, têm sido utilizados em estudos experimentais. A síntese desse neuro-hormônio cuja secreção ocorre principalmente nos pinealócitos, têm o sistema nervoso simpático como o sistema regulador, e mediadores inflamatórios como a interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), como moduladores. A elevação dessas citocinas pode bloquear a sequência de processos bioquímicos que levam à síntese da melatonina⁽¹⁰⁾. O uso de melatonina exógena pode transpor esses mecanismos que comprometem a função desse eixo. A partir do racional fisiológico e de evidências de estudos com animais, hipotetizamos que a melatonina apresenta perfil farmacológico atrativo para o tratamento da endometriose. Caso esta hipótese confirme a eficácia da melatonina nessa patologia, poder-se-á obter grande avanço no manejo da doença, prevenindo suas nefastas consequências em inúmeras mulheres jovens. Além disto, resulta em expressiva economia aos cofres públicos e redução de prejuízo e sofrimento aos indivíduos e à sociedade.

O presente estudo originou um artigo intitulado *A phase II, randomized, double-blind, placebo controlled trial of melatonin on the treatment of endometriosis*, que será submetido

para apreciação e possível publicação *no Journal of Pain*. A estrutura da apresentação segue as normas do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

2 REVISÃO DA LITERATURA

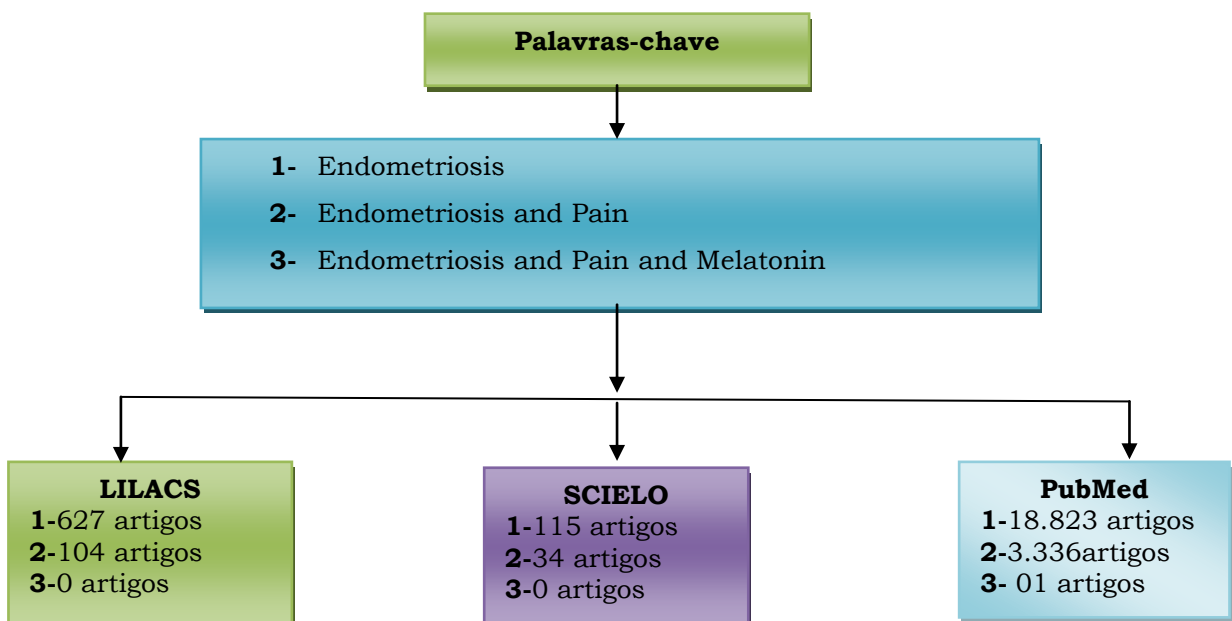
2.1 ESTRATÉGIAS PARA LOCALIZAR E SELECIONAR AS INFORMAÇÕES

Na revisão da literatura, pretende-se apresentar os principais aspectos da fisiopatologia da endometriose e a eficácia da melatonina como agente terapêutico. A estratégia de busca envolveu as seguintes bases de dados: MEDLINE (site PubMed), LILACS e SciELO. Além desses, foi consultado o banco de teses da CAPES. Utilizaram-se artigos com datas de publicação entre 1990 e 2012. As referências bibliográficas dos artigos identificados foram revisadas para localizar outros estudos não contemplados na busca. Também foram utilizados livros-texto e monografias para identificar materiais relevantes.

Nos sites PubMed, LILACS e SciELO foram realizadas buscas através dos termos “*Endometriosis*”, “*Endometriosis and Pain*”, “*Endometriosis and Pain and Melatonin*”. Em relação ao termo “*Endometriosis*” foram encontrados 18.823 artigos no Pubmed, 627 no LILACS e 115 no SciELO. Usando os termos “*Endometriosis and Pain*”, foram localizados 3.336 artigos no Pubmed, 104 no LILACS e 34 no SciELO. Em relação a “*Endometriosis and Pain and Melatonin*” foi encontrado 01 artigo no Pubmed, enquanto no LILACS e no SciELO não foram localizados artigos relacionados.

Para apresentar o tema, foi usada a revisão sistemática esquematizada na figura 1.

Figura 1. Estratégia de busca de referências bibliográficas sobre as bases que fundamentam os objetivos deste estudo



Fonte: Elaborado pela autora (2012)

2.2 ASPECTOS CONCEITUAIS DA ENDOMETRIOSE, FISIOPATOGENIA E DIAGNÓSTICO

Endometriose é uma patologia que afeta mulheres em idade fértil, e se caracteriza pela presença de glândulas endometriais e estroma viáveis fora da cavidade uterina⁽⁴⁾. Os implantes se localizam principalmente nos ovários e nos ligamentos uterossacros⁽¹¹⁾. Estima-se que uma em cada dez mulheres em idade reprodutiva seja afetada pela doença, podendo apresentar dismenorreia, dispareunia, infertilidade, irregularidade menstrual, dor à evacuação, disúria perimenstrual, polaciúria e urgência miccional como manifestações clínicas mais prevalentes^(7, 12).

Em 1927, Sampson propôs a teoria da menstruação retrógrada, segundo a qual tecidos endometriais refluem retrogradamente durante a menstruação pelas trompas para a cavidade pélvica e se implantam nos órgãos pélvicos e superfície peritoneal⁽¹³⁾. Os implantes ocorreriam pela influência de um ambiente hormonal favorável e pela falha dos fatores imunológicos na eliminação dessas células desse local impróprio⁽¹⁴⁾. Apesar de diversas evidências científicas demonstrarem a influência da menstruação retrógrada na endometriose, essa teoria isoladamente não é capaz explicar a etiopatogenia da doença. Outras teorias foram propostas, como a transformação metaplásica ou celômica, a teoria dos restos embrionários, a teoria da metástase linfovascular, ou mesmo a deposição iatrogênica de focos endometrióticos após procedimentos cirúrgicos⁽¹⁻³⁾.

Segundo a teoria da metaplasia celômica, células mesoteliais totipotenciais sofreriam transformação originando tecido endometriótico, o que poderia explicar a endometriose em órgãos distantes como o pulmão⁽⁸⁾. Essa teoria, porém, apresenta dificuldades de explicar como as células sofreriam essa transformação capaz de gerar tecido viável⁽⁸⁾. A teoria dos restos embrionários propõe que remanescentes dos ductos müllerianos se transformam em focos de tecido endometriótico por influência de mediadores inflamatórios ou por uma ação permissiva do sistema imune⁽¹⁵⁾. De acordo com a teoria da metástase linfovascular, células endometriais viáveis são enviadas através da circulação linfática ou sanguínea a sítios distantes onde se desenvolvem focos de endometriose⁽¹³⁾. Recentemente, pesquisas comprovaram a presença de células-tronco endometriais ativas em focos endometriais⁽⁷⁾ e alterações no ambiente peritoneal, mais precisamente no fluido peritoneal (FP) e/ou líquido peritoneal, que é um líquido claro, estéril e viscoso produzido sob a forma de ultrafiltrado do plasma, contendo células do sistema imunológico que têm a função de lubrificar a cavidade

abdominal, seu volume oscila entre 05 a 20 ml em condições fisiológicas⁽⁶⁾, que podem estar associadas ao desenvolvimento da doença.

Diversos autores dedicam-se atualmente ao estudo da teoria que integra a ativação dos sistemas imuno e endócrino, tendo a reação inflamatória como alvo para explicar os eventos em cascata que constituem a endometriose. Integra esse processo o estresse oxidativo, constituído por uma cascata de eventos potencialmente envolvidos na fisiopatologia da endometriose⁽¹⁶⁾. Dentre os fatores desencadeantes do estresse oxidativo incluem-se eritrócitos, células endometriais apoptóticas e células endometriais do fluxo menstrual, não digeridas⁽¹⁷⁾. Células que desencadeiam a reação inflamatória como os macrófagos induzem o estresse oxidativo, a formação de peróxido de lipídeos e outros produtos resultantes da interação de apolipoproteínas e peróxidos. As principais espécies reativas de oxigênio que devem ser consideradas são o ânion superóxido, o qual é predominantemente gerado pela mitocôndria; o peróxido de hidrogênio, produzido a partir do oxigênio (O₂) pela ação da superóxido desmutase; e o peroxidonitrito, formado quando o O₂ se liga com o óxido nítrico. Essas espécies reativas de O₂ continuamente produzidas são degradadas pelas enzimas superóxido desmutase e catalase. Em algumas circunstâncias, essas defesas antioxidantes endógenas podem ser prejudicadas pela produção de radicais de O₂ em excesso e inativação de sistemas de desintoxicação, assim como pelo consumo de antioxidantes e falhas na depleção tecidual de radicais livres de O₂. Diferentes estudos indicam que defesas antioxidantes podem estar alteradas na endometriose, como sugerido na expressão aberrante de enzimas endometriais e baixos níveis de vitamina E no fluido peritoneal⁽¹⁸⁾.

A expressão alterada de enzimas antioxidantes pode se constituir em uma futura evidência para o estresse oxidativo pronunciado na endometriose. Níveis desses índices endógenos de estresse oxidativo vêm sendo observadas no FP de mulheres inférteis⁽¹⁹⁾.

Numerosos estudos demonstraram que as espécies reativas de O₂ estão diretamente envolvidas nas lesões oxidativas de macromoléculas celulares como lipídios, proteínas e ácido nucleico em diversos tecidos. O malondialdeído é o produto da degradação das grandes reações em cadeia que resultam na oxidação de ácidos graxos poli-insaturados e, portanto, serve como um marcador confiável da peroxidação de lipídios mediada por estresse oxidativo.

⁽²⁰⁾ Essa cadeia de reações é responsável pela endometriose.

Apesar de diversas pesquisas identificarem alterações celulares na endometriose, ainda não foi encontrado um método laboratorial que seja determinante na sua identificação. O diagnóstico da endometriose não pode ser firmado apenas por sintomas clínicos. O exame físico possui limitada capacidade diagnóstica em endometriose superficial; os casos de

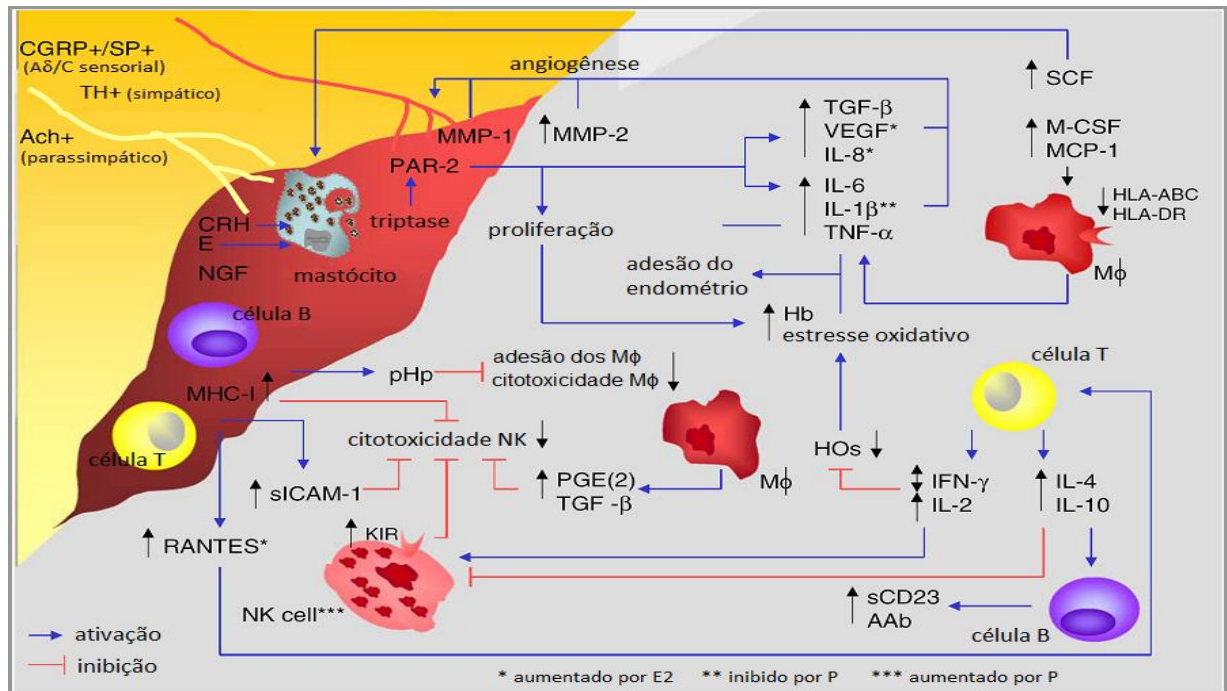
endometrioma ou endometriose profunda há maior chance de apresentar sinais clínicos, os quais, porém, são ainda limitados⁽²¹⁾. Os exames de imagem têm demonstrado avanços na avaliação da endometriose e, embora não sejam suficientes para o diagnóstico definitivo, são úteis para auxiliar no diagnóstico diferencial. O diagnóstico definitivo ainda depende de métodos invasivos, como a videolaparoscopia, pela visualização das lesões sugestivas da doença e a obtenção de amostra tecidual que confirme, por análise histológica, essa suspeita.

2.2.1 Teoria imunomediada da endometriose

Vários autores, como Rajaratnam (2001)⁽²²⁾ e Podgaec (2006)⁽¹²⁾ se dedicaram ao estudo da participação do papel do sistema imunológico na endometriose, tendo identificado uma série de alterações. Esses estudos caracterizam a endometriose como um processo pélvico inflamatório local correlacionado com alterações imunes que podem incluir falhas de vigilância imunológica adequada no peritônio.

Nas mulheres com endometriose, o volume do FP encontra-se aumentado e seu conteúdo difere significativamente daquele encontrado em mulheres sadias, incluindo a presença de macrófagos ativados, maior produção de citocinas e diminuição da atividade fagocítica. Fatores de crescimento e fatores angiogênicos também se encontram aumentados no FP dessas pacientes, derivando das próprias lesões, da secreção de macrófagos ou ainda de outras células do sistema imunológico^(23, 24). Foram descritas também alterações em linfócitos B e elevação das concentrações peritoneais das interleucinas IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 e fator de necrose tumoral (TNF- α)^(24, 25). Os mecanismos imunoinflamatórios da endometriose estão apresentados na figura 2.

Figura 2. Desequilíbrio imunoneuroendócrino na endometriose



Autoanticorpos (AAb), Acetilcolina (Ach), Peptídeo relacionado a gene da calcitonina (CGRP), Hormônio liberador de Corticotrofina (CRH), Estrógenos (E), Estradiol (E2), Hemoglobina (Hb), Hemeoxigenases (HO), Interleucina (IL), Antígeno Leucocitário Humano (HLA), Interferon- γ (IFN- γ), Receptor Inibitório de Células Killer (KIR), Fator Estimulador de Colônias de Macrófagos (M-CSF), Proteína Quimiotática de Monócitos - 1 (MCP-1), Principal complexo de Histocompatibilidade Classe-I (MHC-I), Matriz Metaloproteinase (MMP), Fator de Crescimento Nervoso (NGF), Natural killer (NK), Progesterona (P), Receptor de Protease Ativada-2 (PAR-2), Prostaglandina E (2) (PGE (2)), Haptoglobina Peritoneal (pHp), Regulada ativação normal sobre a expressão e secreção de células T (RANTES), CD23 solúvel (sCD23), Fator de origem celular (SCF), Molécula solúvel de adesão intercelular-1 (sICAM-1), Substância P (SP), Transformação do fator de crescimento- β (TGF- β), Tirosina hidroxilase (TH), Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α), Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF). Elevados níveis na endometriose de M-CSF, MCP-1, RANTES, e SCF no fluido peritoneal poderiam levar ao aumento dos números de macrófagos, células T, e de mastócitos. Embora os marcadores de apresentação de antígeno nos macrófagos como HLA-ABC e HLA-DR estejam diminuídos na endometriose, mediadores derivados de macrófagos como IL-6, IL-1 β , TNF- α , TGF- β , VEGF, e IL-8 estão aumentados no fluido peritoneal, juntamente com MMP-1 e MMP-2, levando à estimulação da angiogênese. IL-6, IL-1 β , e TNF- α sustentam a adesão das células endometriais no peritônio, e o TNF- α estimula a proliferação do tecido ectópico, resultando em altos níveis de Hb. IL-2 e IFN- γ derivadas de células T diminuem o HO, levando a um estresse oxidativo e, em níveis suficientes, aumentam a atividade da célula NK. IFN- γ tem sido inconsistentemente descrito como aumentado ou diminuído. O aumento de IL-4 e IL-10, derivados das células T, inibem a imunidade celular e estimula células B a produzirem AAb. sCD23 é aumentada no fluido peritoneal na endometriose e pode derivar de células B ativadas. Os Linfócitos estão aumentados no fluido peritoneal e estão abundantemente presentes no tecido ectópico. A diminuição da citotoxicidade da célula NK pode ser devida ao aumento de Citocinas T anti-inflamatórias, aumento dos KIR, elevados níveis de PGE (2) e TGF- β derivados de macrófagos, elevada expressão de MHC-I nas células ectópicas, e altos níveis de sICAM-1 no fluido peritoneal. Foram demonstradas que fibras nervosas encontradas dentro de lesões são positivas para CGRP, SP, TH, Ach, NGF e CRH. Os CRH acumulados podem liberar mastócitos triptase, ativando PAR-2, que levam ao aumento da secreção de VEGF, IL-8, IL-6 e proliferação de tecido ectópico. A expressão de pHp pelo tecido ectópico diminui a aderência e citotoxicidade de macrófagos peritoneais na fase 3 e 4. Novos E2 aumentam RANTES, IL-8, e VEGF, enquanto P inibe a secreção de IL-1 β , macrófagos peritoneais e aumenta o número de células NK.

Fonte: Adaptado de Tariverdian⁽²⁵⁾.

Além dos mediadores inflamatórios apresentados na figura 2, existem evidências incipientes de que a endometriose e outros processos patológicos que cursam com estresse e dor crônica podem apresentar a expressão de marcadores de insulto ao sistema nervoso central, como o BDNF neurotrofina que regula a integridade e diferenciação dos neurônios durante o desenvolvimento, mas que também está envolvida em várias outras funções durante a vida adulta, incluindo o processo de plasticidade neuronal, funcionando como um mecanismo adaptativo essencial ao processo de potenciação sináptica de longa duração (LTP)⁽²⁶⁾ e no mecanismo de neuroplasticidade essencial para desencadear e sustentar o processo de memória de dor. O aumento de BDNF incrementa a LTP, enquanto a redução de seus níveis a atenua⁽²⁷⁻²⁹⁾. Além disto, o BDNF têm efeitos difusos no sistema de neurotransmissão monoaminérgica. Ele promove *sprouting* dos neurônios serotoninérgicos maduros, aumentando a atividade serotoninérgica central que se segue à infusão deste, modulando a ativação dos neurônios do núcleo dorsal da rafe e a função transportadora serotoninérgica.⁽²⁹⁾ Fica evidente que o estabelecimento da dor crônica cursa com sensibilização central, envolvendo uma série de adaptações de médio e longo prazo que levam à alteração hormonal e da neurotransmissão. Embora o completo entendimento da fisiopatogenia dos processos dolorosos não esteja esclarecido, não cabe aqui neste contexto sua discussão. No entanto, é de ressaltar que os processos dolorosos crônicos dependem de um processo em cadeia de longo prazo, e a mesma via muito provavelmente é seguida quando do tratamento farmacológico ou não farmacológico. Logo, o BDNF poderia ser um marcador desse processo.

