

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

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA DE CORRENTE CONTÍNUA NOS
SINTOMAS VASOMOTORES DO CLIMATÉRIO: ESTUDO PILOTO
RANDOMIZADO, CEGO, EM PARALELO, CONTROLADO COM PLACEBO-SHAM**

CAROLINA DE CASTRO PEREIRA

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre, Abril de 2014

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

EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA DE CORRENTE CONTÍNUA NOS
SINTOMAS VASOMOTORES DO CLIMATÉRIO: ESTUDO PILOTO
RANDOMIZADO, CEGO, EM PARALELO, CONTROLADO COM PLACEBO-SHAM

CAROLINA DE CASTRO PEREIRA

Dissertação de Mestrado

Orientador: Profa. Dra. Maria Celeste Osório Wender

Co-orientador: Prof. Dr. Wolnei Caumo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Medicina: Ciências Médicas, UFRGS,
como requisito para obtenção do título de Mestre

Porto Alegre, Abril de 2014

CIP - Catalogação na Publicação

PEREIRA, CAROLINA DE CASTRO
EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA DE CORRENTE
CONTÍNUA NOS SINTOMAS VASOMOTORES DO CLIMATÉRIO:
ESTUDO PILOTO RANDOMIZADO, CEGO, EM PARALELO,
CONTROLADO COM PLACEBO-SHAM / CAROLINA DE CASTRO
PEREIRA. -- 2014.
49 f.

Orientadora: MARIA CELESTE OSÓRIO WENDER.
Coorientador: 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, 2014.

1. CLIMATÉRIO. 2. TDCS. 3. SINTOMAS VASOMOTORES.
I. WENDER, MARIA CELESTE OSÓRIO, orient. II. Caumo,
Wolnei, coorient. III. Título.

Dedicatória

Para Hugo Marcelo Veit, por ser o melhor parceiro para as minhas aventuras.

Agradecimentos

À minha orientadora, Maria Celeste Osório Wender, pela paciência e confiança, embora nem sempre eu tenha sido merecedora.

Agradeço ao professor Wolnei Caumo pelo auxílio.

Para Alícia Deitos, para quem sinto-me realmente em dívida, pelo auxílio dos primeiros aos últimos passos – aplicar o tDCS, tirar dúvidas por email ou telefone, ensinar a coletar amostras, análise de BDNF. Sempre com bom humor e disposição. A generosidade é a principal qualidade daquele que realmente sabe.

Para Gabriela Laste, pelo tempo dispendido em preparar e analisar amostras de BDNF que sequer eram dela. Tudo isso na véspera do Carnaval.

Ninguém torna-se responsável de um dia para outro. Já se sabe, com antecedência, aqueles que serão bons médicos no futuro. Portanto, posso dizer que meus auxiliares de pesquisa, os estudantes Atauine Pereira Lummertz, Vitória Schütt Zizemer, Luiza Benetti Fracasso e Vinícius Timm Toniazzo, pela responsabilidade, pelo interesse e pela seriedade com que trabalharam na pesquisa, sem esperar retorno, com certeza, terão carreiras exemplares na profissão.

Aos meus colegas de Hospital Fêmeina, Luciane Franco, Mário Smith, João Paulo Bilibio e Clarissa Amaral, pelas inúmeras vezes que me substituíram enquanto eu precisava ir e voltar do Hospital de Clínicas, para aulas ou para o tratamento das pacientes.

Agradeço ao Hugo, e ele sabe o porquê.

“...de qualquer luta ou descanso me levantarei forte e bela como um cavalo novo...”