2.2.2 Sistema imune e secreção de melatonina

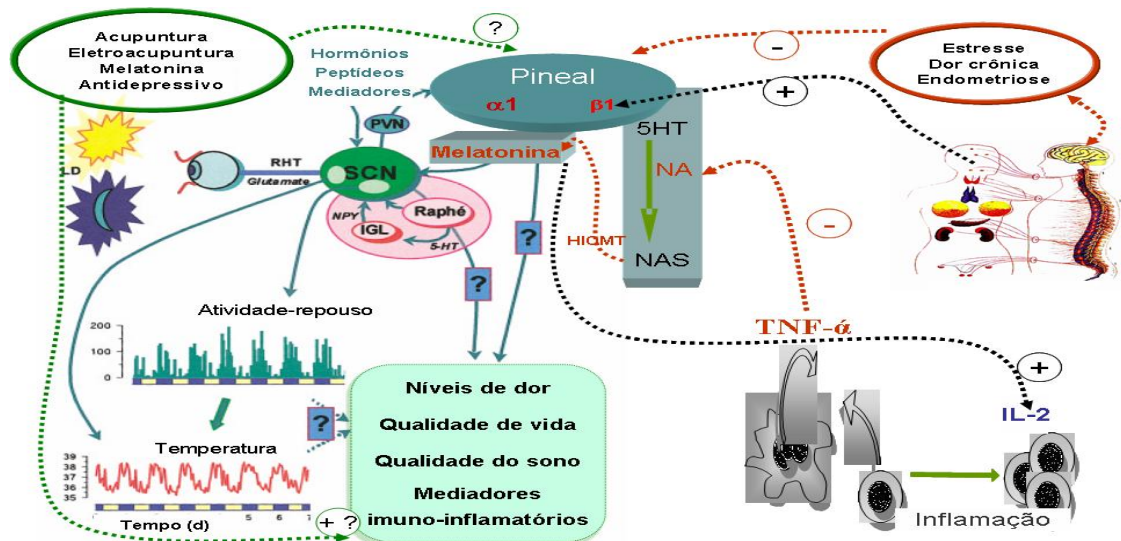
Considerando que endometriose é uma doença inflamatória imunomediada, pode-se hipotetizar que esteja relacionada à desregulação do sistema temporizador endógeno, cujo principal marcador é a melatonina, neuro-hormônio produzido pela glândula pineal, que recebe informações do ciclo claro-escuro ambiental através da via neural retino-hipotalâmica. Uma via polissináptica, que liga o relógio interno à pineal, é responsável pela produção de melatonina na fase de escuro. Como a inervação da pineal é feita pela via simpática, o desencadeamento da via de transdução AMPc - proteína quinase A (PKA) é decorrente da estimulação de adrenoreceptores β_1 . Portanto, a concentração de melatonina plasmática reflete diretamente a produção de melatonina pela glândula pineal^(30, 31). A síntese deste neuro-hormônio ocorre a partir da acetilação da serotonina pela ação da enzima aril-alquil-N-

acetiltransferase (AA-NAT), que é ativada pela noradrenalina. Então, o pico noturno de melatonina é a real expressão da atividade pineal, ou seja, da atividade simpática.

Em camundongos em condições de inflamação crônica, a produção noturna de melatonina pela pineal depende de uma ação conjunta da atividade simpática, que está aumentada no escuro, e dos níveis de corticosterona circulante, aumentados pelo processo inflamatório. Então é licito considerar que a pineal tenha capacidade de responder a citocinas pró-inflamatórias circulantes. A inibição dessa via de transcrição por corticosterona potencializa, enquanto que a ativação induzida por TNF- α inibe a produção de melatonina induzida por noradrenalina em pineais de rato em cultura⁽³²⁾. Logo, embora o comando de secreção de melatonina seja governado pelo sistema nervoso simpático, mediadores inflamatórios como a IL-1 e TNF- α podem bloquear a ação do sistema simpático, o que já foi demonstrado em estudos com camundongos e em alguns estudos com modelo de inflamação em humanos⁽³²⁾.

É possível, então, cogitar-se que os mecanismos neuroimunoinflamatórios que medeiam a fisiopatogenia da inflamação desregulem o eixo imunopineal e estejam relacionados ao processo de dor crônica na endometriose. A hipótese encontra plausibilidade de acordo com as conexões apresentadas no modelo da figura 3.

Figura 3. Modelo conceitual que incorpora os aspectos da cronopatologia e cronoterapêutica e que fundamenta esse estudo



Fonte: Caumo⁽³³⁾

2.3 O SISTEMA MELATONÉRGICO E SEU PAPEL NA NOCICEPÇÃO

A lesão tecidual ativa processos neurológicos, autonômicos e imunológicos interdependentes que operam de maneira integrada, comunicando-se dinamicamente através de mediadores químicos que permitem a organização de uma resposta conjunta contra o estímulo estressor^(33, 34). Os principais mediadores envolvidos nesse processo são neurotransmissores, peptídios, endocanabinoides, citocinas e hormônios, que podem exercer ações inibitórias ou excitatórias, pró ou anti-inflamatórias dependendo do contexto, ou ainda desempenhando ações de natureza pleiotrópica. Uma das substâncias que participam da conectividade entre esses vários sistemas é a melatonina (N-acetyl-5-methoxytryptamina)⁽³⁵⁾.

A melatonina é um hormônio pertencente ao grupo das indolaminas, sendo secretada primariamente pela glândula pineal. Apresenta ritmo secretório circadiano endógeno e atua na regulação de diversos processos fisiológicos como ciclo sono-vigília⁽³⁶⁾, funções cardiovasculares⁽³⁷⁾, reprodutivas⁽³⁸⁾, neuroendócrinas e imunes^(40, 39). Sua secreção sofre regulação pelo sistema nervoso simpático e coordena ritmos biológicos em múltiplos níveis, também participando da regulação da expressão de genes como a pró-opiomelanocortina. Quando produzida, a melatonina não sofre armazenamento, difundindo-se livremente através de todas as membranas biológicas e agindo em praticamente todas as células do organismo.⁽⁴⁰⁾ Algumas ações são mediadas por receptores de membrana (MT1 e MT2) acoplados à proteína G⁽⁴⁰⁾, enquanto outras são proteína G independentes, através da ligação a receptores hormonais nucleares associados à diferenciação celular e através da regulação da resposta imune⁽⁴¹⁾. Seus receptores são amplamente distribuídos em nível medular e cerebral, sendo sua atividade ligada a diversas vias de neurotransmissão, incluindo as vias opioide, gabaérgica e serotoninérgica⁽⁴²⁾.

Inúmeros sítios extrapineais, incluindo a medula espinhal, também sintetizam melatonina e indicam que esse hormônio pode ter ação parácrina, além de sua ação endócrina⁽⁴³⁾. Além disso, a ampla distribuição de receptores no sistema nervoso central e em estruturas envolvidas na transmissão nociceptiva, como as lâminas I-V e X da medula espinhal⁽⁴⁴⁾, suportam o envolvimento complexo, predominantemente inibitório da melatonina no sistema nociceptivo^(45, 46). Adicionalmente, sua natureza altamente lipossolúvel permite que ela facilmente se difunda através da barreira hematoencefálica. Portanto, é provável que exerça seu efeito modulatório sobre a nocicepção através de mecanismo central e periférico, dependendo da quantidade de substrato disponível ou administrado.

2.4 ASPECTOS TERAPÊUTICOS DA ENDOMETRIOSE

O principal objetivo do tratamento é a melhora dos sintomas, considerando-se evitar aumento ou progressão da doença apenas como objetivos secundários, uma vez que, apesar de ser considerada uma doença progressiva, a endometriose pode permanecer estável ou ainda regredir espontaneamente⁽⁴⁷⁾. Por seu caráter crônico, com uma história de longa duração com momentos de exacerbações, geralmente múltiplos tratamentos podem ser necessários para o controle sintomático da doença.

Alguns trabalhos demonstraram que a ressecção ou a ablação laparoscópica de lesões de endometriose mínima ou leve podem aumentar a taxa de fertilidade das pacientes.⁽⁴⁸⁾ Outros verificaram que pacientes inférteis portadoras de endometriose profunda e submetidas à cirurgia conservadora apresentaram melhores taxas de gestação quando tratadas com técnicas de reprodução assistida⁽⁴⁹⁾. A fertilização *in vitro* parece ser uma abordagem adequada, especialmente nos casos de coexistência de fatores de infertilidade e/ou falha de outras abordagens terapêuticas. Assim, se a paciente deseja engravidar, pode-se discutir a possibilidade de tratamento cirúrgico o mais conservador possível e encaminhá-la para tratamento com técnicas de reprodução assistida. A realização de tratamento medicamentoso supressivo não melhora a fertilidade, apenas retardando a possibilidade de gravidez⁽⁷⁾.

No caso de diagnóstico incidental de endometriose em pacientes assintomáticas, até o momento não existem evidências de necessidade de realização de tratamento, seja cirúrgico ou medicamentoso, com vistas a evitar o surgimento de sintomas ou progressão da doença.

As evidências existentes até o momento não permitem concluir se há vantagem da utilização de um ou de outro, ou qual deve ser realizado primeiro em pacientes sintomáticas, com taxas de sucesso e de recorrência semelhantes. Desta forma, o tratamento deve ser particularizado, levando em consideração fatores como extensão da doença, paridade, desejo de engravidar e aceitação dos possíveis efeitos adversos ou complicações do método⁽⁷⁾.

2.4.1 Tratamento medicamentoso

Como o tecido endometriótico apresenta resposta hormonal e como os sintomas da endometriose melhoram na gestação e menopausa, os tratamentos medicamentosos visam simular essas situações. As opções mais utilizadas atualmente procuram provocar um período com ausência de menstruação: simulação de uma menopausa (análogos do GnRH), de uma amenorreia (gestrinona, danazol) ou de uma gestação (anticoncepcional oral e progestógenos).

Todos os tratamentos são não invasivos, mas impedem a concepção durante o período em que estiverem sendo usados, aspecto claramente desvantajoso para a mulher que quer engravidar, sendo um ponto que deve ser discutido com a paciente antes da prescrição. As diversas opções terapêuticas apresentam eficácia semelhante, porém perfil de efeitos adversos bastante diferente. Poucos estudos realizaram a comparação entre as medicações, sendo que a maioria das comparações é com placebo, mas nenhuma medicação até o momento comprovou ser superior às outras. Sendo assim, a escolha deve ser realizada através da avaliação de custo-benefício⁽⁵⁰⁾.

Não deve ser deixado de lado nessas pacientes o uso de medicamentos analgésicos. Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) são uma ótima opção terapêutica para as pacientes com endometriose. Trabalhos demonstraram que os AINEs foram mais efetivos do que o paracetamol no manejo da dismenorreia. Todos os AINEs parecem apresentar efeito similar, sendo os mais estudados em ginecologia ibuprofeno, naproxeno e ácido mefenâmico. Existem medidas que possivelmente podem ser efetivas para pacientes com dor pélvica, como: acupuntura, medidas comportamentais (atividade física, dieta rica em Omega-3) e aplicação de calor tópico⁽⁷⁾.

2.4.2 Tratamento cirúrgico

A endometriose pode ser classificada em três tipos: I) peritoneal, caracterizada por implantes superficiais no peritônio; II) ovariana, que inclui os implantes superficiais de ovário e os endometriomas; e III) profunda, acometendo de forma infiltrativa as regiões retrocervical, paracervical, septo retovaginal, retossigmoide, ureteres e bexiga, com lesões de mais de 5mm de profundidade⁽¹²⁾.

A melhora da dor após o tratamento cirúrgico ocorre em 50% a 95% das pacientes. Estudos randomizados demonstraram melhora da dor em 62,5% das pacientes em comparação com 22,5% dos controles, sendo que a melhora foi maior com doença moderada/leve, em relação às com endometriose mínima⁽⁴⁷⁾. O seguimento em um ano demonstrou uma taxa de recorrência de 44%. Esses dados suportam que o tratamento laparoscópico da endometriose visível melhora a dor, sustentando o tratamento já no momento do diagnóstico. Nessas pacientes, o tratamento cirúrgico consiste de cauterização dos focos de endometriose associada à lise de aderências, procurando restabelecer a anatomia normal da pelve. Não há estudos comparando as formas de cauterização (laser, monopolar, bipolar, etc.) e a escolha recai sobre as vantagens e desvantagens de cada método⁽⁷⁾.

As pacientes com endometriomas devem ser tratadas cirurgicamente. A terapia medicamentosa pode levar à redução temporária do tamanho do cisto, mas não consegue eliminá-lo. Entre as opções mais conservadoras estão drenagem do cisto e drenagem associada à cauterização da cápsula do endometrioma, e a opção mais agressiva é a da cistectomia. A cistectomia apresenta melhores taxas de sucesso com menor incidência de recorrência e melhora da dismenorreia, dispareunia profunda e dor não menstrual de forma mais efetiva do que a drenagem/coagulação. A simples drenagem está associada com alta taxa de recidiva. Em pacientes inférteis, o manejo do endometrioma é ainda mais controverso. Os tratamentos mais agressivos (cistectomia) estão associados com maior dano ao parênquima ovariano, podendo alterar a reserva ovariana de uma paciente que já possui baixas taxas de fecundidade⁽²¹⁾. Nesses casos, pode-se discutir a possibilidade de um tratamento mais conservador, sabendo-se da possibilidade de aumento da chance de recorrência do endometrioma. O uso de anticoncepção oral após o procedimento cirúrgico foi associado com menor taxa de recidivas em 1 ano⁽⁵¹⁾.

A histerectomia total associada à anexectomia bilateral é reservada a pacientes com doença extensa e que não desejam mais ter filhos. As taxas de recorrência de dor da histerectomia isolada, sem anexectomia bilateral, são maiores do que as do procedimento completo⁽⁵²⁾.

No caso de endometriose profunda, o tratamento proposto é a ressecção das lesões, podendo ser realizada por laparoscopia ou laparotomia, com melhores taxas de sucesso do que o tratamento medicamentoso⁽⁷⁾.

2.5 MELATONINA COMO AGENTE TERAPÊUTICO

A melatonina apresenta efeitos analgésico, anti-inflamatório e antioxidante. Evidências incipientes mostram que a melatonina inibe a produção de moléculas responsáveis pela adesão leucocitária às células endoteliais^(53, 54). Outro mecanismo de ação da melatonina é seu efeito inibitório sobre a produção de prostaglandinas, mediado pela supressão da cicloxigenase do tipo-2 (COX-2) em tecidos inflamados⁽⁵⁵⁾.

Produtos da secreção de macrófagos como IL-1, TNF- α e fatores de crescimento podem ser também encontrados em concentrações elevadas no FP de mulheres com endometriose.⁽⁵⁶⁾ Sobre esse ponto de vista, novos agentes capazes de inibir o TNF- α podem ser eficazes na eliminação da endometriose. Isto é claramente suportado pelos achados

histológicos, imuno-histoquímicos e bioquímicos evidenciando mudanças morfológicas degenerativas com o tratamento por melatonina em estudo com animais^(1, 57).

A melatonina reduz a destruição tecidual durante as reações inflamatórias por meio de diferentes mecanismos, e tem se mostrado também um potente antioxidante e um varredor de radicais livres, protegendo o organismo contra uma grande quantidade de espécies reativas de O₂, tanto em modelos de estresse oxidativo *in vivo* quanto *in vitro*⁽⁵⁸⁾.

A melatonina pode ser considerada uma opção atrativa no tratamento de condições que cursam com ruptura do sistema sincronizador endógeno, associadas com dor, inflamação e alterações do ritmo sono-vigília. Isto se justifica por sua ação pleiotrópica que inclui funções cronobióticas, analgésicas e anti-inflamatórias. Tais efeitos foram demonstrados na dor aguda em humanos e em modelos de dor experimental com animais^(59, 60). Os possíveis mecanismos pelos quais a melatonina pode interferir no processo inflamatório e algogênico incluem i) inibição da produção de óxido nítrico e redução da expressão da enzima óxido nítrico-sintetase; ii) ativação do fator de transcrição NF-κB; iii) redução da expressão do óxido nítrico-sintetase a nível transcricional; iv) redução dos níveis de prostaglandinas e da expressão da ciclooxigenase-2; e v) redução do recrutamento de polimorfonucleares no sítio inflamado⁽⁶¹⁾. O efeito analgésico é provavelmente secundário a ação anti-inflamatória e por sua ação em receptores específicos do tipo M1 e M2⁽⁶⁰⁾. Nos poucos estudos em humanos, foram utilizadas doses que variam de 3 –10 mg⁽⁶²⁾. Os efeitos da melatonina como agente terapêutico podem ser resumidos da seguinte forma:

- a) analgésico, anti-inflamatório, cronobiótico e antidepressivo em animais;
- b) antioxidante;
- c) cronobiótico, hipnótico e ansiolítico em humanos;
- d) coanalgésico em dor aguda e sintomas fibromiálgicos.

2.5.1 Evidências pré-clínicas do efeito antinociceptivo da melatonina

A associação entre dor e melatonina foi inicialmente relatada em um ensaio experimental por Morris et al. em 1969⁽⁶³⁾, seguido por outros estudos que demonstraram que durante o escuro, em vigência de elevados níveis de melatonina, os animais são menos sensíveis a estímulos nociceptivos e mais suscetíveis aos efeitos da morfina^(64, 65). Já o efeito antinociceptivo da melatonina exógena intraperitoneal em ratos foi descrito pela primeira vez em 1981, por Lakin⁽⁶⁶⁾, que demonstrou também o bloqueio do efeito analgésico pela naloxona, sugerindo o envolvimento do sistema opioide na sua ação. Desde então, o efeito

antinociceptivo da melatonina tem sido demonstrado através de inúmeros modelos experimentais em camundongos e ratos, os quais reforçam a multiplicidade de mecanismos que podem estar envolvidos na sua ação. Os principais estudos com administração central ou periférica de doses supra-fisiológicas de melatonina ou análogos em modelos animais de dor aguda, inflamatória e neuropática e seus respectivos resultados estão resumidos na tabela 1.

Tabela 1. Modelos de dor, dose de melatonina e efeito

Animal	Modelo de dor	Dose e via de administração	Efeito na dor	Outros efeitos	Ref
Rato	Hiperálgia visceral	Melatonina 30,45, 60 mg/kg i.p.	Reduz resposta visceromotoria a distensão colorretal na dose maior. Ausência de efeito em ratos com lesão espinal (efeito suprassegmentar)	Luzindole e naltrexona bloqueiam o efeito da melatonina na resposta visceromotoria e no plexo lombossacral. (envolvimento do sistema opioide)	(67)
Rato	Teste da formalina	Melatonina 30 µg i.c.v	Reduz a resposta à dor aguda	Antagonista alfa-1, alfa-2, nicotínico e muscarínico revertem o efeito analgésico	(68)
Rato	Hiperálgia plantar	Melatonina 25,50, 100 mg/kg i.p.	Reduz hiperálgia induzida por peroxinitrito	Efeito modulatório sobre a COX, redução da inflamação	(69)
Rato	Hiperálgia e alodinia (constricção ciático)	Melatonina 30,60, 120 mg/kg i.p.	Reduz hiperálgia na dose 120 mg/kg	Melatonina combinada com dextrometorfan reduziu hiperálgia e alodinia	(70)
Rato	Teste da formalina	Melatonina i.c.v	Antinociceção, efeito aditivo entre melatonina, clonidina e neostigmina	Efeito antagonizado por luzindole e prazosin	(71)
Rato	Alodinia mecânica após ligação nervo	Melatonina 37.5–300 mg/kg v.o. Melatonina, 3–100µg i.c.v.	Efeito antialodinia dose dependente	Antagonizado por luzindole i.c.v ou oral ou 4-P-PDOT intratecal	(72)
Rato	Teste da formalina	Melatonina 10–300 mg/kg VO	Efeito antialodinia e antinociceptivo com dose 150 mg/kg ou mais	Efeito antagonizado por antagonista MT2 em ratos diabéticos	(73)
Camundongo	Nociceção induzida por capsaicina e glutamato	Melatonina 10–100 mg/kg i.p Melatonina 100–500 pmol i.c.v	Antinociceção dose dependente nos testes de capsaicina e glutamato	Antinociceção central e periférica inibida por antagonistas opioide, serotoninérgico, dopaminérgico, adrenérgico e L-arginina NO	(74)

Animal	Modelo de dor	Dose e via de administração	Efeito na dor	Outros efeitos	Ref
Rato	<i>Tail-flick</i>	Melatonina 1, 5, 25 mg/kg i.p. ou 0.25, 0.5, 1 mg/kg i.c.v.	Aumento de antinocicepção induzida por agonista delta	Ausência de efeito sinérgico com agonista opioide de receptores mu	(75)
Rato	Atividade eletromiográfica no reflexo de retirada (<i>wind-up</i>)	Melatonina 10,30 e 90 µg i.t.	Depressão da potencialização sináptica em nível medular (<i>wind-up</i>)	Efeito bloqueado por luzindole (antagonista MT2) e interferência na transmissão glutamatérgica) medular	(45)
Rato	Hiperálgia mecânica e térmica (<i>Von-Frey</i> e placa quente)	Melatonin i.t. 10-100 nmol.	Prova da presença de transcritores para os receptores MT1 e MT2 em nível espinal	Melatonina espinal aumentou o efeito antinociceptivo da morfina, mas sozinha não inibiu hiperálgia	(76)
Rato	limiar de retirada da pata/vocalização após estímulo com pressão.	Melatonina 257 mg/kg, ou tiopental 20 mg/kg, propofol mg/kg, ou veículo	Efeito antinociceptivo significativo	Melatonina teve efeito hipnótico similar a propofol e tiopental	(77)
Camundongo	Placa quente	Melatonina 20-40 mg i.p.	Efeito antinociceptivo máximo à noite e em 30 min após injeção	Efeito revertido com flumazenil e naloxona	(78)
Camundongo	Placa quente	Melatonina 25 mg/kg i.p.	Aumentou do limiar nociceptivo durante o dia	Efeito revertido com naloxona e campo magnético	(79)
Rato	Modelo de dor nociceptiva e inflamatória induzida por carragamento	Melatonina 0,5 e 1,0 mg/kg i.p.	Aumento do limiar nociceptivo	Aumento do efeito anti-inflamatório da indometacina	(59)
Camundongo	Placa quente	Melatonina 30,60, 90 mg/kg	Antinocicepção dose dependente	Bloqueado por naloxona i.p.	(66)
Rato	<i>Tail-flick</i> e teste plantar	Melatonina 1,5,10,30 e 60 mg/kg i.p.	Efeito antinociceptivo em ambos os testes com doses mais altas	Inibição da produção de radicais livres pelo efeito doloroso	(80)
Camundongo	<i>Tail-flick</i>	Melatonina 1,5,25 mg/kg in i.p.	Aumento da nocicepção mediada por agonistas dos receptores opioides delta e não um	Efeito antagonizada com luzindole i.c.v.	(81)
Camundongo	Placa quente, estímulo elétrico caudal	Melatonina, 50-200 mg/kg, i.p.	Antinocicepção	Pré-tratamento com 5mg/kg potencializou efeito da meperidina e morfina	(82)

Animal	Modelo de dor	Dose e via de administração	Efeito na dor	Outros efeitos	Ref
Camundongo	Placa quente ou <i>tailflick</i>	Melatonina, 40 a 160 mg/kg, i.p. 0,25 mg/kg i.c.v	Antinocicepção dosedependente	Bloqueado por naloxona i.p. Atenuado por reserpina ou fentolamina i.p.	(83)
Camundongo	Teste da formalina	0,1; 5 e 20 mg/kg i.p.	Ausência de efeito antinociceptivo	Melatonina aumentou antinocicepção induzida por diazepam e morfina i.p.	(84)
Camundongo	Teste da formalina	25, 50 or 100 mg/kg	Efeito antinociceptivo dosedendente	Resultados alterados por antagonistas alfa-1 adrenérgicos e serotoninérgico	(85)
Ratos	Nocicepção Mecânica	2-bromomelatonina 10µg/µl intratecal	Nocicepção mecânica tempodependente	Antagonizado por naloxona ou luzindole intratecal	(86)

i.c.v - intra-cérebro ventricular; i.p .- intraperitoneal; i.t. - intratecal.

Fonte: Adaptado de Stefani⁽³⁵⁾

Os modelos experimentais apresentados indicam que a atividade antinociceptiva da melatonina é mediada por múltiplos sistemas de neurotransmissão, e que essa atividade tem ação dosedependente^(69, 83, 85, 86). Para demonstrar que um sistema de neurotransmissão está envolvido em determinado efeito de outro sistema, o bloqueio do sistema neurotransmissor em questão deve modificar significativamente o efeito da melatonina. Adicionalmente o mesmo sistema deve sofrer alterações dinâmicas devido à administração exógena de melatonina. No entanto, isso não implica necessariamente que o sistema neurotransmissor seja uma parte integrante da sequência de eventos desencadeados, mas indica uma ligação entre os sistemas e os desfechos analisados⁽⁸⁷⁾. Esse tipo de relação é que se pode identificar a partir dos inúmeros sistemas envolvidos na ação analgésica da melatonina, dentre os sistemas testados e relacionados, encontram-se principalmente o opioide e o gabaérgico⁽³⁵⁾.

A ativação de receptores MT1 e MT2 é um dos mecanismos pelo qual se acredita que a melatonina exerça seu papel analgésico^(72, 83, 88). Esses receptores são ligados à proteína G e, quando ativados, levam à redução na concentração de AMPc e modificação da função dos canais iônicos de cálcio e potássio, ação intracelular compartilhada pelos opioides e receptores *Gamma-AminoButyric Acid* (GABA) B^(89, 90). Foi demonstrado *in vitro* que a melatonina ativa canais de potássio acoplados à proteína G e inibe o potencial de ação neuronal^(91, 92), além de inibir canais de cálcio voltagemdependentes^(93, 94), os quais são associados à dor neuropática e à sensibilização neuronal.

A relevante relação entre o sistema opioide e o melatonérgico não está completamente elucidada. Sugeriu-se um mecanismo de *feedback* entre o sistema opioide endógeno e a

melatonina em humanos⁽⁴⁴⁾ e em animais, visto que a naloxona diminui o efeito antinociceptivo da melatonina em vários paradigmas experimentais^(78, 79), e que a injeção de agonista opioide aumenta os níveis de melatonina na glândula pineal de ratos⁽⁹⁵⁾. No entanto⁽⁹⁶⁾, foi demonstrado que não há afinidade direta entre agonistas melatonérgicos e receptores de opioides, e que o efeito sinérgico entre os sistemas se deve ao aumento de liberação endógena de endorfinas⁽⁹⁷⁾.

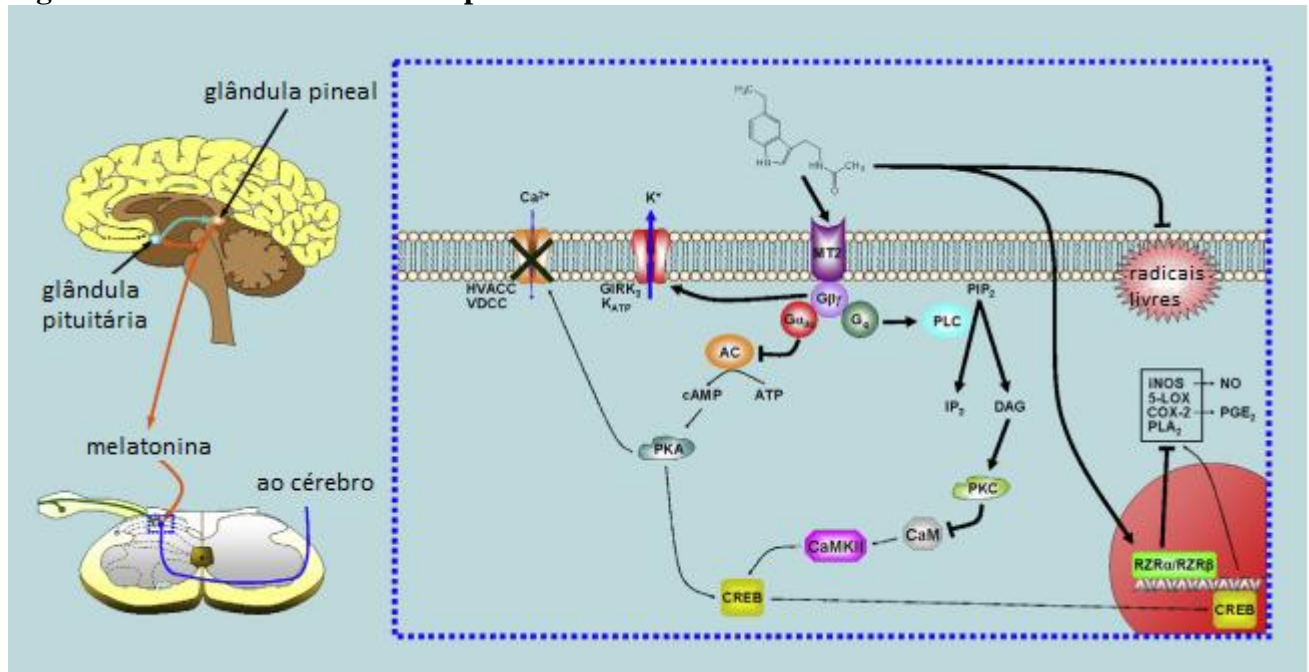
Os efeitos comportamentais predominantemente inibitórios da melatonina como sedação, atividade hipnótica, anticonvulsivante⁽⁹⁸⁾ e antinociceptiva⁽⁸⁷⁾ estão possivelmente relacionados à modulação e potencialização dos sistemas gabaérgico e glicinérgico^(76, 88). Vários estudos mostraram que aumenta o acúmulo de GABA no cérebro de ratos, assim como a ligação a receptores GABA A⁽⁹⁹⁾. Sobretudo o efeito analgésico da melatonina foi revertido com o uso do flumazenil^(100, 101). Essas ações são independentes dos receptores melatonérgicos, sendo diretamente mediadas pela interação com os receptores GABA A^(44, 102). Nos estudos pré-clínicos, a resposta antinociceptiva tem sido atribuída à ação do sistema melatonérgico via receptores de membrana ligados à proteína G e receptores nucleares⁽¹⁰³⁾.

Seguindo-se a linha de multiplicidade de mecanismos de ação analgésica, Mantovani demonstrou que⁽⁷⁴⁾ sistemas predominantemente inibitórios, como serotonérgico, dopaminérgico, adrenérgico e L-arginina óxido nítrico sintase, estão implicados na antinocicepção detectada nos modelos animais de dor nociceptiva e neurogênica. A alta lipossolubilidade da melatonina pode estar implicada nessa multiplicidade de achados.

Adicionalmente, existem evidências de que a melatonina pode exercer um efeito analgésico através da inibição de citocinas pró-inflamatórias^(104, 105) e inibição da adesão e migração leucocitária às células endoteliais⁽¹⁰⁶⁾. Alguns desses efeitos anti-inflamatórios estão relacionados à ação em receptores nucleares e redução da expressão de proteínas pró-inflamatórias como óxido nítrico sintase (NOS), proteína de ativação da 5-lipoxigenase (5-LOX), Ciclo-oxigenase-2 (COX-2) e fosfolipases A2⁽⁴⁴⁾. Além disso, o fato de inibir diretamente radicais livres⁽¹⁰⁷⁾ e estimular enzimas com atividade antioxidante como glutatona peroxidase⁽¹⁰⁸⁾, pode contribuir para sua atividade analgésica sobretudo em situações inflamatórias. Esses possíveis mecanismos de ação acima descritos em animais dificilmente serão elucidados em humanos, e a transposição dos achados não é simples. Uma vez que as medidas de dor acessam o efeito final de uma multiplicidade de sistemas competitivos inibitórios e facilitatórios, é difícil identificar se o mecanismo primário da alteração da resposta se deve a uma redução da facilitação ou aumento da inibição das respostas álgicas⁽¹⁰⁹⁾. Outro fator que limita a transposição dos achados refere-se às doses

muito elevadas utilizadas em animais, as quais não poderiam ser usadas clinicamente. Isso pode ser atribuído à natureza do teste: estímulo fásico *versus* tônico, sendo que os analgésicos em geral são mais efetivos nos estímulos tônicos (como no teste da formalina), nos quais a velocidade de condução das fibras periféricas responsáveis pelo estímulo é menor.

Figura 4. Mecanismos antinociceptivos da melatonina



(1) induz a liberação de opioides endógenos das células pituitárias, produzindo analgesia pela via clássica. (2) ativa receptores MT2 que estão localizados na membrana pós-sináptica do neurônio de segunda ordem assim como nas fibras aferentes primárias, modulando negativamente os níveis de AMPc, cálcio e a atividade do cAMP responde *element-binding* (CREB) intracelular. (3) ativa canais de potássio e bloqueia canais de cálcio através da atividade da subunidade G $\beta\gamma$. (4) age diretamente como *scavenger* de radicais livres quando entra livremente na célula, (5) ativa receptores nucleares e reduz a expressão de proteínas pró-inflamatórias como iNOS, 5-LOX, COX-2 e fosfolipases A2. Modificado de ⁽⁴⁴⁾.

Fonte: Adaptado de Nosedá ⁽⁴⁵⁾

2.5.2 Evidências Clínicas do Efeito Analgésico da Melatonina

Em humanos, o efeito analgésico da melatonina tem sido demonstrado em diferentes situações clínicas relacionadas à dor, como cefaleia⁽¹¹⁰⁾, refluxo gastroesofágico⁽¹¹¹⁾, fibromialgia⁽¹¹²⁾ e dor aguda pós-operatória^(60, 113-116).

O grupo de pesquisas em Dor e Neuromodulação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, ao qual pertence a autora desta dissertação, vem contribuindo para a evolução do conhecimento nessa área, sendo que o papel da melatonina no cenário de dor aguda pós-operatória foi investigado em dois estudos. O primeiro evidenciou que em cada três pacientes submetidas a histerectomia sob anestesia epidural tratadas com melatonina no pré-operatório,

evitou-se que uma relatasse dor moderada a intensa; o segundo estudo demonstrou que os efeitos da melatonina na dor e ansiólise foram equivalentes ao da clonidina oral em pacientes submetidas a histerectomia. Esses dois trabalhos foram recentemente incluídos em uma revisão sistemática⁽¹¹⁶⁾ que analisou o efeito ansiolítico e analgésico da melatonina no período perioperatório. Essa revisão incluiu 10 estudos, sendo que o efeito analgésico da melatonina foi o desfecho primário em 8. As doses variaram entre 3-15 mg, no entanto, conclusões quanto à magnitude do efeito e dose ideal não foram quantificadas devido à heterogeneidade dos dados.

Ismail⁽¹¹⁷⁾ mostrou que a pré-medicação com 10 mg de melatonina oral em pacientes submetidos a cirurgia de catarata sob anestesia tópica proporcionaram efeito ansiolítico e aumentaram a analgesia, desfecho evidenciado pela redução da escala análogo visual de dor (EAV) e pelo consumo de fentanil no transoperatório. Efeito similar foi visto em estudo com 6 mg de melatonina no dia anterior e 1 h antes de prostatectomia⁽¹¹⁴⁾. Houve redução significativa da dor pós-operatória, avaliada através do consumo de tramadol e melhor qualidade de sono. Os efeitos analgésicos da melatonina nesses estudos são conjugados aos efeitos ansiolíticos e sedativos, os quais sabidamente influenciam os limiares de dor. Portanto, parece que a ação predominantemente inibitória da melatonina no SNC é que contribui para a redução dos escores nociceptivos.

Os principais estudos abordando o efeito da melatonina como pré-medicação no controle da dor aguda pós-operatória estão resumidos na tabela 2.

Embora os trabalhos acima citados tenham evidenciado o papel da melatonina exógena no processo nociceptivo, ainda não se conhecem profundamente os potenciais mecanismos que explicam essas respostas, tampouco se há um efeito tipo dose-resposta. Nelson *et al.*⁽¹¹⁸⁾ demonstraram que a concentração endógena de melatonina salivar diminui após estímulo de dor aguda em modelo de dor em voluntários. No entanto, até o momento, não há conhecimento sobre o efeito da administração de melatonina exógena no tratamento da dor em pacientes com endometriose.

Tabela 2. Efeito da melatonina como pré-medicação no controle da dor aguda pós-operatória

Referência	Contexto	Dose, via de administração	Efeito analgésico	Outros efeitos
Ismail 2009 ⁽¹¹⁷⁾ (n= 40)	Pré-medicação em cirurgia de catarata sob anestesia tópica	10 mg VO	Redução do consumo de fentanil trans-operatório	Redução da ansiedade e pressão intra-ocular
Caumo 2009 ⁽¹¹³⁾ (n= 59)	Pré-medicação em histerectomia abdominal	5 mg VO	Pré-medicação com 5 mg de melatonina foi tão efetiva quanto 100 µg clonidina para ↓ dor. (NNT 1,5)	Efeito analgésico mais pronunciado no grupo de maior ansiedade
Caumo 2007 ⁽⁶⁰⁾ (n= 33)	Pré-medicação em histerectomia abdominal	5 mg VO	Pré-medicação com 5 mg de melatonina previniu dor intensa no pós-operatório. (NNT 2,2).	Efeito ansiolítico relevante no grupo com dor moderada a intensa
Borazan 2010 ⁽¹¹⁴⁾ (n=52)	Pré-medicação em prostatectomia aberta	6 mg VO	Redução de fentanil trans-operatório e consumo de tramadol no pós-operatório.	Melhor qualidade de sono e redução de ansiedade e maior sedação no grupo melatonina
Mowafi 2008 ⁽¹¹⁵⁾ (n=40)	Pré-medicação em cirurgia de mão sob anestesia intravenosa regional	10 mg VO	Aumento da tolerância ao torniquete, redução do consumo de fentanil trans-operatório, maior tempo para primeira solicitação analgésica no pós-operatório e redução de consumo de AINE em 24h	Menor pressão arterial média e frequência cardíaca após torniquete no grupo melatonina

Fonte: Adaptado de Stefani⁽³⁵⁾

3 MARCO TEÓRICO

A partir desta base teórica, observa-se que a melatonina é um neuro-hormônio implicado na regulação de múltiplas funções, incluindo a modulação do sistema nociceptivo. O compartilhamento de ações predominantemente inibitórias na transmissão neuronal como efeitos ansiolíticos, analgésicos e sedativos em animais e em humanos, leva a crer que essa substância faz parte de um sistema que integra de diferentes maneiras a transmissão neuronal. Embora diversos ensaios clínicos tenham demonstrado o efeito analgésico da melatonina em condições de dor aguda e alguns em dor crônica. Na endometriose em ratos observou-se regressão dos implantes endometrióticos com a aplicação intraperitoneal de melatonina, mas ainda não existem, até onde se saiba estudos avaliando o efeito analgésico da melatonina no tratamento de pacientes com endometriose.

Por isso, delineou-se o presente estudo onde se pretendeu avaliar o efeito terapêutico da melatonina no curso da dor crônica por endometriose, através do diário de dor e do BDNF.

4 JUSTIFICATIVA

A partir desta base teórica, observa-se que o surgimento dos modelos de dor experimental em humanos levou a um avanço no conhecimento dos mecanismos implicados na gênese e manutenção da dor, assim como na avaliação da eficácia de estratégias terapêuticas.

Considerando-se as insatisfatórias taxas de sucesso terapêutico alcançadas com as abordagens clássicas e a relevância social do problema, se justificam estudos inovadores que possam proporcionar avanço no processo diagnóstico e terapêutico da endometriose. Caso se confirme a hipótese da eficácia da melatonina nesta patologia, poder-se-á obter grande avanço no manejo da endometriose, prevenindo suas nefastas consequências em inúmeras mulheres jovens, além da expressiva economia aos cofres públicos, redução de prejuízo e sofrimento aos indivíduos e à sociedade.

O interesse sobre este tópico pauta-se na premissa de que a condição dolorosa crônica constitui grande parte da procura a atendimento médico, sendo a maior parcela nos serviços de atenção primária à saúde. No entanto, novos estudos são necessários para explorar com maior profundidade o impacto de intervenções farmacológicas que suplantem a limitada eficácia dos tratamentos disponíveis.

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVOS PRIMÁRIOS

Comparar o efeito da melatonina (10 mg/dia) com placebo na redução da dor diária e menstrual de pacientes com endometriose.

5.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

Comparar o efeito da melatonina (10 mg/dia) com placebo nos seguintes desfechos:

- a) nível de dor na vida diária e no período menstrual;
- b) níveis séricos do fator neurotrófico derivado do cérebro BDNF.

6 REFERÊNCIAS

1. Yildirim G, Attar R, Ozkan F, Kumbak B, Ficicioglu C, Yesildaglar N. The effects of letrozole and melatonin on surgically induced endometriosis in a rat model: a preliminary study. *Fertility and sterility*. 2010;93(6):1787-92. Epub 2009/11/03.
2. Gupta S, Agarwal A, Krajcir N, Alvarez JG. Role of oxidative stress in endometriosis. *Reproductive biomedicine online*. 2006;13(1):126-34. Epub 2006/07/06.
3. Keenan JA, Williams-Boyce PK, Massey PJ, Chen TT, Caudle MR, Bukovsky A. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with the immune modulators loxoribine and levamisole. *Fertility and sterility*. 1999;72(1):135-41. Epub 1999/07/31.
4. Moen MH, Muus KM. Endometriosis in pregnant and non-pregnant women at tubal sterilization. *Hum Reprod*. 1991;6(5):699-702.
5. Bedaiwy MA, Falcone T. Peritoneal fluid environment in endometriosis. Clinicopathological implications. *Minerva ginecologica*. 2003;55(4):333-45. Epub 2003/10/29.
6. Gazvani R, Templeton A. Peritoneal environment, cytokines and angiogenesis in the pathophysiology of endometriosis. *Reproduction*. 2002;123(2):217-26. Epub 2002/02/28.
7. Cunha Filho J. Endometriose. In: Freitas F, editor. *Rotinas em Ginecologia*. 6th ed. Porto Alegre: ArtMed; 2011.
8. Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet*. 2004;364(9447):1789-99.
9. Murphy AA. Clinical aspects of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2002;955:1-10; discussion 34-6, 396-406.
10. Rocha AP, Kraychete DC, Lemonica L, de Carvalho LR, de Barros GA, Garcia JB, et al. Pain: current aspects on peripheral and central sensitization. *Rev Bras Anesthesiol*. 2007;57(1):94-105.

11. Metzger DA, Haney AF. Etiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1989;16(1):1-14.
12. Podgaec S. Padrões de resposta imune em pacientes com endometriose. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2006.
13. Sampson JA. Metastatic or Embolic Endometriosis, due to the Menstrual Dissemination of Endometrial Tissue into the Venous Circulation. *Am J Pathol.* 1927;3(2):93-110.43.
14. Siristatidis C, Nissotakis C, Chrelias C, Iacovidou H, Salamalekis E. Immunological factors and their role in the genesis and development of endometriosis. *J Obstet Gynaecol Res.* 2006;32(2):162-70.
15. Signorile PG, Baldi F, Bussani R, D'Armiento M, De Falco M, Baldi A. Ectopic endometrium in human foetuses is a common event and sustains the theory of müllerianosis in the pathogenesis of endometriosis, a disease that predisposes to cancer. *J Exp Clin Cancer Res.* 2009;28:49.
16. Stephan FK, Zucker I. Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1972;69(6):1583-6.
17. Moore RY, Eichler VB. Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Res.* 1972;42(1):201-6.
18. Ralph MR, Foster RG, Davis FC, Menaker M. Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science.* 1990;247(4945):975-8.
19. Halberg F, Cornélissen G, Ulmer W, Blank M, Hrushesky W, Wood P, et al. Cancer chronomics III. Chronomics for cancer, aging, melatonin and experimental therapeutics researchers. *J Exp Ther Oncol.* 2006;6(1):73-84.
20. Lewy AJ, Sack RL. The dim light melatonin onset as a marker for circadian phase position. *Chronobiol Int.* 1989;6(1):93-102.

21. Chapron C, Dubuisson JB, Pansini V, Vieira M, Fauconnier A, Barakat H, et al. Routine clinical examination is not sufficient for diagnosing and locating deeply infiltrating endometriosis. *J Am Assoc Gynecol Laparosc.* 2002;9(2):115-9.
22. Rajaratnam SM, Arendt J. Health in a 24-h society. *Lancet.* 2001;358(9286):999-1005.
23. D'Hooghe TM. Immunomodulators and aromatase inhibitors: are they the next generation of treatment for endometriosis? *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2003;15(3):243-9.
24. Dmowski WP, Rana N, Michalowska J, Friberg J, Papierniak C, el-Roeiy A. The effect of endometriosis, its stage and activity, and of autoantibodies on in vitro fertilization and embryo transfer success rates. *Fertil Steril.* 1995;63(3):555-62.
25. Tariverdian N, Theoharides TC, Siedentopf F, Gutierrez G, Jeschke U, Rabinovich GA, et al. Neuroendocrine-immune disequilibrium and endometriosis: an interdisciplinary approach. *Seminars in immunopathology.* 2007;29(2):193-210. Epub 2007/07/12.
26. Kossel AH, Cambridge SB, Wagner U, Bonhoeffer T. A caged Ab reveals an immediate/instructive effect of BDNF during hippocampal synaptic potentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(25):14702-7.
27. Figurov A, Pozzo-Miller LD, Olafsson P, Wang T, Lu B. Regulation of synaptic responses to high-frequency stimulation and LTP by neurotrophins in the hippocampus. *Nature.* 1996;381(6584):706-9.
28. Korte M, Carroll P, Wolf E, Brem G, Thoenen H, Bonhoeffer T. Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(19):8856-60.
29. Patterson SL, Abel T, Deuel TA, Martin KC, Rose JC, Kandel ER. Recombinant BDNF rescues deficits in basal synaptic transmission and hippocampal LTP in BDNF knockout mice. *Neuron.* 1996;16(6):1137-45.
30. Markus RP, Santos JM, Zago W, Reno LA. Melatonin nocturnal surge modulates nicotinic receptors and nicotine-induced [3H]glutamate release in rat cerebellum slices. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003;305(2):525-30.

31. Simonneaux V, Ribelayga C. Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters. *Pharmacol Rev.* 2003;55(2):325-95.
32. Fernandes PA, Cecon E, Markus RP, Ferreira ZS. Effect of TNF-alpha on the melatonin synthetic pathway in the rat pineal gland: basis for a 'feedback' of the immune response on circadian timing. *Journal of pineal research.* 2006;41(4):344-50. Epub 2006/10/04.
33. Blalock JE. Shared ligands and receptors as a molecular mechanism for communication between the immune and neuroendocrine systems. *Ann N Y Acad Sci.* 1994;741:292-8.
34. Chapman CR, Tuckett RP, Song CW. Pain and stress in a systems perspective: reciprocal neural, endocrine, and immune interactions. *J Pain.* 2008;9(2):122-45.
35. Stefani LC. Avaliação da resposta analgésica da melatonina em modelo de dor experimental em humanos. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2012.
36. Brzezinski A, Vangel MG, Wurtman RJ, Norrie G, Zhdanova I, Ben-Shushan A, et al. Effects of exogenous melatonin on sleep: a meta-analysis. *Sleep medicine reviews.* 2005;9(1):41-50. Epub 2005/01/15.
37. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Reiter RJ. Clinical aspects of melatonin in the acute coronary syndrome. *Current vascular pharmacology.* 2009;7(3):367-73. Epub 2009/07/16.
38. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, Paredes SD, Mayo JC, Sainz RM. Melatonin and reproduction revisited. *Biology of reproduction.* 2009;81(3):445-56. Epub 2009/05/15.
39. Maestroni GJ. The immunotherapeutic potential of melatonin. *Expert opinion on investigational drugs.* 2001;10(3):467-76. Epub 2001/02/28.
40. Srinivasan V, Pandi-Perumal SR, Spence DW, Moscovitch A, Trakht I, Brown GM, et al. Potential use of melatonergic drugs in analgesia: mechanisms of action. *Brain research bulletin.* 2010;81(4-5):362-71. Epub 2009/12/17.

41. Becker-Andre M, Wiesenberg I, Schaeren-Wiemers N, Andre E, Missbach M, Saurat JH, et al. Pineal gland hormone melatonin binds and activates an orphan of the nuclear receptor superfamily. *The Journal of biological chemistry*. 1994;269(46):28531-4. Epub 1994/11/18.
42. Claustrat B, Brun J, Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep medicine reviews*. 2005;9(1):11-24. Epub 2005/01/15.
43. Stefulj J, Hörtnner M, Ghosh M, Schauenstein K, Rinner I, Wölfler A, et al. Gene expression of the key enzymes of melatonin synthesis in extrapineal tissues of the rat. *J Pineal Res*. 2001;30(4):243-7.
44. Ambriz-Tututi M, Rocha-Gonzalez HI, Cruz SL, Granados-Soto V. Melatonin: a hormone that modulates pain. *Life sciences*. 2009;84(15-16):489-98. Epub 2009/02/19.
45. Nosedá R, Hernández A, Valladares L, Mondaca M, Laurido C, Soto-Moyano R. Melatonin-induced inhibition of spinal cord synaptic potentiation in rats is MT2 receptor-dependent. *Neuroscience letters*. 2004;360(1-2):41-4. Epub 2004/04/15.
46. Dubocovich ML. Melatonin receptors in the central nervous system. *Advances in experimental medicine and biology*. 1991;294:255-65. Epub 1991/01/01.
47. Sutton CJ, Ewen SP, Jacobs SA, Whitelaw NL. Laser laparoscopic surgery in the treatment of ovarian endometriomas. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*. 1997;4(3):319-23.
48. Marcoux S, Maheux R, Bérubé S. Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. Canadian Collaborative Group on Endometriosis. *N Engl J Med*. 1997;337(4):217-22.
49. Bianchi PH, Pereira RM, Zanatta A, Alegretti JR, Motta EL, Serafini PC. Extensive excision of deep infiltrative endometriosis before in vitro fertilization significantly improves pregnancy rates. *J Minim Invasive Gynecol*. 2009;16(2):174-80.
50. Lorençatto C, Petta CA, Navarro MJ, Bahamondes L, Matos A. Depression in women with endometriosis with and without chronic pelvic pain. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2006;85(1):88-92.

51. Vercellini P, Somigliana E, Viganò P, Abbiati A, Barbara G, Crosignani PG. Surgery for endometriosis-associated infertility: a pragmatic approach. *Hum Reprod.* 2009;24(2):254-69.
52. Namnoum AB, Hickman TN, Goodman SB, Gehlbach DL, Rock JA. Incidence of symptom recurrence after hysterectomy for endometriosis. *Fertil Steril.* 1995;64(5):898-902.
53. Waterhouse J. Jet-lag and shift work: (1). Circadian rhythms. *J R Soc Med.* 1999;92(8):398-401.
54. Waterhouse J, Reilly T, Edwards B. The stress of travel. *Journal of sports sciences.* 2004;22(10):946-65; discussion 65-6. Epub 2005/03/17.
55. Matura T, Nishida T, Togawa A, Horie S, Kusumoto C, Ohata S, et al. Mechanisms of protection by melatonin against acetaminophen-induced liver injury in mice. *Journal of pineal research.* 2006;41(3):211-9. Epub 2006/09/05.
56. Fulbrook P. Core temperature measurement in adults: a literature review. *Journal of advanced nursing.* 1993;18(9):1451-60. Epub 1993/09/01.
57. Guney M, Oral B, Karahan N, Mungan T. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with melatonin. *Fertility and sterility.* 2008;89(4):934-42. Epub 2007/06/22.
58. Gander PH, Connell LJ, Graeber RC. Masking of the circadian rhythms of heart rate and core temperature by the rest-activity cycle in man. *Journal of biological rhythms.* 1986;1(2):119-35. Epub 1986/01/01.
59. El-Shenawy SM, Abdel-Salam OM, Baiuomy AR, El-Batran S, Arbid MS. Studies on the anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of melatonin in the rat. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society.* 2002;46(3):235-43. Epub 2002/09/11.
60. Caumo W, Torres F, Moreira NL, Jr., Auzani JA, Monteiro CA, Londero G, et al. The clinical impact of preoperative melatonin on postoperative outcomes in patients undergoing

abdominal hysterectomy. *Anesthesia and analgesia*. 2007;105(5):1263-71, table of contents. Epub 2007/10/26.

61. Cuzzocrea S, Mazzon E, Sautebin L, Serraino I, Dugo L, Calabró G, et al. The protective role of endogenous estrogens in carrageenan-induced lung injury in the rat. *Mol Med*. 2001;7(7):478-87.

62. Zhdanova IV, Wurtman RJ, Regan MM, Taylor JA, Shi JP, Leclair OU. Melatonin treatment for age-related insomnia. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86(10):4727-30. Epub 2001/10/16.

63. Morris RW, Lutsch EF. Daily susceptibility rhythm to morphine analgesia. *J Pharm Sci*. 1969;58(3):374-6. Epub 1969/03/01.

64. Lutsch EF, Morris RW. Light reversal of a morphine-induced analgesia susceptibility rhythm in mice. *Experientia*. 1971;27(4):420-1. Epub 1971/04/15.

65. Rosenfeld JP, Rice PE. Diurnal rhythms in nociceptive thresholds of rats. *Physiol Behav*. 1979;23(2):419-20. Epub 1979/08/01.

66. Lakin ML, Miller CH, Stott ML, Winters WD. Involvement of the pineal gland and melatonin in murine analgesia. *Life Sci*. 1981;29(24):2543-51. Epub 1981/12/14.

67. Mickle A, Sood M, Zhang Z, Shahmohammadi G, Sengupta JN, Miranda A. Antinociceptive effects of melatonin in a rat model of post-inflammatory visceral hyperalgesia: a centrally mediated process. *Pain*. 2010;149(3):555-64. Epub 2010/04/24.

68. Shin DJ, Jeong CW, Lee SH, Yoon MH. Receptors involved in the antinociception of intrathecal melatonin in formalin test of rats. *Neurosci Lett*. 2011;494(3):207-10. Epub 2011/03/15.

69. Esposito E, Paterniti I, Mazzon E, Bramanti P, Cuzzocrea S. Melatonin reduces hyperalgesia associated with inflammation. *Journal of pineal research*. 2010;49(4):321-31. Epub 2010/07/30.

70. Wang S, Zhang L, Lim G, Sung B, Tian Y, Chou CW, et al. A combined effect of dextromethorphan and melatonin on neuropathic pain behavior in rats. *Brain Res.* 2009;1288:42-9. Epub 2009/07/15.
71. Yoon MH, Park HC, Kim WM, Lee HG, Kim YO, Huang LJ. Evaluation for the interaction between intrathecal melatonin and clonidine or neostigmine on formalin-induced nociception. *Life Sci.* 2008;83(25-26):845-50. Epub 2008/11/13.
72. Ambriz-Tututi M, Granados-Soto V. Oral and spinal melatonin reduces tactile allodynia in rats via activation of MT2 and opioid receptors. *Pain.* 2007;132(3):273-80. Epub 2007/03/10.
73. Arreola-Espino R, Urquiza-Marin H, Ambriz-Tututi M, Araiza-Saldana CI, Caram-Salas NL, Rocha-Gonzalez HI, et al. Melatonin reduces formalin-induced nociception and tactile allodynia in diabetic rats. *European journal of pharmacology.* 2007;577(1-3):203-10. Epub 2007/10/09.
74. Mantovani M, Kaster MP, Pertile R, Calixto JB, Rodrigues AL, Santos AR. Mechanisms involved in the antinociception caused by melatonin in mice. *J Pineal Res.* 2006;41(4):382-9. Epub 2006/10/04.
75. Li SR, Wang T, Wang R, Dai X, Chen Q, Li RD. Melatonin enhances antinociceptive effects of delta-, but not mu-opioid agonist in mice. *Brain research.* 2005;1043(1-2):132-8. Epub 2005/05/03.
76. Zahn PK, Lansmann T, Berger E, Speckmann EJ, Musshoff U. Gene expression and functional characterization of melatonin receptors in the spinal cord of the rat: implications for pain modulation. *J Pineal Res.* 2003;35(1):24-31. Epub 2003/06/26.
77. Naguib M, Hammond DL, Schmid PG, 3rd, Baker MT, Cutkomp J, Queral L, et al. Pharmacological effects of intravenous melatonin: comparative studies with thiopental and propofol. *Br J Anaesth.* 2003;90(4):504-7. Epub 2003/03/20.
78. Golombek DA, Escolar E, Burin LJ, De Brito Sanchez MG, Cardinali DP. Time-dependent melatonin analgesia in mice: inhibition by opiate or benzodiazepine antagonism. *Eur J Pharmacol.* 1991;194(1):25-30. Epub 1991/02/26.

79. Jeong JH, Choi KB, Yi BC, Chun CH, Sung KY, Sung JY, et al. Effects of extremely low frequency magnetic fields on pain thresholds in mice: roles of melatonin and opioids. *J Auton Pharmacol*. 2000;20(4):259-64. Epub 2001/03/22.
80. Onal SA, Inalkac S, Kutlu S, Kelestimur H. Intrathecal melatonin increases the mechanical nociceptive threshold in the rat. *Agri*. 2004;16(4):35-40. Epub 2004/11/13.
81. Laurido C, Pelissie T, Soto-Moyano R, Valladares L, Flores F, Hernandez A. Effect of melatonin on rat spinal cord nociceptive transmission. *Neuroreport*. 2002;13(1):89-91. Epub 2002/04/02.
82. Ulugol A, Dokmeci D, Guray G, Sapolyo N, Ozyigit F, Tamer M. Antihyperalgesic, but not antiallodynic, effect of melatonin in nerve-injured neuropathic mice: Possible involvements of the L-arginine-NO pathway and opioid system. *Life sciences*. 2006;78(14):1592-7. Epub 2005/08/19.
83. Tu Y, Sun RQ, Willis WD. Effects of intrathecal injections of melatonin analogs on capsaicin-induced secondary mechanical allodynia and hyperalgesia in rats. *Pain*. 2004;109(3):340-50. Epub 2004/05/26.
84. Pang SF, Wan Q, Brown GM. Melatonin receptors in the spinal cord. *Biol Signals*. 1997;6(4-6):272-83. Epub 1997/07/01.
85. Ray M, Mediratta PK, Mahajan P, Sharma KK. Evaluation of the role of melatonin in formalin-induced pain response in mice. *Indian J Med Sci*. 2004;58(3):122-30. Epub 2004/03/31.
86. Naguib M, Baker MT, Spadoni G, Gregerson M. The hypnotic and analgesic effects of 2-bromomelatonin. *Anesth Analg*. 2003;97(3):763-8. Epub 2003/08/23.
87. Golombek DA, Pevet P, Cardinali DP. Melatonin effects on behavior: possible mediation by the central GABAergic system. *Neurosci Biobehav Rev*. 1996;20(3):403-12. Epub 1996/01/01.

88. Yu CX, Zhu B, Xu SF, Cao XD, Wu GC. The analgesic effects of peripheral and central administration of melatonin in rats. *European journal of pharmacology*. 2000;403(1-2):49-53. Epub 2000/09/02.
89. Odagaki Y, Nishi N, Koyama T. Functional coupling of GABA(B) receptors with G proteins that are sensitive to N-ethylmaleimide treatment, suramin, and benzalkonium chloride in rat cerebral cortical membranes. *J Neural Transm*. 2000;107(10):1101-16. Epub 2000/12/29.
90. Wilhelmsen M, Amirian I, Reiter RJ, Rosenberg J, Gogenur I. Analgesic effects of melatonin: a review of current evidence from experimental and clinical studies. *J Pineal Res*. 2011;51(3):270-7. Epub 2011/05/28.
91. van den Top M, Buijs RM, Ruijter JM, Delagrange P, Spanswick D, Hermes ML. Melatonin generates an outward potassium current in rat suprachiasmatic nucleus neurones in vitro independent of their circadian rhythm. *Neuroscience*. 2001;107(1):99-108. Epub 2001/12/18.
92. Nelson CS, Marino JL, Allen CN. Melatonin receptors activate heteromeric G-protein coupled Kir3 channels. *Neuroreport*. 1996;7(3):717-20. Epub 1996/02/29.
93. Vanegas H, Schaible H. Effects of antagonists to high-threshold calcium channels upon spinal mechanisms of pain, hyperalgesia and allodynia. *Pain*. 2000;85(1-2):9-18. Epub 2000/02/29.
94. Ayar A, Martin DJ, Ozcan M, Kelestimur H. Melatonin inhibits high voltage activated calcium currents in cultured rat dorsal root ganglion neurones. *Neurosci Lett*. 2001;313(1-2):73-7. Epub 2001/10/31.
95. Yu CX, Wu GC, Xu SF, Chen CH. [Melatonin influences the release of endogenous opioid peptides in rat periaqueductal gray]. *Sheng li xue bao : [Acta physiologica Sinica]*. 2000;52(3):207-10. Epub 2002/04/17.
96. Shavali S, Ho B, Govitrapong P, Sawlom S, Ajjimaporn A, Klongpanichapak S, et al. Melatonin exerts its analgesic actions not by binding to opioid receptor subtypes but by

increasing the release of beta-endorphin an endogenous opioid. *Brain research bulletin*. 2005;64(6):471-9. Epub 2005/01/11.

97. Yu CX, Wu GC, Xu SF, Chen CH. [Effect of melatonin on release of beta-endorphin, norepinephrine and 5-hydroxytryptamine in rat brain]. *Yao Xue Xue Bao*. 2001;36(1):5-9. Epub 2003/02/13.

98. Naguib M, Gottumukkala V, Goldstein PA. Melatonin and anesthesia: a clinical perspective. *J Pineal Res*. 2007;42(1):12-21. Epub 2007/01/03.

99. Wu FS, Yang YC, Tsai JJ. Melatonin potentiates the GABA(A) receptor-mediated current in cultured chick spinal cord neurons. *Neurosci Lett*. 1999;260(3):177-80. Epub 1999/03/17.

100. Pierrefiche G, Zerbib R, Laborit H. Anxiolytic activity of melatonin in mice: involvement of benzodiazepine receptors. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. 1993;82(2):131-42. Epub 1993/11/01.

101. Golombek DA, Escolar E, Cardinali DP. Melatonin-induced depression of locomotor activity in hamsters: time-dependency and inhibition by the central-type benzodiazepine antagonist Ro 15-1788. *Physiol Behav*. 1991;49(6):1091-7. Epub 1991/06/01.

102. Wang F, Li JC, Wu CF, Yang JY, Xu F, Peng F. Hypnotic activity of melatonin: involvement of semicarbazide hydrochloride, blocker of synthetic enzyme for GABA. *Acta Pharmacol Sin*. 2002;23(9):860-4. Epub 2002/09/17.

103. Dubocovich ML. Melatonin receptors: are there multiple subtypes? *Trends Pharmacol Sci*. 1995;16(2):50-6. Epub 1995/02/01.

104. Cuzzocrea S, Zingarelli B, Gilad E, Hake P, Salzman AL, Szabo C. Protective effect of melatonin in carrageenan-induced models of local inflammation: relationship to its inhibitory effect on nitric oxide production and its peroxynitrite scavenging activity. *Journal of pineal research*. 1997;23(2):106-16. Epub 1997/12/10.

105. Cuzzocrea S, Costantino G, Mazzon E, Caputi AP. Regulation of prostaglandin production in carrageenan-induced pleurisy by melatonin. *Journal of pineal research*. 1999;27(1):9-14. Epub 1999/08/18.
106. Lotufo CM, Lopes C, Dubocovich ML, Farsky SH, Markus RP. Melatonin and N-acetylserotonin inhibit leukocyte rolling and adhesion to rat microcirculation. *European journal of pharmacology*. 2001;430(2-3):351-7. Epub 2001/11/17.
107. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, Qi W. Biochemical reactivity of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species: a review of the evidence. *Cell biochemistry and biophysics*. 2001;34(2):237-56. Epub 2002/03/20.
108. Barlow-Walden LR, Reiter RJ, Abe M, Pablos M, Menendez-Pelaez A, Chen LD, et al. Melatonin stimulates brain glutathione peroxidase activity. *Neurochem Int*. 1995;26(5):497-502. Epub 1995/05/01.
109. Arendt-Nielsen L, Yarnitsky D. Experimental and clinical applications of quantitative sensory testing applied to skin, muscles and viscera. *J Pain*. 2009;10(6):556-72. Epub 2009/04/22.
110. Peres MF. Melatonin, the pineal gland and their implications for headache disorders. *Cephalalgia*. 2005;25(6):403-11. Epub 2005/05/25.
111. Kandil TS, Mousa AA, El-Gendy AA, Abbas AM. The potential therapeutic effect of melatonin in Gastro-Esophageal Reflux Disease. *BMC Gastroenterol*. 2010;10:7. Epub 2010/01/20.
112. Hussain SA, Al K, II, Jasim NA, Gorial FI. Adjuvant use of melatonin for treatment of fibromyalgia. *J Pineal Res*. 2011;50(3):267-71. Epub 2010/12/17.
113. Caumo W, Levandovski R, Hidalgo MP. Preoperative anxiolytic effect of melatonin and clonidine on postoperative pain and morphine consumption in patients undergoing abdominal hysterectomy: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *The journal of pain : official journal of the American Pain Society*. 2009;10(1):100-8. Epub 2008/11/18.

114. Borazan H, Tuncer S, Yalcin N, Erol A, Otelcioglu S. Effects of preoperative oral melatonin medication on postoperative analgesia, sleep quality, and sedation in patients undergoing elective prostatectomy: a randomized clinical trial. *J Anesth.* 2010;24(2):155-60. Epub 2010/02/27.
115. Mowafi HA, Ismail SA. Melatonin improves tourniquet tolerance and enhances postoperative analgesia in patients receiving intravenous regional anesthesia. *Anesth Analg.* 2008;107(4):1422-6. Epub 2008/09/23.
116. Yousaf F, Seet E, Venkatraghavan L, Abrishami A, Chung F. Efficacy and safety of melatonin as an anxiolytic and analgesic in the perioperative period: a qualitative systematic review of randomized trials. *Anesthesiology.* 2010;113(4):968-76. Epub 2010/09/09.
117. Ismail SA, Mowafi HA. Melatonin provides anxiolysis, enhances analgesia, decreases intraocular pressure, and promotes better operating conditions during cataract surgery under topical anesthesia. *Anesth Analg.* 2009;108(4):1146-51. Epub 2009/03/21.
118. Nelson FA, Farr LA, Ebadi M. Salivary melatonin response to acute pain stimuli. *J Pineal Res.* 2001;30(4):206-12. Epub 2001/05/08.

7 ARTIGO

EFFICACY OF MELATONIN ON THE TREATMENT OF ENDOMETRIOSIS: A PHASE II, RANDOMIZED, DOUBLE-BLIND, PLACEBO CONTROLLED TRIAL

Short tile: Efficacy of melatonin on the treatment of endometriosis

André Schwertner^{*4}
 Claudia C. Conceição dos Santos^{*3,4}
 Gislene Dalferth Costa^{3,4}
 Izabel Cristina Custodio de Souza PhD^{3,4}
 Iraci L. S. Torres PharmD, PhD^{2,3}
 João Sabino L. da Cunha Filho²
 Wolnei Caumo MD, PhD^{1,2,3,41}

E-mail address of each author; institution at the time the work; his/her role in the manuscript²

"Claudia C. Conceição dos Santos" <ccsantos@hcpa.ufrgs.br> (UFRGS); **FG**

"Gislene Dalferth Costa" <gislenedc@pop.com.br> (UFRGS); **MT**

"André Schwertner" <andreschwertner@yahoo.com.br> (UFRGS); **FG**

"Izabel Cristina Custodio de Souza" <belcustodio20@yahoo.com.br> (UFRGS); **MT**

"Iraci Torres" <iracitorres@gmail.com> (UFRGS); **AB; ES**

"João Sabino L. da Cunha Filho" <Sabino@via-rs.net> (UFRGS); **MT**

"Wolnei Caumo" <caumo@cpovo.net> (UFRGS); **FG; ES; AB**; *responsible to maintain the study records.*

All authors approved the final manuscript.

Declaration of interests: The authors declare that there are no financial or other relationships that might lead to conflicts of interest.

Corresponding Author:

Name: Wolnei Caumo MD, PhD

Department: Laboratory of Pain & Neuromodulation

Institution: Hospital de Clínicas de Porto Alegre at UFRGS

Mailing address: Rua Ramiro Barcelos, 2350

CEP 90035-003 Bairro Rio Branco - Porto Alegre – RS.

Phone: (55) 51- 3359.8083

Fax: (55) 51- 3359.8083

Email: caumo@cpovo.net

¹ Pain and Palliative Care Service at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) and ² Associate Professor, Pharmacology Department, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS, Brazil; ³ Post Graduate Program in Medical Sciences, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), ⁴ Laboratory of Pain & Neuromodulation at HCPA/UFRGS; *Both are first authors.

² **AB** participated in the sequence alignment and drafted the manuscript; **MT** participated in the sequence alignment; **ES** participated in the design of the study and performed the statistical analysis; **FG** conceived of the study, participated in its design and coordination and helped to draft the manuscript.

ABSTRACT

Endometriosis-associated chronic pelvic pain (EACPP) is associated with an intense inflammatory reaction. Melatonin has emerged as an important analgesic, antioxidant and anti-inflammatory agent. This trial investigates the effects of melatonin compared with placebo on EACPP, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) level and sleep quality. Forty females, aged 18 to 45, were randomized into placebo (n=20) or melatonin (10 mg) (n=20) treatment groups for a period of eight weeks. There was a significant interaction (time vs. group) for the main outcomes of pain scores as indexed by the visual analogue scale (VAS) on daily pain, dysmenorrhea, dysuria and dyschezia (ANOVA, $P < 0.01$ for all analyses). Post-hoc analysis showed that compared with placebo, the treatment reduced daily pain scores by 39.80% (95% confidence interval [CI], 12.88 to 43.01%) and dysmenorrhea by 38.01% (CI 95% 15.96 to 49.15%). Melatonin improved sleep quality, reduced the risk of using an analgesic by 80% and reduced BDNF level independently of its effect on pain. This study provides additional evidence regarding the analgesic effects of melatonin on EACPP and melatonin's ability to improve sleep quality. Additionally, the study revealed that melatonin modulates the secretion of BDNF and pain through distinct mechanisms.

1 INTRODUCTION

Chronic pelvic pain (CPP) is defined as a nonmalignant pain perceived in structures related to the pelvis that is constant or recurring over a period of 6 months. In some cases, CPP might be associated with negative cognitive, behavioral and social consequences.¹ The prevalence of CPP is variable according to the studied population. A populational study demonstrated a 3.8% occurrence rate;² however, in infertility samples, this rate can be as high as 40%.³ CPP is a substantial burden in women of reproductive age, with a direct impact on their marital, social and professional lives.^{4,5}

Endometriosis is a benign disease that mainly affects females during their reproductive years; endometriosis is strongly associated with pelvic pain and is the most common gynecological cause of CPP.⁶ It is associated with local inflammation and the distressing symptoms of chronic pelvic pain [e.g., painful menstrual periods (dysmenorrhea) and discomfort during intercourse (dyspareunia), urination (dysuria) or defecation (dyschezia)] and infertility.⁷ Endometriosis lesions may produce pain by compressing or infiltrating nerves near lesions.⁸ The presence of nerve growth factor (NGF) in lesions can also act on those

nerves to produce pain and facilitate nerve growth.⁸ C-fiber nociceptors are also activated by noxious events such as inflammation; not only do they convey information to the CNS (afferent function), but they can also release substance P, calcitonin gene-related peptide (CGRP), tachykinins, somatostatin, nitric oxide and other factors into the local environment (efferent function). Once activated, C-fibers can become sensitized; efferent activity also increases local vascular permeability and inflammation, a process called 'neurogenic inflammation'.⁹

Even though the full pathophysiology of CPP remains unknown, cumulative neurophysiologic evidence suggests that peripheral and central sensitization at the spinal cord, brainstem and cortical levels result in an amplification of sensory impulses that may alter pain perception.¹⁰ Thus, a clear understanding of the mechanisms involved in pain generation, modulation, amplification and perpetuation is important as the basis of a comprehensive therapeutic program for treatment and rehabilitation. It has been suggested that estrogen increases brain-derived neurotrophic factor (BDNF) during the estrous cycle,¹¹ and BDNF has received attention as a neuromediator of hyperalgesia and spinal central sensitization in pain states.^{12, 13} BDNF's role in modulating a descending pain-facilitatory pathway has been recently reported by Guo et al. (2006).¹⁴ On the other hand, in certain clinical conditions such as depression, BDNF has been used as a marker of the therapeutic effect of antidepressants.¹⁵ Previous studies have also revealed melatonin to have an antidepressant effect¹⁶ and an analgesic effect; thus, we postulate that melatonin may reduce the activity of neurotrophic factors, particularly BDNF), which plays an important role in the pathogenesis of chronic pain. In addition, the restoration of BDNF may represent a critical mechanism underlying the therapeutic effect of melatonin.

Despite therapeutic advances, the available options to treat endometriosis have a limited impact on the course of the disease and produce unsatisfactory results while causing poorly tolerated adverse effects.¹⁷ It is important to investigate other therapeutic options, such as melatonin, which has been shown to have a beneficial effect in experimental models of endometriosis.¹⁸ Cumulative evidence indicates that melatonin should be tested in this setting, considering its analgesic, antioxidant^{19, 20} and anti-inflammatory effects. In fact, the antinociceptive effect of melatonin has been demonstrated in animal models of acute pain,^{21, 22} inflammatory pain²³⁻²⁵ and neuropathic pain.²⁶ In the few studies conducted with humans, doses of 3-10 mg of melatonin were used.²⁷⁻³⁰

Overall, these data prompted us to test the hypothesis that melatonin can be used as a therapeutic agent in endometriosis. Although the cause of pain in endometriosis is likely

multifactorial, common critical pathways or mechanisms may exist. The current pharmacological armamentarium for endometriosis pain has a decidedly endocrinological focus, targeting suppression of the hypothalamic-pituitary ovarian (HPO) axis. The rationale for the use of progestogens with or without estrogens in endometriosis treatment has been their anti-angiogenic, immunomodulatory and anti-inflammatory effects.³¹

Taking this information into account, we test the hypothesis that melatonin would be more effective than a placebo for the treatment of endometriosis-associated chronic pelvic pain (EACPP). We also tested whether melatonin would change the levels of BDNF and whether it would be more effective than placebo in improving sleep quality.

2 METHODS

Methods and results section are reported according to CONSORT guidelines.

2.1 DESIGN OVERVIEW, SETTING, AND PARTICIPANTS

All patients provided written informed consent to participate in this randomized, double-blind, two-group parallel, clinical trial. It was approved by the Research Ethics Committee at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) (Institutional Review Board IRB 0000921) and was in accordance with the Declaration of Helsinki (Resolution 196/96 of the National Health Council). We recruited 40 patients complaining of pelvic pain who were between 18 and 45 years old from the gynecology outpatient clinic at the HCPA and by newspaper publicity. We defined chronic pelvic pain and/or dyspareunia of moderate to severe intensity as lasting for more than 6 months,³² eliciting scores pain on categorical scale (0 to 10) equal or higher than 4 and requiring regular analgesic use.³³ All patients had endometriosis diagnosis confirmed by laparoscopy surgery in a pelvic pain investigation by the same investigator (JSLC). Non-gynecologic causes of pelvic pain were excluded in all patients using history, physical examination and laboratory exams when appropriate. We excluded patients with diagnosed malignancies, uterine myomas, ovarian cysts, inflammatory pelvic disease and who were pregnant. Patients with a history of neurologic or oncologic disease, ischemic heart disease, kidney or hepatic insufficiency, or a regular intake of antidepressants or anticonvulsants that could not be discontinued at least fifteen days prior to the start of the study were not included. All of these compounds could interfere with marker levels or with the disease symptoms.

2.2 SAMPLE SIZE JUSTIFICATION

The number of patients in each study group was determined by previous clinical trials.³⁴ An *a priori* estimate indicated that a total sample size of 36 patients divided into two balanced treatment groups (n=18) was needed to detect a 1.3-cm reduction (average standard deviation 1.2 cm) in pain intensity associated with melatonin or placebo at a power and α level of 0.8 and 0.01,^{35, 36} respectively, which would be clinically relevant and comparable to other pharmacological interventions. To account for multiple outcomes and attrition, we increased the sample size to 20 patients per group. For these calculations, we assumed that this remission was clinically relevant.

2.3 RANDOMIZATION AND MASKING

We used a fixed block size of 4 to ensure that equal numbers of participants were randomized into the two groups. Before the recruitment phase, the envelopes containing the protocol materials were prepared. Each envelope was sealed and numbered sequentially and contained an allocated treatment. After the participant agreed to participate in the trial, the envelope in the sequence was opened by the nurse who administered the medications. During the entire protocol timeline, two investigators who were not involved in patient evaluations were responsible for blinding and randomization procedures. Other individuals who were involved in patient care were unaware of the treatment group to which the patients belonged.

2.4 INTERVENTIONS

Over an eight-week period (56 days), oral medications were taken at bedtime by the two groups: 10 mg melatonin tablets (Sigma Chemical, Germany provided batch-by-batch certificates of analysis for authenticating the purity of each batch) or placebo with identical characteristics. The capsules were manufactured in such a way that the placebo and active treatment were identical. To measure adherence to medication use, we employed the following strategies: *i*) a researcher counted the number of tablets consumed each week during the study period, *ii*) the patients were asked to record a diary entry if they failed to use the medication, and *iii*) eligible patients were strongly encouraged to remain on the medication throughout the eight weeks, during which time they were assessed weekly in a

visit to clinical center. Regardless of their decision to continue or discontinue medication at this stage, patients continue being assessed during the study period.

2.5 SUPPLEMENTARY ANALGESIC USE

All of the patients were permitted to use supplementary acetaminophen to relieve their pain if necessary, as recorded in their daily pain diary. Patients were allowed to take 750 mg of acetaminophen up to four times per day (QID) and 200 mg of ibuprofen at maximum QID. as a rescue analgesic. If their pain persisted, patients were permitted to use 60 mg of codeine up to QID. Patients were asked to record analgesic intake during the treatment period in their pain diaries, and these diaries were reviewed during each treatment section. The total analgesic dose taken during treatment was considered for the analysis.

2.6 INSTRUMENTS AND ASSESSMENTS

All of the psychological tests used in this study were validated for the Brazilian population.^{37, 38} Two independent medical examiners who were blind to the group assignments were trained to administer the pain scales and to conduct psychological tests. Baseline depressive symptoms of the patients were assessed using the Hamilton Depression Scale,³⁸ and sleep quality was assessed using the Pittsburgh Sleep Quality Index.³⁹ Psychiatric disorders were evaluated with the Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders (SCID-I),⁴⁰ and anxiety was measured using the refined version of the Rash analysis of the State-Trait Anxiety Inventory (STAI).³⁷ Demographic data and medical comorbidity were assessed using a standardized questionnaire; patients were asked about any changes that occurred during treatment, such as changes in mood, sleepiness, dizziness, headaches or allergic reaction.

2.7 OUTCOMES

The primary outcome was pain, as assessed by the pain score diaries [global pain in the last 24 hours, painful menstrual periods (dysmenorrhea) or discomfort during intercourse (dyspareunia)], the amount of analgesics used weekly throughout the treatment period and the level of BDNF. Secondary outcomes were discomfort during urination (dysuria) or defecation (dyschezia) and sleep quality. Outcomes are described below:

2.7.1 Assessment of pain and sleep

- a) Pain intensity was measured by a 10-cm VAS. The VAS scores ranged from no pain (zero) to worst possible pain (10 cm). The time of worst pain during the last 24 h was recorded daily in the patients' diaries. They needed to answer the following questions using the pain VAS: i) How intense was your worst pain during the last 24 hours?, ii) How intense was your pain during your menstrual period?, iii) How intense was your pain during intercourse?, iv) How intense was your pain during defecation?, and v) How intense was your pain during urination? To improve patient compliance, an evaluator checked their pain records weekly. Pain scores during menstruation were assessed for seven days at a time.
- b) Diary entries recording analgesic intake (acetaminophen, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) or opioids) were reviewed during each treatment section. The total analgesic dose taken during treatment was considered for the analysis.
- c) Sleep quality during the study period was assessed daily by the 10-cm visual analog sleep quality scale (VASQS). VASQS scores ranged from worst possible (0) to best possible (10 cm) sleep, and using the VASQS, patients answered one question in their sleep diaries: a) How well did you sleep last night?
- d) Laboratorial outcomes included serum levels of BDNF. Samples of blood were collected at two time points: at baseline and at the end of treatment. Blood samples were centrifuged in plastic tubes for 10 min at $4500 \times g$ at 4°C , and serum was stored at -80°C for hormone assays. Serum BDNF was determined by Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA) using a ChemiKine BDNF Sandwich ELISA Kit, CYT306 (Chemicon/Millipore, Billerica, MA, USA). The lower detection limit of the kit is 7.8 pg/mL for BDNF. The other main independent variable was gender, and we analyzed the effects of age in our model.

2.7.2 Statistical Analysis

T-tests for independent samples were used to analyze the continuous variables, and the categorical variables were examined by Chi-squared or Fisher's exact tests. We averaged the daily values recorded in the pain and sleep diary to generate one value for each of the eight weeks of treatment. After first checking the assumptions of normality for the outcome measures (VAS pain scores and VASQS sleep quality scores) using Skewness and Kurtosis tests, we conducted a group analysis by running a mixed ANOVA model in which the independent variables were time, experimental group (melatonin and placebo), the interaction between time and experimental group and subject identification. If appropriate, we then performed Bonferroni's test for post hoc multiple comparisons to identify differences between groups at each time point and used a paired t-test to assess the effects of the variables on each experimental group. Stepwise multiple linear regression analysis was conducted with the VAS pain scores as the dependent variable and the experimental group (melatonin and placebo) and sleep quality the previous night as independent variables.

We also calculated adjusted mean differences, which were defined as the relative changes of the melatonin group compared to the placebo. This measurement was used to describe melatonin treatment efficacy, which was calculated as the adjusted mean difference divided by the adjusted mean placebo group expressed as a percentage (%). The confidence interval (95% CI) and the associated P-value were also calculated. We considered all of the randomized patients as part of the analysis using the intention-to-treat method, with the last observation carried forward. The data were analyzed using SPSS version 18.0 (SPSS, Chicago, IL).

3 RESULTS

3.1 PATIENT CHARACTERISTICS

The clinical and demographic characteristics of the patients are shown in Table 1. Twenty patients were allocated to the placebo group and twenty to the melatonin group. Thirty-six patients completed the study; three patients in the melatonin group and one in the placebo group withdrew due to treatment inefficacy. Baseline characteristics were similar across the melatonin and placebo groups (all *P* values >0.05) (Table 1). We did not observe serious or moderate side effects with treatment.

3.2 ANALYSIS OF THE MAIN OUTCOME: EFFICACY ON PAIN SCORES (HIGHER PAIN LEVEL DURING THE LAST 24 H AND DYSMENORRHEAL), ANALGESIC USE AND BDNF

The melatonin group had significantly lower pain VAS scores ($P<0.001$) than the placebo-treated group (Table 2), and the interaction between time and treatment group was significant ($P=0.02$) (**Figure 2 A**). The melatonin group, when compared with the placebo group, demonstrated a mean pain reduction of 39.30% (Table 2). The melatonin group had significantly lower pain scores ($P<0.001$) than the placebo-treated group (Table 2) during menstruation, and again, the interaction between time and treatment group was significant ($P\leq 0.001$) for these VAS scores. (**Figure 2 B**).

Analgesic use during the treatment period occurred in 42.2% patients in the placebo group and in 22.9% of patients in the melatonin group. The relative risk to use analgesics at least three times a week during the eight weeks of treatment was 1.80 [confidence interval (CI) 95% 1.61 to 2.08]. That is, the placebo-treated was 80% more likely to need additional analgesics. Of the analgesics used in the placebo group, acetaminophen was used by 66.7% of the patients, codeine or tramadol by 60% and NSAIDs by 60% (The same patient may have used more than one analgesics). In the melatonin group, 33.3% used acetaminophen, 40% tramadol or codeine and 35% used NSAIDs. There was a significant reduction in the analgesic doses for patients receiving melatonin treatment compared to those that were placebo-treated ($P<0.01$).

One important issue is whether the BDNF level reduction is secondary to pain improvement or whether it is a primary effect of the intervention. To address this important issue, we conducted an additional regression model in which we controlled BDNF-level changes for cumulative pain scores during the treatment period. The adjusted mean of BDNF level for the placebo group was 25.64 (9.65) vs. 20.46 (4.93) for the melatonin group, and the mean difference of 5.94 [(CI) 95% 2.07 TO 9.82] was significant at the $P<0.001$ level. This model revealed that the effect of pain score was not statistically significant. However, the interaction between group and pain VAS scores was significant ($P<0.001$), suggesting that its variability is dependent on the effects of the treatment group on the main outcome (BDNF level). Additionally, when we run a stratified analysis by treatment group, the effect of pain was not statistically significant in the melatonin group, but it was in the placebo group (Table 3). This suggests that the effect of treatment on BDNF level is not dependent of pain level.

3.3 SECONDARY OUTCOMES: PAIN EVACUATION, DYSURIA AND SLEEP QUALITY

There was a significant interaction between time and treatment group ($P<0.01$) for pain VAS scores during evacuation and dysuria. The melatonin group recorded significantly lower pain scores (for both outcomes $P<0.01$) than did the placebo group (Table 2).

There was a significant interaction between time and treatment group ($P<0.001$) for the previous night's sleep quality VASQS scores. Patients in the melatonin group reported significantly better sleep quality ($P<0.001$) than those who were in the placebo group (Table 2). When compared with the placebo, melatonin produced a mean improvement of 42% in how patients felt when they awoke (Table 2B).

4 DISCUSSION

This study demonstrated that melatonin produces a reduction in EACPP compared to placebo that was not only statistically significant but may also be clinically relevant. In addition, this study showed that melatonin treatment was associated with improved sleep quality and BDNF level reduction. This finding suggests that melatonin has a direct effect on pain pathways or on the levels of signaling chemicals that regulate pain. Furthermore, the present findings showed that the effect of melatonin on BDNF level is independent of its effect on pain.

These findings concur with the results of previous studies in animals in which melatonin caused regression and atrophy of endometriotic lesions.⁴¹ However, to the best of our knowledge, this is the first investigation that extends this literature, providing additional evidence of the impact of melatonin on EACPP. Melatonin was observed to have a clinically relevant effect on all parameters used to assess pain, including a reduction in daily pain, dysmenorrhea, dyspareunia, dysuria and dyschezia (Table 2), as well an 80% reduction in analgesic use. Overall, the magnitude of the effect on pain reported was higher than 35%. This is important because a placebo effect has been well documented in studies of pain control.⁴² For example, Koninckx et al. (2008)⁴³ reported a 30% reduction in pain severity associated with placebo even in women with deep endometriosis. Novel treatments for the symptoms of endometriosis should therefore demonstrate superiority relative to placebo to verify their efficacy.

Additionally, the present study corroborates evidence from previous randomized clinical trials, in which melatonin performed much better than the placebo in treating

fibromyalgia^{44, 45} and acute postoperative pain.^{29, 30} This finding has a biological plausibility because the antinociceptive effect of melatonin is known to involve the activation of supraspinal sites and the inhibition of “spinal windup”.⁴⁶ In addition, experimental evidence suggests that the analgesic effects of melatonin are mediated by opioids⁴⁷ and by gamma-aminobutyric acid ((GABA)ergic) systems.⁴⁸ Moreover, melatonin produces marked anti-inflammatory effects on peripheral sites by inhibiting the release of proinflammatory cytokines.⁴⁹ Additionally, its effect on EACPP may be explained by diverse mechanisms, including hormonal pathways because it is known that endometriosis is an estrogen-dependent chronic inflammatory gynecological disease.

Melatonin-induced modulation of the number of estrogen and progesterone receptors.⁵⁰

A previous study found that estradiol-dependent estrogen receptor (ER) activation was prevented in cells by treatment with melatonin. Neither nuclear localization of ER nor binding of estradiol to ER is affected by melatonin.⁵¹ Thus, it is possible that the effect of estrogen may occur through two distinct estrogen receptor (ERs) subtypes, ER α and ER β , which are widely distributed in the central nervous system (CNS), in astrocytes and in interneurons. Astrocytes enhance the synthesis of astroglial-derived neurotrophic factors, but a number of pro-inflammatory mediators, such as cytokines, and inflammatory-associated factors, such as cyclooxygenase-2 and inducible-nitric oxide synthases, are released by astrocytes and cause harmful effects that maintain the mal-adaptive plasticity implicated in EACPP. The inflammatory response involves hormonal and neuronal mechanisms by which the brain regulates the function of the immune system and cytokines, which allow the immune system to regulate the brain. Although it has been reported that BDNF is involved in inflammatory reactions^{52, 53} and that its production is increased in response to pro-inflammatory cytokines, our findings support the notion that BDNF levels may be a neurobiological mechanism underlying EACPP. This hypothesis is supported by our finding that BDNF level was linked with pain level in the placebo group but not in the melatonin group.^{54, 55} Thus, the melatonin-induced reduction in this neurotrophin may be explained by other ways; for example, an, anti-inflammatory mechanism or perhaps an interaction with gonadal hormones could be involved.

The effect of melatonin on BDNF level can be explained by estrogen levels, which regulate the increase in BDNF mRNA in areas associated with nociceptive sensory processing, such as the hippocampus, cerebral cortex and spinal cord.⁵⁶ The relationship between BDNF level and pain may indirectly confirm the role of the regulatory effect of estrogen in the sensitization of central nervous system centers associated with nociceptive

sensory processing. Furthermore, estrogen regulates opioid receptor density in several pain-related areas [PAG, parabrachial nucleus (PBN)]; that is significantly lower in female rats during proestrus (higher plasma estrogen) compared with diestrus and metestrus phases in male rats.⁵⁷

Because BDNF levels can serve as a molecular “sensor” of global levels of neuronal activity, it has been suggested that the induction of BDNF expression in response to increases in the level of neuronal activity may act to dampen cortical excitability by promoting the development and/or strengthening of inhibitory synapses in local circuits.^{58, 59} Overall, these findings show that the melatonin effect may interrupt a response associated with a maladaptive neuroplasticity process orchestrated by neuronal, endocrinal and immune mechanisms, which can amplify sensory pain signals to the neural pain matrix.⁶⁰ Macrophage-derived production, such as the production of TNF, IL-1 β , and IL-12, integrate this cascade of responses.⁶¹

Another possible explanation of our finding is the involvement of melatonin in regulating circadian rhythms, which would make melatonin a potentially valuable means for targeting the pathophysiologic mechanism behind EACPP. Although melatonin is approved as a sleep aid, it also has a variety of other beneficial effects that may account for its potential role in the treatment of EACPP. Obviously, pain relief is a major goal, but the additional treatment of restless sleep and sleep disturbances may lead to a further decrease in pain.⁶² Our findings and the relationship between sleep and pain permit us to propose that melatonin might constitute an additional therapeutic option for treating EACPP. Obviously, we cannot rule out the possibility that melatonin may influence pain via another mechanism, such as sleep improvement; pain and sleep regulatory mechanisms may influence one another, and we cannot determine a cause-effect relationship.

Strengths of the study include the comparison of active treatment versus placebo in a double-blind design and the use of multiple efficacy and safety measures based on previous trial experience. Despite knowledge of a substantial placebo effect, there remains a scarcity of placebo-controlled studies of medications in the treatment of endometriosis pain.^{63, 64} This study therefore represents an important contribution to evidence-based prescribing. We conducted this trial according to consort guidelines, and given that we used the Delphi List (a criteria list for quality assessment of RCTs), our trial can be considered to be of strong quality because all eight items in this scale can be positively scored in our RCT.⁶⁵ Although the homogeneity of this study population is methodologically advantageous, the issue of external validity arises. Thus, additional research with a larger number of patients is needed to more

widely assess the potential benefits of melatonin in various clinical settings, and future studies are required before definitive conclusions regarding melatonin and pain treatment can be made. A potential limitation of this study is the short treatment duration, as it would have been difficult to justify a prolonged placebo treatment period in patients experiencing chronic pain.

In conclusion, in this 8-week, randomized, double-blind, placebo-controlled study, oral consumption of 10 mg/day of melatonin was associated with significant improvements in EACPP and other efficacy measures. Melatonin reduced pain scores, analgesic use and improved sleep quality. Our results also suggested that melatonin modulates the secretion of BDNF by a mechanism that is distinct from the one underlying its analgesic effect. Overall, melatonin may represent an effective and well-tolerated treatment for the painful symptoms of endometriosis.

Acknowledgements

This research was supported by grants from the following Brazilian agencies: the Committee for the Development of Higher Education Personnel – CAPES - PNPd/CAPES (for W.C and I.C.C.S); the National Council for Scientific and Technological Development - CNPq (Dr. I.L.S. Torres, Dr. W. Caumo); the Postgraduate Program in Medical Sciences at the School of Medicine of the Federal University of Rio Grande do Sul; the Postgraduate Research Group at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre; and the Foundation for Support of Research at Rio Grande do Sul (FAPERGS).

REFERENCES

1. Fall M, Baranowski AP, Fowler CJ, Lepinard V, Malone-Lee JG, Messelink EJ, et al.: EAU guidelines on chronic pelvic pain. *European urology* 46: 2004, 681-9.
2. Zondervan KT, Yudkin PL, Vessey MP, Jenkinson CP, Dawes MG, Barlow DH, et al.: The community prevalence of chronic pelvic pain in women and associated illness behaviour. *The British journal of general practice : the journal of the Royal College of General Practitioners* 51: 2001, 541-7.
3. Reiter RC: A profile of women with chronic pelvic pain. *Clinical obstetrics and gynecology* 33: 1990, 130-6.
4. Dalpiaz O, Kerschbaumer A, Mitterberger M, Pinggera G, Bartsch G, Strasser H: Chronic pelvic pain in women: still a challenge. *BJU international* 102: 2008, 1061-5.
5. Mathias SD, Kuppermann M, Liberman RF, Lipschutz RC, Steege JF: Chronic pelvic pain: prevalence, health-related quality of life, and economic correlates. *Obstetrics and gynecology* 87: 1996, 321-7.
6. Berkley KJ, Rapkin AJ, Papka RE: The pains of endometriosis. *Science* 308: 2005, 1587-9.
7. Asante A, Taylor RN: Endometriosis: the role of neuroangiogenesis. *Annual review of physiology* 73: 2011, 163-82.
8. Stratton P, Berkley KJ: Chronic pelvic pain and endometriosis: translational evidence of the relationship and implications. *Human reproduction update* 17: 2011, 327-46.
9. Szolcsanyi J: Forty years in capsaicin research for sensory pharmacology and physiology. *Neuropeptides* 38: 2004, 377-84.
10. Woolf CJ, Salter MW: Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science* 288: 2000, 1765-9.

11. Blurton-Jones M, Kuan PN, Tuszynski MH: Anatomical evidence for transsynaptic influences of estrogen on brain-derived neurotrophic factor expression. *The Journal of comparative neurology* 468: 2004, 347-60.
12. Delafoy L, Gelot A, Ardid D, Eschalier A, Bertrand C, Doherty AM, et al.: Interactive involvement of brain derived neurotrophic factor, nerve growth factor, and calcitonin gene related peptide in colonic hypersensitivity in the rat. *Gut* 55: 2006, 940-5.
13. Groth R, Aanonsen L: Spinal brain-derived neurotrophic factor (BDNF) produces hyperalgesia in normal mice while antisense directed against either BDNF or trkB, prevent inflammation-induced hyperalgesia. *Pain* 100: 2002, 171-81.
14. Guo W, Robbins MT, Wei F, Zou S, Dubner R, Ren K: Supraspinal brain-derived neurotrophic factor signaling: a novel mechanism for descending pain facilitation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 26: 2006, 126-37.
15. Tsai SJ, Hong CJ, Liou YJ: Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant action: another piece of evidence from pharmacogenetics. *Pharmacogenomics* 9: 2008, 1353-8.
16. Detanico BC, Piato AL, Freitas JJ, Lhullier FL, Hidalgo MP, Caumo W, et al.: Antidepressant-like effects of melatonin in the mouse chronic mild stress model. *European journal of pharmacology* 607: 2009, 121-5.
17. Rice VM: Conventional medical therapies for endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 955: 2002, 343-52; discussion 89-93, 96-406.
18. Yildirim G, Attar R, Ozkan F, Kumbak B, Ficicioglu C, Yesildaglar N: The effects of letrozole and melatonin on surgically induced endometriosis in a rat model: a preliminary study. *Fertility and sterility* 93: 2010, 1787-92.
19. Gitto E, Pellegrino S, Gitto P, Barberi I, Reiter RJ: Oxidative stress of the newborn in the pre- and postnatal period and the clinical utility of melatonin. *Journal of pineal research* 46: 2009, 128-39.

20. Imai A, Suzuki N: Topical non-barrier agents for postoperative adhesion prevention in animal models. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology* 149: 2010, 131-5.
21. Elmegeed GA, Baiuomy AR, Abdel-Salam OM: Evaluation of the anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of novel synthesized melatonin analogues. *European journal of medicinal chemistry* 42: 2007, 1285-92.
22. Li SR, Wang T, Wang R, Dai X, Chen Q, Li RD: Melatonin enhances antinociceptive effects of delta-, but not mu-opioid agonist in mice. *Brain research* 1043: 2005, 132-8.
23. Arreola-Espino R, Urquiza-Marin H, Ambriz-Tututi M, Araiza-Saldana CI, Caram-Salas NL, Rocha-Gonzalez HI, et al.: Melatonin reduces formalin-induced nociception and tactile allodynia in diabetic rats. *European journal of pharmacology* 577: 2007, 203-10.
24. El-Shenawy SM, Abdel-Salam OM, Baiuomy AR, El-Batran S, Arbid MS: Studies on the anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of melatonin in the rat. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society* 46: 2002, 235-43.
25. Ambriz-Tututi M, Granados-Soto V: Oral and spinal melatonin reduces tactile allodynia in rats via activation of MT2 and opioid receptors. *Pain* 132: 2007, 273-80.
26. Ulugol A, Dokmeci D, Guray G, Sapolyo N, Ozyigit F, Tamer M: Antihyperalgesic, but not antiallodynic, effect of melatonin in nerve-injured neuropathic mice: Possible involvements of the L-arginine-NO pathway and opioid system. *Life sciences* 78: 2006, 1592-7.
27. Zhdanova IV, Wurtman RJ, Regan MM, Taylor JA, Shi JP, Leclair OU: Melatonin treatment for age-related insomnia. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 86: 2001, 4727-30.
28. Acil M, Basgul E, Celiker V, Karagoz AH, Demir B, Aypar U: Perioperative effects of melatonin and midazolam premedication on sedation, orientation, anxiety scores and psychomotor performance. *European journal of anaesthesiology* 21: 2004, 553-7.

29. Caumo W, Levandovski R, Hidalgo MP: Preoperative anxiolytic effect of melatonin and clonidine on postoperative pain and morphine consumption in patients undergoing abdominal hysterectomy: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *The journal of pain : official journal of the American Pain Society* 10: 2009, 100-8.
30. Caumo W, Torres F, Moreira NL, Jr., Auzani JA, Monteiro CA, Londero G, et al.: The clinical impact of preoperative melatonin on postoperative outcomes in patients undergoing abdominal hysterectomy. *Anesthesia and analgesia* 105: 2007, 1263-71, table of contents.
31. Vercellini P, Fedele L, Pietropaolo G, Frontino G, Somigliana E, Crosignani PG: Progestogens for endometriosis: forward to the past. *Human reproduction update* 9: 2003, 387-96.
32. Fedele L, Bianchi S, Zanconato G, Bergamini V, Berlanda N, Carmignani L: Long-term follow-up after conservative surgery for bladder endometriosis. *Fertility and sterility* 83: 2005, 1729-33.
33. Palos GR, Mendoza TR, Mobley GM, Cantor SB, Cleeland CS: Asking the community about cutpoints used to describe mild, moderate, and severe pain. *The journal of pain : official journal of the American Pain Society* 7: 2006, 49-56.
34. Ga H, Choi JH, Park CH, Yoon HJ: Dry needling of trigger points with and without paraspinal needling in myofascial pain syndromes in elderly patients. *J Altern Complement Med* 13: 2007, 617-24.
35. Dao TT, Lavigne GJ, Feine JS, Tanguay R, Lund JP: Power and sample size calculations for clinical trials of myofascial pain of jaw muscles. *J Dent Res* 70: 1991, 118-22.
36. Skre I, Onstad S, Torgersen S, Kringlen E: High interrater reliability for the Structured Clinical Interview for DSM-III-R Axis I (SCID-I). *Acta psychiatrica Scandinavica* 84: 1991, 167-73.
37. Kaipper MB, Chachamovich E, Hidalgo MP, Torres IL, Caumo W: Evaluation of the structure of Brazilian State-Trait Anxiety Inventory using a Rasch psychometric approach. *Journal of psychosomatic research* 68: 2010, 223-33.

38. Hamilton M: A rating scale for depression. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 23: 1960, 56-62.
39. Buysse DJ, Reynolds CF, 3rd, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ: The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry research* 28: 1989, 193-213.
40. Lobbestael J, Leurgans M, Arntz A: Inter-rater reliability of the Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders (SCID I) and Axis II Disorders (SCID II). *Clinical psychology & psychotherapy* 18: 2011, 75-9.
41. Guney M, Oral B, Karahan N, Mungan T: Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with melatonin. *Fertility and sterility* 89: 2008, 934-42.
42. Turner JA, Deyo RA, Loeser JD, Von Korff M, Fordyce WE: The importance of placebo effects in pain treatment and research. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 271: 1994, 1609-14.
43. Koninckx PR, Craessaerts M, Timmerman D, Cornillie F, Kennedy S: Anti-TNF-alpha treatment for deep endometriosis-associated pain: a randomized placebo-controlled trial. *Hum Reprod* 23: 2008, 2017-23.
44. Citera G, Arias MA, Maldonado-Cocco JA, Lazaro MA, Rosemffet MG, Brusco LI, et al.: The effect of melatonin in patients with fibromyalgia: a pilot study. *Clinical rheumatology* 19: 2000, 9-13.
45. Acuna-Castroviejo D, Escames G, Reiter RJ: Melatonin therapy in fibromyalgia. *Journal of pineal research* 40: 2006, 98-9.
46. Morgan PJ, Barrett P, Howell HE, Helliwell R: Melatonin receptors: localization, molecular pharmacology and physiological significance. *Neurochemistry international* 24: 1994, 101-46.
47. Laurido C, Pelissie T, Soto-Moyano R, Valladares L, Flores F, Hernandez A: Effect of melatonin on rat spinal cord nociceptive transmission. *Neuroreport* 13: 2002, 89-91.

48. Wu FS, Yang YC, Tsai JJ: Noncompetitive inhibition of the glycine receptor-mediated current by melatonin in cultured neurons. *Brain research* 881: 2000, 208-11.
49. Cuzzocrea S, Tan DX, Costantino G, Mazzon E, Caputi AP, Reiter RJ: The protective role of endogenous melatonin in carrageenan-induced pleurisy in the rat. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 13: 1999, 1930-8.
50. Abd-Allah AR, El-Sayed el SM, Abdel-Wahab MH, Hamada FM: Effect of melatonin on estrogen and progesterone receptors in relation to uterine contraction in rats. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society* 47: 2003, 349-54.
51. Rato AG, Pedrero JG, Martinez MA, del Rio B, Lazo PS, Ramos S: Melatonin blocks the activation of estrogen receptor for DNA binding. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 13: 1999, 857-68.
52. Kerschensteiner M, Gallmeier E, Behrens L, Leal VV, Misgeld T, Klinkert WE, et al.: Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions: a neuroprotective role of inflammation? *The Journal of experimental medicine* 189: 1999, 865-70.
53. Toma H, Winston JH, Micci MA, Li H, Hellmich HL, Pasricha PJ: Characterization of the neurotrophic response to acute pancreatitis. *Pancreas* 25: 2002, 31-8.
54. Martinowich K, Manji H, Lu B: New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nat Neurosci* 10: 2007, 1089-93.
55. Kuipers SD, Bramham CR: Brain-derived neurotrophic factor mechanisms and function in adult synaptic plasticity: new insights and implications for therapy. *Curr Opin Drug Discov Devel* 9: 2006, 580-6.
56. Allen AL, McCarson KE: Estrogen increases nociception-evoked brain-derived neurotrophic factor gene expression in the female rat. *Neuroendocrinology* 81: 2005, 193-9.

57. Duncan KA, Murphy A: Sex-linked differences in mu opiate receptor expression in the rat brain. In 11 th world Congress on Pain. Australia: International Association for the Study of Pain, 2005. p. 191.
58. Genoud C, Knott GW, Sakata K, Lu B, Welker E: Altered synapse formation in the adult somatosensory cortex of brain-derived neurotrophic factor heterozygote mice. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 24: 2004, 2394-400.
59. Rutherford LC, DeWan A, Lauer HM, Turrigiano GG: Brain-derived neurotrophic factor mediates the activity-dependent regulation of inhibition in neocortical cultures. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 17: 1997, 4527-35.
60. Garcia RA, Afeche SC, Scialfa JH, do Amaral FG, dos Santos SH, Lima FB, et al.: Insulin modulates norepinephrine-mediated melatonin synthesis in cultured rat pineal gland. *Life sciences* 82: 2008, 108-14.
61. Abbas AL, AH; Pillai, S: *Cellular and Molecular Immunology*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2012.
62. Haack M, Scott-Sutherland J, Santangelo G, Simpson NS, Sethna N, Mullington JM: Pain sensitivity and modulation in primary insomnia. *Eur J Pain*: 2011.
63. Prentice A, Deary AJ, Goldbeck-Wood S, Farquhar C, Smith SK: Gonadotrophin-releasing hormone analogues for pain associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev*: 2000, CD000346.
64. Prentice A, Deary AJ, Bland E: Progestagens and anti-progestagens for pain associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev*: 2000, CD002122.
65. Verhagen AP, de Vet HC, de Bie RA, Kessels AG, Boers M, Bouter LM, et al.: The Delphi list: a criteria list for quality assessment of randomized clinical trials for conducting systematic reviews developed by Delphi consensus. *Journal of clinical epidemiology* 51: 1998, 1235-41.

Figure 1 - Flow chart showing recruitment and progress through the study.

Figure 2. Weekly mean pain levels (as assessed by VAS) at baseline week W0 to W8, in the two experimental groups. The error bars indicate the standard error of the mean. Asterisks (*) positioned above the bars indicate significant differences ($P < 0.001$) at those time points between the placebo and melatonin groups. All comparisons were performed by a mixed analysis of variance (ANOVA) model, followed by the Bonferroni correction for post hoc multiple comparisons.

Figure 3. Mean serum BDNF levels at baseline week W0 and W8, in the two experimental groups. The error bars indicate the standard error of the mean. Asterisks (*) positioned above the symbols indicate significant differences ($P < 0.01$) at those time points between the placebo and melatonin groups compared using the *t*-test for independent samples.

Figure 1.

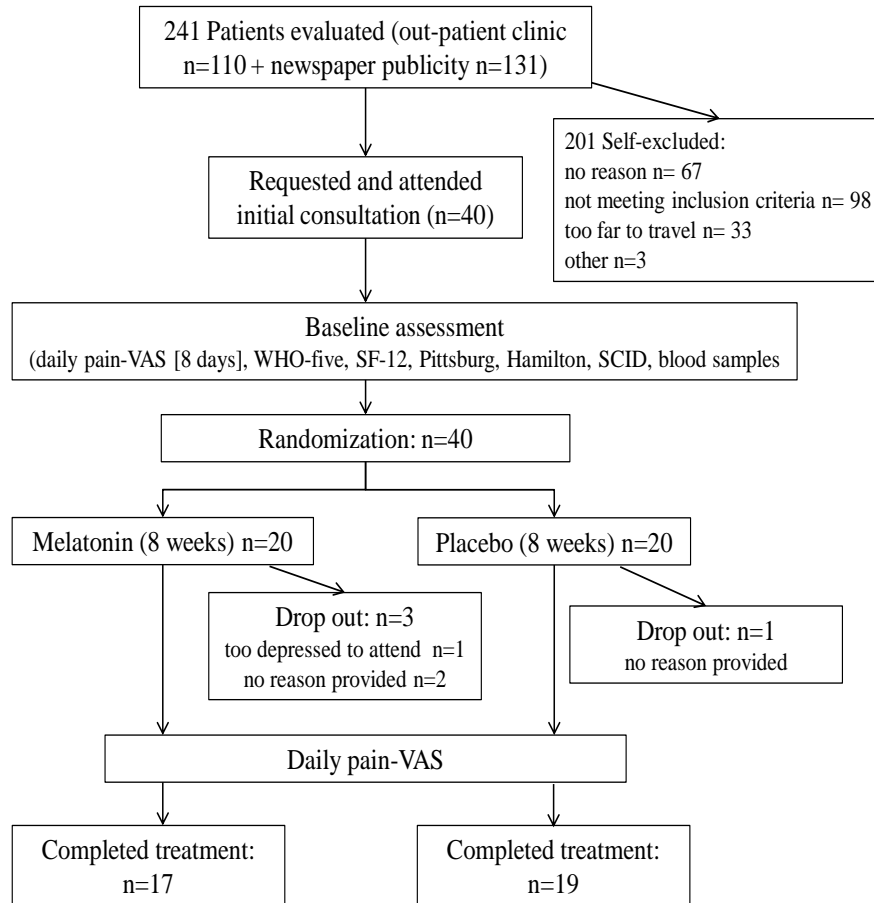


Figure 2.

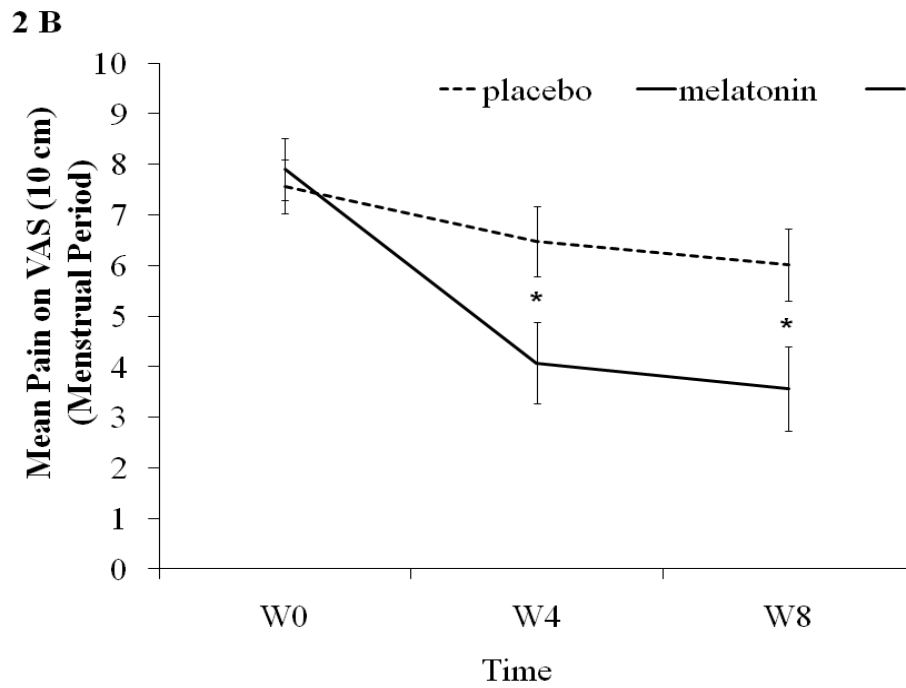
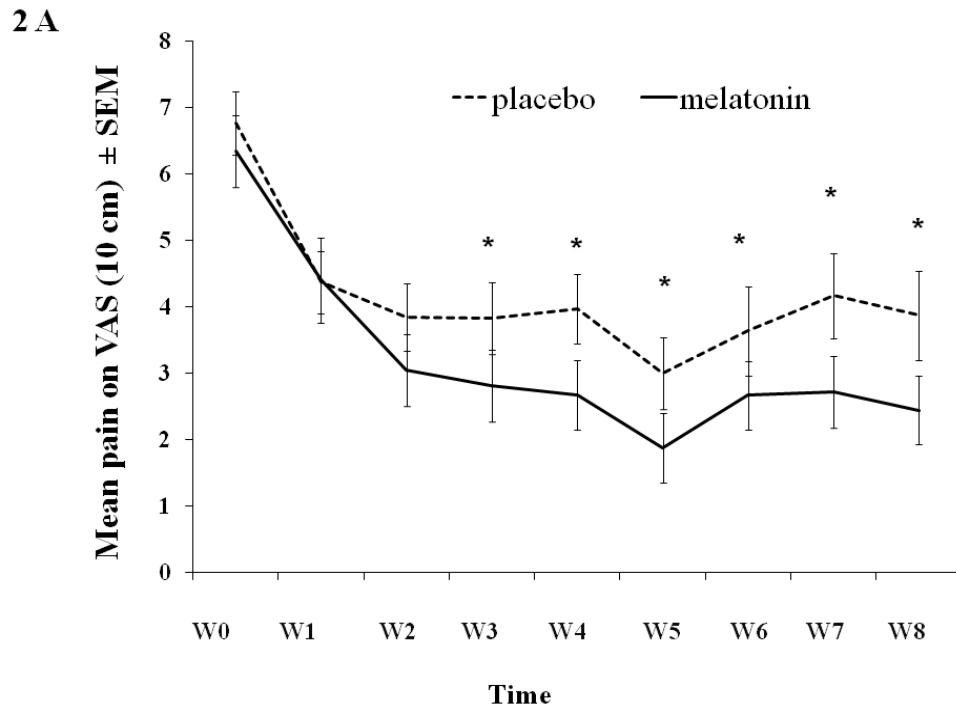


Figure 3.

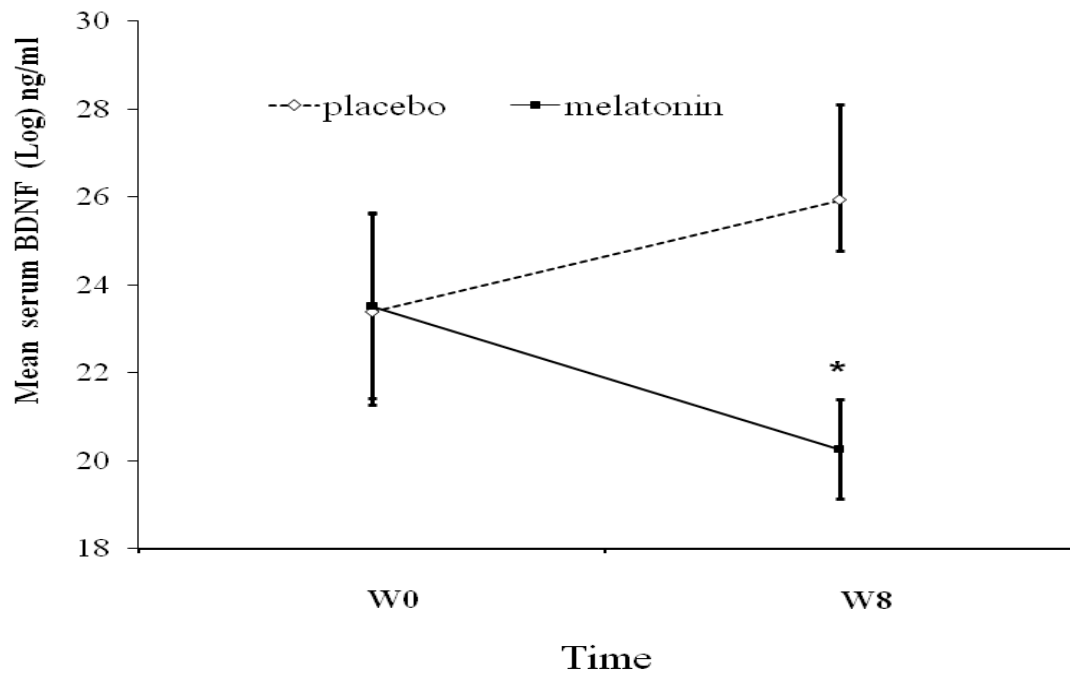


Table 1. Characteristics of the study sample. Values are given as the mean (SD) or frequency (n=40).

	Placebo (n=20)	Melatonin(n=20)	P-value*
Age (years)	37.63 (\pm 5.5)	36.76 (\pm 6.4)	.86
Smoking (n / %)	1 / (5.0%)	5 (25.0%)	.08
Clinical Comorbidity	7 (35.0%)	6 (30.0%)	.94
Hypertension	0 (0.0%)	3 (15.0%)	.06
Hypothyroidism	2 (10.0%)	1 (5.0%)	.61
Ashtma	2 (10.0%)	0 (0.0%)	.17
Other	3 (15.0%)	2 (10.0%)	.49
Education (years of study)	10.7 (\pm 3.51)	11.0 (\pm 1.87)	.72
Global pain on visual analogue scale	6.89 (\pm 2.1)	6.46 (\pm 2.6)	.73
Menstrual pain on visual analogue scale	8.00 (\pm 2.0)	7.32(\pm 2.5)	.30
Pittsburgh Sleep Questionnaire	15.6 (\pm 7.6)	19.0 (\pm 5.9)	.15
Hamilton Depression Scale	18.4 (\pm 8.4)	16.3 (\pm 10.7)	.51
Psychiatric disease	11 (55.0%)	12 (60.0%)	.34
Depression	7 (35.0%)	6 (30.0%)	.94
Anxiety	11 (55.0%)	9 (45.0%)	.78
Daily use of analgesics	16 (80.0%)	15 (75.0%)	.73
Acetaminophen/Dipirone	12 (60.0%)	7 (35.0%)	.25
NSAID	9 (45.0%)	10 (50.0%)	.37
Opioid	2 (10.0%)	3 (15.0%)	.49

*Independent Samples T Test; VAS = visual analogue scale; PCS = physical component summary; MCS = mental component summary

Table 2. Treatment effect on the outcomes during the treatment period (8 weeks) (n=40).

2A.Primary outcomes				
Pain reported on Visual Analogue Scale †				
Treatment	Adjusted mean (SD)	Adjusted mean difference (95% CI) †	Relative change % (95% CI)‡	P value
a. Higher pain level during the last 24 h (daily)				
Placebo (n=20)	4.58 (1.46)			
Melatonin (n=20)	2.78 (1.35)	1.80 (0.59 to 1.97)	39.30 (12.88 to 43.01)	<0.001
b. Pain during menstrual period (dysmenorrhea)				
Placebo (n=20)	6.84(2.38)			
Melatonin (n=20)	4.24 (2.61)	2.6 (0.38 to 1.71)	38.01 (15.96 to 49.15)	<0.001
c. Pain during intercourse				
Placebo (n=20)	6.08(1.42)			
Melatonin (n=20)	4.68(1.51)	1.40(0.42 to 1.49)	23.02 (6.90 to 24.50)	<0.001
2B. Secondary outcomes				
d. Pain during evacuation				
Placebo (n=20)	6.30(1.64)			
Melatonin (n=20)	4.12(0.97)	2.18(1.25 to 2.30)	34.60(19.84 to 36.50)	<0.0001
e. Pain during urine				
Placebo (n=20)	6.33(1.31)			
Melatonin (n=20)	5.35(0.69)	1.13 (0.41 to 1.75)	27.65(6.47 to 133.00)	<0.001
f. How well did you sleep last night - on visual analog sleep quality scale (VASQS)				
Placebo (n=20)	4.98(1.51)			
Melatonin (n=20)	6.08(1.42)	1.1 (0.11 to 1.39)	22.08 (2.20 to 27.91)	<0.02

CI, confidence interval

† Mixed ANOVA model. Mean difference groups

‡ Relative change = adjusted mean difference / adjusted placebo mean x 100%

Table 3. Multivariate linear regression of the pain reported compared with BDNF level, treatment group and daily pain VAS scores (n=40).

Linear regression model - Adjusted $R^2 = 0.24$				
Dependent variable: serum BDNF after eight weeks of treatment				
Parameter	β	T	P	95% CI
Dependent variable: serum BDNF after eight weeks of treatment				
Cumulative pain score on VAS dairy (mean of eight weeks)	-0.07	-0.09	0.92	-1.54 to 1.40
Placebo*(Cumulative pain score on VAS dairy) vs.				
Melatonin*(Cumulative pain score on VAS dairy)	2.60	3.14	<0.001	0.90 to 4.33
Interaction	20.46	10.69	<0.001	16.55 to 24.
Cumulative pain score on VAS dairy * (Placebo)	2.23	2.33	<0.01	0.25 to 5.02
Cumulative pain score on VAS dairy * (Melatonin)	-0.16	-0.26	0.79	-1.59 to 1.18

8 CONCLUSÕES

Este ensaio clínico randomizado, duplo-cego, em paralelo, controlado com placebo demonstrou a eficácia clínica da melatonina na redução da dor diária e menstrual em pacientes com endometriose num curso de tratamento de oito semanas. O uso da melatonina foi associado à redução da dor mesmo fora do período menstrual em pacientes com endometriose. O tratamento também reduziu os níveis de BDNF, sugerindo mudança em sistemas moduladores de dor. Tais achados sugerem que a melatonina é eficaz no tratamento da endometriose.

9 PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados deste estudo corroboram os de pesquisas prévias em outros tipos de dor, já desenvolvidos pelo grupo do qual faz parte a autora, mostrando o efeito analgésico da melatonina. Este estudo se insere na linha de pesquisa sobre neuromodulação farmacológica da dor que vem sendo desenvolvida no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

A presente dissertação assim como os estudos em curso nos laboratórios, do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, focam nos efeitos terapêuticos da melatonina em dores com processos fisiopatogenia distintos. Os resultados deste estudo, obtidos no contexto ao qual se aplicam na clínica, geraram conhecimento para alicerçar novas políticas de assistência e treinamento no manejo da dor crônica da endometriose. Esta abordagem, que integra a pesquisa à assistência envolvendo uma equipe de saúde multidisciplinar, permite estabelecer as interfaces da assistência ao paciente com dor e com a educação da equipe de saúde, tendo como prioridade o diagnóstico e tratamento aplicados. Pretende-se colaborar assim, para a concretização da aplicação do conhecimento aos pacientes, criando uma estrutura funcional para que o conhecimento gerado seja transferido ao paciente e à sociedade, podendo, sobretudo, auxiliar na elaboração de protocolos clínicos de diagnóstico e de tratamento. Este conjunto de ações visa qualificar o sistema de saúde com terapêuticas eficazes, baseadas no processo fisiopatológico e suportadas por desfechos clínicos relevantes. Desta forma, busca-se incrementar o desenvolvimento dos grupos de pesquisa envolvidos, colaborando tanto qualitativa quanto quantitativamente para o desempenho científico e tecnológico, auxiliando-se com isso, auxiliar o fortalecimento da pesquisa brasileira no cenário nacional e internacional.

10 ANEXOS

ANEXO A – Consentimento livre esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título: FUNÇÃO DO EIXO IMUNO-PINEAL NA ENDOMETRIOSE: MODULAÇÃO NORADENÉRGICA E ASPECTOS CRONOTERAPÊUTICOS.

Número do protocolo: _____

Instituição: Hospital de Clínicas de Porto Alegre- HCPA

Pesquisador Responsável: Dr. Wolnei Caumo – 9981-3977

Comitê de pesquisa e Ética em saúde do HCPA: (51) 2101-8304

Nome da Paciente: _____

Você está sendo convidado (a) a participar, se quiser, de um estudo denominado de: “FUNÇÃO DO EIXO IMUNO-PINEAL NA ENDOMETRIOSE: MODULAÇÃO NORADENÉRGICA E ASPECTOS CRONOTERAPÊUTICOS”. A sua participação é voluntária e caso decida não participar deste estudo, o seu atendimento clínico não será prejudicado.

1. OBJETIVOS DESSE ESTUDO

A finalidade desse estudo é avaliar a função do eixo relacionado com ritmos biológicos como: ritmo da temperatura, atividade repouso e secreções de substâncias que estão relacionados com estes ritmos. Será avaliada influência da endometriose na vida diária (ritmo, frequência e intensidade da dor e qualidade de vida).

2. EXPLICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

A senhora terá que responder aos questionários envolvidos na pesquisa, antes da consulta, durante as consultas, e em casa, durante nove (09) dias e nesse período responderá ao diário de dor e de sono, registrando o horário em que houve o pico da dor e o uso de analgésico complementar. Também, será coletado urina de 24 h no 8º dia, na noite do 9º dia receberá uma dose de antidepressivo tricíclicos e coletará urina de 24 h durante o 10º dia. Após este período a senhora será sorteada para receber melatonina 10mg/dia ou placebo (uma substância sem efeito terapêutico). O placebo será utilizado para realizar o cegamento do estudo e verificar o efeito da melatonina no eixo imune-pineal de pacientes com endometriose. O seu exame e tratamento serão realizados conforme o protocolo deste estudo. As coletas de sangue acontecerão no início e ao final do tratamento. Durante este período a senhora fará uso de dois dispositivos semelhantes a um relógio no pulso. Estes aparelhos servem para avaliarmos o seu ritmo de temperatura e atividade/repouso.

Se concordar, em participar do estudo terá que cooperar em todas as etapas do mesmo.

3. POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS

Um possível desconforto do presente estudo poderá ser sentido, por algumas pessoas, na coleta de sangue e de urina 24h.

4. POSSÍVEIS BENEFÍCIOS DESTES ESTUDOS

O tratamento que será avaliado visa diminuir a dor e melhorar a qualidade de vida. Sendo essa hipótese verdadeira. Com os resultados deste estudo poderemos obter informações importantes, sobre a relação entre a endometriose e a regulação do eixo pineal.

5. EXCLUSÃO DO ESTUDO

O investigador responsável poderá excluí-la do estudo, sem o seu consentimento, quando julgar necessário, para o melhor encaminhamento do seu caso ou se a Srª não cumprir o programa estabelecido.

6. DIREITO DE DESISTÊNCIA

A Srª pode desistir de participar a qualquer momento. Suas decisões de não participar ou de deixar a pesquisa, depois de iniciada, não afetará seu atendimento posterior.

7. PRIVACIDADE

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

8. CONSENTIMENTO

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 parte, voluntariamente, do presente estudo.

Assinatura do paciente

Assinatura da testemunha

Assinatura do pesquisador responsável

Porto Alegre, de de 20__.

HCPA / GPPG
VERSÃO APROVADA

21 / 10 / 2009
ME 09260

HCPA / GPPG
RECEBIDO
10 SET. 2009
Por Patrícia
Proj. nº 09260

18

ANEXO B - Questionário demográfico

CRONOFARMACOLOGIA E DOR - HCPA/CNPq (subárea 2.10.08.00-0)

Nome: _____ No banco: _____
 Data: _____ Entrevistador: _____ Testagem: _____



QUESTIONÁRIO DEMOGRÁFICO

Fone Residencial: _____		Celular: _____		CEP: _____	
Profissão: _____		Situação funcional: <input type="checkbox"/> Ativa <input type="checkbox"/> Desempregada <input type="checkbox"/> Em benefício			
End.Comercial: _____		Fone Comercial: _____			
Caso não possa ser encontrado falar com (recado):					
Nome: _____		Relacionamento: _____			
Residência: _____					
1	Peso (Kg): _____	Altura (cm): _____			
2	Estado civil:	(1) solteira	(2) casada	(3) separada	(4) Divorciada
3	Sexo:	(1) Masculino	(2) Feminino		
4	Escolaridade (anos de estudo): _____				
5	Empregado	(1) Sim	(2) Não		
6	Profissão: _____				
7	Turno de atividade:	(1) M	(2) T	(3) N	(4) INSS (Aposentada ou encostada)
8	Fuma?	(1) Sim	(2) Não		
9	Quantos cigarros por dia?	(NÚMERO DE CIGARROS, NÃO CARTEIRAS)			
10	Consome bebida alcoólica?	(1) Sim	(2) Não		
11	Você já usou alguma droga?	(1) Sim	(2) Não		
SE RESPOSTA POSITIVA, PROSSEGUE AS PERGUNTAS ABAIXO					
	Droga	Frequência de uso		Duração do uso:	
	Maconha				
	Haxixe				
	Cocaína				
	Crack				
	Alucinógenos (LSD, chá de cogumelo)				
	Solventes voláteis (Cola, Loló, Lança-perfume)				
	Anfetaminas (Hipofagin, Inibex, Ecstasy, Ritalina,				
	Outras (especificar)				
12	Você tem alguma doença diagnosticada?	(1) Sim	(2) Não		
	Doença	(1) Sim	(2) Não		
	Hipertensão				
	Infarto				
	Insuficiência cardíaca				
	Diabetes				
	Doença da tireóide				
	Epilepsia				
	Asma				

	Outras (ESPECIFIQUE)			
13	Tem diagnóstico de doença dos nervos (realizado por médicos)	(1) Sim	(2) Não	
14	Qual o diagnóstico?			
15	Há quanto tempo tem o diagnóstico?(MESES):			
16	Usa remédio para os nervos?	(1) Sim	(2) Não	
17	Se usa qual (is)	(1) Antidepressivo tricíclico (2) Antidepressivo serotoninérgico (3) Inibidor da MAO (4) Buspirona	(5) Benzodiazepínico (6) Carbamazepina (7) Fenobarbital (8) Ácido valpróico	
18	Região de maior dor?			
19	Quando foi a primeira vez que você notou a presença dessa dor?	(1) nas últimas duas semanas (2) dois a três meses (3) a partir de 3 a 6 meses (4) a partir de 6 meses a 1 ano	(5) a partir de 1 a 2 anos (6) a partir 2 a 5 anos (7) Há mais de 5 anos (8) Não se aplica	
20	Toma algum remédio para dor?	(1) Sim	(2) Não	
		Medicamento	Quantidade	Frequência
				%Alívio da dor
21	Você já procurou um serviço de emergência devido a dor?	(1) Sim	(2) Não	
22	Você já foi hospitalizado devido a dor?	(1) Sim	(2) Não	
23	Você já recebeu ou recebe benefícios financeiros devido a sua dor?(encostado, em benefício)	(1) Sim	(2) Não	
24	Em que hora do dia a sua dor é pior?	(1) Início da manhã (2) Final da manhã (3) Início da tarde (4) Fim da tarde	(5) À noite (6) Durante o sono (7) Não varia (8) Varia, mas não tem hora	
25	A dor lhe atrapalha para iniciar o sono?	(1) todas as noites (2) quase todas as noites	(3) algumas noites (4) nunca	
26	A dor lhe acorda durante a noite?	(1) todas as noites (2) quase todas as noites	(3) algumas noites (4) nunca	

ANEXO C - Diário de dor

CRONOFARMACOLOGIA E DOR – HCPA/CNPq (subárea 2.10.08.00-0)

Nome: _____ No banco: _____
 Data: _____ Entrevistador: _____ Testagem: _____



DIÁRIO DE DOR

Marque claramente na linha com um traço vertical.

O grau da dor **MAIS INTENSA QUE SENTIU NO DIA DE HOJE**

SEM DOR 0 _____ 10 PIOR DOR POSSÍVEL

1. Em que hora a sua dor é pior? _____
2. Tomou medicação analgésica para dor?
 Sim Não, A que horas? _____ Dosagem? _____

Avalie o grau da dor **MAIS INTENSA** nas seguintes situações:

AO URINAR

Sem dor 0 _____ 10 Pior dor possível

AO EVACUAR?

Sem dor 0 _____ 10 Pior dor possível

DURANTE A RELAÇÃO SEXUAL

Sem dor 0 _____ 10 Pior dor possível

Durante o **PERÍODO MENSTRUAL** do último mês.

Sem dor 0 _____ 10 Pior dor possível

ANEXO D - Diário de sono e dor

CRONOFARMACOLOGIA E DOR – HCPA/CNPq (subárea 2.10.08.00-0)

Nome: _____ No banco: _____
 Data: _____ Entrevistador: _____ Testagem: _____

**DIÁRIO DE SONO E DOR**

Avalie o grau da dor **MAIS INTENSA QUE SENTIU NAS ÚLTIMAS 24h.**
 Marque claramente na linha com um traço vertical.

0**10****SEM DOR****PIOR DOR POSSÍVEL**

1. Em que hora do dia a sua dor é pior? _____
2. Tomou medicação analgésica para dor?
 () Sim () Não, A que horas? _____ Dosagem? _____

QUESTIONÁRIO DIÁRIO DE SONO

As perguntas a seguir são referentes ao dia de ontem. Por favor, responda o mais fielmente possível.

1. A que horas você foi deitar ontem? ____:____ (horas e min.).
2. A que horas você acha que pegou no sono? ____:____ (horas e min.).
3. Você lembra-se de ter acordado e dormido de novo: 1. () Sim 2. () Não
Quantas vezes _____
4. Seu sono desta noite foi?

PÉSSIMO**ÓTIMO**

5. Comparando seu sono desta noite com o seu habitual, o desta noite foi:

PIOR**IGUAL****MELHOR**

6. A que horas você acordou hoje _____
7. Como você se sentiu ao acordar?

MUITO BEM**MUITO MAL**

8. Você dormiu a sesta ou cochilou durante o dia de ontem?

1. () Sim 2. () Não

Quantas vezes? _____ de que horas a que horas? _____

ANEXO E- Escala de depressão de Hamilton

CRONOFARMACOLOGIA E DOR – HCPA/CNPq (subárea 2.10.08.00-0)

Nome: _____ No banco: _____
 Data: _____ Entrevistador: _____ Testagem: _____



Escala de Depressão de Hamilton Todos os itens devem ser preenchidos. Assinalar o número apropriado	
<p>1. HUMOR DEPRIMIDO (Tristeza, desesperança, desamparo, inutilidade).</p> <p>0. Ausente 1. Sentimentos relatados apenas ao ser inquirido. 2. Sentimentos relatados espontaneamente com palavras. 3. Comunica os sentimentos não com palavras, isto é, com a expressão facial, a postura, a voz e a tendência ao choro. 4. Sentimentos deduzidos da comunicação verbal e não-verbal do paciente.</p> <p>2. SENTIMENTOS DE CULPA</p> <p>0. Ausente 1. Auto-recriminação; sente que decepcionou os outros. 2. Idéias de culpa ou ruminção sobre erros passados ou más ações. 3. A doença atual é um castigo. 4. Ouve vozes de acusação ou denúncia e/ou tem alucinações visuais ameaçadoras.</p> <p>3. SUICÍDIO</p> <p>0. Ausente. 1. Sente que a vida não vale a pena. 2. Desejaria estar morto ou pensa na probabilidade de sua própria morte. 3. Idéias ou gestos suicidas. 4. Tentativa de suicídio (qualquer tentativa séria, marcar 4).</p> <p>4. INSÔNIA INICIAL</p> <p>0. Sem dificuldades para conciliar o sono. 1. Queixa-se de dificuldade ocasional para conciliar o sono, isto é, mais de meia hora. 2. Queixa-se de dificuldade para conciliar o sono todas as noites.</p> <p>5. INSÔNIA INTERMEDIÁRIA</p> <p>0. Sem dificuldades. 1. O paciente se queixa de inquietude e perturbação durante a noite. 2. Acorda à noite - qualquer saída da cama marcar 2 (exceto para urinar).</p> <p>6. INSÔNIA TARDIA</p> <p>0. Sem dificuldades. 1. Acorda de madrugada, mas volta a dormir 2. Incapaz de voltar a conciliar o sono se deixar a cama.</p>	<p>12. SINTOMAS SOMÁTICOS GASTROINTESTINAIS.</p> <p>0. Nenhum 1. Perda de apetite, mas alimenta-se voluntariamente. Sensações de peso no abdômen 2. Dificuldade de comer se não insistirem. Solicita ou exige laxativos ou medicações para os intestinos ou para sintomas digestivos.</p> <p>13. SINTOMAS SOMÁTICOS EM GERAL</p> <p>0. Nenhum 1. Peso nos membros, nas costas ou na cabeça. Dores nas costas, cefaléia, mialgias. Perda de energia e cansaço. 2. Qualquer sintoma bem caracterizado e nítido, marcar 2.</p> <p>14. SINTOMAS GENITAIS</p> <p>Sintomas como: perda da libido, distúrbios menstruais 0. Ausentes 1. Leves 2. Intensos</p> <p>15. HIPOCONDRIA</p> <p>0. Ausente 1. Auto-observação aumentada (com relação ao corpo) 2. Preocupação com a saúde 3. Queixas freqüentes, pedidos de ajuda, etc. 4. Idéias delirantes hipocondríacas.</p> <p>16. PERDA DE PESO (Marcar A ou B)</p> <p>A. Quando avaliada pela história clínica 0. Sem perda de peso. 1. Provável perda de peso associada à moléstia atual. 2. Perda de peso definida (de acordo com o paciente) 3. Não avaliada.</p> <p>B. Avaliada semanalmente pelo psiquiatra responsável, quando são medidas alterações reais de peso 0. Menos de 0,5 Kg de perda por semana. 1. Mais de 0,5 Kg de perda por semana. 2. Mais de 1 Kg de perda por semana. 3. Não avaliada.</p> <p>17. CONSCIÊNCIA</p> <p>0. Reconhece que está deprimido e doente. 1. Reconhece a doença, mas atribui-lhe a causa à má alimentação, ao clima, ao excesso de trabalho, a vírus, à necessidade de repouso, etc. 2. Nega estar doente.</p>

ANEXO F- Escala de pensamento catastrófico sobre a dor

CRONOFARMACOLOGIA E DOR – HCPA/CNPq (subárea 2.10.08.00-0)

Nome: _____ No banco: _____
 Data: _____ Entrevistador: _____ Testagem: _____



Escala de Pensamento Catastrófico sobre a Dor

Idade: _____ Sexo: M F Data: ____ / ____ / ____

Escolaridade (anos completos de estudo, excluir Mobral): _____

Instruções: Listamos 13 declarações que descrevem diferentes pensamentos e sentimentos que podem lhe aparecer na cabeça quando sente dor. Indique o *GRAU* destes pensamentos e sentimentos quando está com dor

1	A preocupação durante todo o tempo com a duração da dor é	0	1	2	3	4
		Mínima	leve	Moderada	Intensa	Muito intensa
2	O sentimento de não poder prosseguir (continuar) é	0	1	2	3	4
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso
3	O sentimento que a dor é terrível e que não vai melhorar é	0	1	2	3	4
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso
4	O sentimento que a dor é horrível e que você não vai resistir é	0	1	2	3	4
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso
5	O pensamento de não poder mais estar com alguém é	0	1	2	3	4
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso
6	O medo que a dor pode se tornar ainda pior é	0	1	2	3	4
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso
7	O pensamento sobre outros episódios de dor é	0	1	2	3	4
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso
8	O desejo profundo que a dor desapareça é	0	1	2	3	4
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso
9	O sentimento de não conseguir tirar a dor do pensamento é	0	1	2	3	4
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso
10	O pensamento que ainda poderá doer mais é	0	1	2	3	4
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso
11	O pensamento que a dor é grave porque ela não quer parar é	0	1	2	3	4
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso
12	O pensamento de que não há nada para fazer para diminuir a intensidade da dor é	0	1	2	3	4
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso
13	A preocupação que alguma coisa ruim pode acontecer por causa da dor é	0	1	2	3	4
		Mínima	leve	Moderada	Intensa	Muito intensa

ANEXO G- Questionário Saúde SF-12

CRONOFARMACOLOGIA E DOR – HCPA/CNPq (subárea 2.10.08.00-0)

Nome: _____ No banco: _____
 Data: _____ Entrevistador: _____ Testagem: _____



QUESTIONÁRIO SAÚDE SF-12

INSTRUÇÕES: Queremos saber sua opinião sobre sua saúde. Essa informação nos ajudará, a saber, como o (a) Sr(a). se sente e como é capaz de fazer suas atividades do dia-a-dia. Responda cada questão indicando a resposta certa. Se estiver em dúvida sobre como responder a questão, por favor, responda da melhor maneira possível.

1. Em geral, o (a) Sr(a). diria que sua saúde é:

- (marque um)
- Excelente 1
 Muito boa 2
 Boa 3
 Regular 4
 Muito ruim 5

As perguntas seguintes são sobre coisas que o (a) Sr(a). faz, na média, no seu dia a dia (dia típico /comum).

2. O (A) Sr(a). acha que sua saúde, agora, o dificulta de fazer algumas coisas do dia a dia, como por exemplo:

2A. Atividades médias (como mover uma cadeira, fazer compras, limpar a casa, trocar de roupa)?

- 1 sim, dificulta muito
 2 sim, dificulta um pouco
 3 não, não dificulta de modo algum

2B. O (A) Sr(a). acha que sua saúde, agora, o dificulta de fazer algumas coisas do dia a dia, como por exemplo: subir três ou mais degraus de escada.

- 1 sim, dificulta muito
 2 sim, dificulta um pouco
 3 não, não dificulta de modo algum

3. Durante as últimas 4 semanas, o (a) Sr(a). teve algum dos seguintes problemas com o seu trabalho ou em suas atividade do dia a dia, como por exemplo:

3A. Fez menos do que gostaria, por causa de sua saúde física?

- 1 sim 2 não

3B. Durante as últimas 4 semanas, o (a) Sr(a). teve algum dos seguintes problemas com o seu trabalho ou em suas atividade do dia a dia, como por exemplo: sentiu-se com dificuldade no trabalho ou em outras atividades, por causa de sua saúde física?

- 1 sim 2 não

4. Durante as últimas 4 semanas, o (a) Sr(a). teve algum dos seguintes problemas, como por exemplo:

4A. Fez menos do que gostaria, por causa dos problemas emocionais?

- 1 sim 2 não

4B. Durante as últimas 4 semanas, o (a) Sr(a). teve algum dos seguintes problemas, como por exemplo: deixou de fazer seu trabalho, ou outras atividades cuidadosamente, como de costume, por causa dos problemas emocionais?

- 1 sim 2 não

5. Durante as últimas 4 semanas, alguma dor atrapalhou seu trabalho normal(tanto o trabalho de casa o de for a de casa)?

- 1 não, nenhum pouco
 2 um pouco
 3 Moderadamente
 4 Bastante
 5 Extremamente

Estas questões são sobre como o (a) Sr(a). se sente e como as coisas tem andado para o (a) Sr(a). durante as últimas 4 semanas. Para cada questão, por favor, dê uma resposta que mais se assemelha à maneira como o (a) Sr(a). vem se sentindo.

6. Quanto tempo durante as últimas 4 semanas:

6A. O (A) Sr(a). tem se sentido calmo e tranqüilo?

- 1 todo o tempo
 2 a maior parte do tempo
 3 uma boa parte do tempo
 4 alguma parte do tempo
 5 uma pequena parte do tempo
 6 nem um pouco do tempo

6B. Quanto tempo durante as últimas 4 semanas: o (a) Sr(a). teve bastante energia?

- 1 todo o tempo
 2 a maior parte do tempo
 3 uma boa parte do tempo
 4 alguma parte do tempo
 5 uma pequena parte do tempo
 6 nem um pouco do tempo

6C. Quanto tempo durante as últimas 4 semanas: o (a) Sr(a). sentiu-se desanimado e deprimido?

- 1 todo o tempo
 2 a maior parte do tempo
 3 uma boa parte do tempo
 4 alguma parte do tempo
 5 uma pequena parte do tempo
 6 nem um pouco do tempo

7. Durante as últimas 4 semanas, em quanto do seu tempo a sua saúde ou problemas emocionais atrapalharam suas atividades sociais, tais como: visitar amigos, parentes, sair, etc?

- 1 todo o tempo
 2 a maior parte do tempo
 3 uma boa parte do tempo
 4 alguma parte do tempo
 5 uma pequena parte do tempo
 6 nem um pouco do tempo

ANEXO H- Who - Bem estar (Versão 1998)

CRONOFARMACOLOGIA E DOR - HCPA/CNPq (subárea 2.10.08.00-0)

 Nome: _____ No banco: _____
 Data: _____ Entrevistador: _____ Testagem: _____
**WHO – Bem estar (Versão 1998)**

Por favor, marque a alternativa que melhor descreva como a Sra./Sr. tenha se sentido nas últimas duas semanas.

Nas últimas duas semanas...	O tempo todo	A maioria do tempo	Mais do que a metade do tempo	Menos do que a metade do tempo	Às vezes	Em nenhum momento
... eu estava alegre e de bom humor	5	4	3	2	1	0
... me senti calmo e relaxado	5	4	3	2	1	0
... me senti disposto e renovado ao acordar	5	4	3	2	1	0
... me senti cheio de energia e ativo	5	4	3	2	1	0
... o meu dia foi cheio de coisas que me interessavam	5	4	3	2	1	0

A Escala de Auto-Eficácia Geral Percepcionada*Formato das Respostas:*

1 = De modo nenhum é verdade	2 = Difícilmente é verdade	3 = Moderadamente verdade	4 = Exatamente verdade
-------------------------------------	-----------------------------------	----------------------------------	-------------------------------

1	Eu consigo resolver sempre os problemas difíceis se eu tentar bastante.	1	2	3	4
2	Se alguém se opuser, eu posso encontrar os meios e as formas de alcançar o que eu quero.	1	2	3	4
3	É fácil para mim, agarrar-me às minhas intenções e atingir os meus objetivos.	1	2	3	4
4	Eu estou confiante que poderia lidar, eficientemente, com acontecimentos inesperados.	1	2	3	4
5	Graças ao meu desembaraço, eu sei como lidar com situações imprevistas.	1	2	3	4
6	Eu posso resolver a maioria de problemas se eu investir o esforço necessário.	1	2	3	4
7	Eu posso manter-me calmo ao enfrentar dificuldades porque eu posso confiar nas minhas capacidades para enfrentar as situações.	1	2	3	4
8	Quando eu sou confrontado com um problema, geralmente eu consigo encontrar diversas soluções.	1	2	3	4
9	Se eu estiver com problemas, geralmente consigo pensar em algo para fazer.	1	2	3	4
10	Quando tenho um problema pela frente, geralmente ocorrem-me várias formas para resolvê-lo.	1	2	3	4