Clarice Lispector

Resumo

Introdução: Climatério, ou transição menopáusica, é definido como o período onde ocorre a mudança de vida reprodutiva para não reprodutiva, com extensão de duração variável. Durante esse período, e após o estabelecimento da menopausa, é comum o surgimento de diversos sintomas que expressam o esgotamento dos folículos ovarianos; sendo os sintomas vasomotores, ou fogachos, os mais comumente relatados pelas mulheres. Atualmente, Terapia Hormonal, bem como os Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina, têm sido empregadas na tentativa de melhorar estes sintomas. As medicações não hormonais, apesar de apresentarem melhores respostas que placebo, ainda demonstram pouco impacto clínico na redução dos sintomas vasomotores. Esta lacuna permite avaliar outras alternativas terapêuticas, como a Estimulação Transcraniana por Corrente Direta (ou tDCS, do inglês *transcranial direct current stimulation*). Objetivo: avaliar a diminuição no número de episódios de sintomas vasomotores em pacientes tratadas com aplicação de tDCS e placebo-sham, além de testar os efeitos do tDCS sobre o processo de neuroplasticidade, através da medida sérica de BDNF. Métodos: foram selecionadas nove pacientes pós-menopausicas com queixa de ao menos 5 episódios diários de sintomas vasomotores. Estas pacientes foram randomizadas para um dos grupos, tDCS (tratamento ativo) ou placebo-sham. O tratamento consistiu na aplicação de sessões diárias de estimulação com corrente elétrica de 02 mili Ampere, pelo período de dez dias consecutivos. Após uma semana e um mês de tratamento, as pacientes registravam o número de fogachos ao dia, e respondiam ao *Women's Health Questionnaire* (WHQ). No primeiro e no último dia de tratamento, foram coletadas amostras sanguíneas para dosagem de BDNF. Resultados: comparando o número médio de sintomas vasomotores (fogachos) ao dia, durante o período de sete dias, não houve diferença significativa entre os dois grupos, assim como nos níveis de BDNF e no WHQ. Conclusão: no momento, não podemos descartar o uso de tDCS no tratamento dos sintomas vasomotores, em virtude de pequeno número de pacientes avaliadas nesta pesquisa. Será mantido o acompanhamento das pacientes avaliadas até esse momento, e o tratamento será aplicado em novas mulheres com sintomas vasomotores.

Palavras-Chave: Transição Menopáusicas, Menopausa, Sintomas Vasomotores, Fogachos, Estimulação Transcraniana por Corrente Direta

Abstract

Background: Climacteric or Menopausal Transition is defined as the time period where there is a change to non-reproductive reproductive life, with extension of variable length. During this period, and after the establishment of Menopause and non-functioning ovarian, the appearance of various symptoms that express the depletion of ovarian follicles is common; among these symptoms, the most frequently reported by women are vasomotor symptoms or hot flashes. In addition to hormonal therapy, other medications have been employed in an attempt to improve these symptoms; although they present better results than placebo, yet have little clinical impact in reducing vasomotor symptoms. Therefore, this gap allows the evaluation of alternative therapies, such as Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS).

Objective: evaluate the decrease in the number of episodes of vasomotor symptoms in patients treated with tDCS and placebo –sham, beyond testing the effects of tDCS on the neuroplasticity process through measurement of serum BDNF.

Methods: nine post-menopausal women with at least 5 episodes of hot flashes/day were selected. These patients were randomized to one of the groups, tDCS (active treatment) or placebo-sham. The treatment consisted in daily application sessions of stimulation with electrical current of 02 mA, for ten consecutive days. After one week and one month of treatment, patients recorded the number of hot flashes per day, and answered the *Women's Health Questionnaire (WHQ)*. In the first and in the last day of treatment, blood samples were collected for measurement of BDNF.

Results: Comparing the average number of vasomotor symptoms (hot flashes) per day during the period of seven days, there was no significant difference between the two groups, and there were no differences in the levels of BDNF and WHQ.

Conclusion: we can not rule out the use of tDCS in the treatment of vasomotor symptoms, because of the small number of patients evaluated in this study. Monitoring of these patients will be kept, and treatment will be applied to other women with vasomotor symptoms.

Keywords: Menopausal Transition, Vasomotor Symptoms, Transcranial direct current stimulation

Lista de Tabelas

Table 1 - Clinical characteristics of evaluated patients	24
Table 2 - mean number of hot flashes pre and post treatment, in both groups	24
Table 3 - BDNF values for each patient, pre and post treatment.....	26
Table 4 - WHQ mean values	26

Lista de Figuras

Figure 1 - Severe hot flashes, pre and post treatment, in tDCS group and placebo-sham group (Mann Whitney test)	25
---	----

Lista de Abreviaturas

tDCS - *Transcranial direct current stimulation*

BDNF – *Brain-derived neurotrophic factor*

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

TH – Terapia Hormonal

WHI – Women's Health Initiative

ISRS – Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina

WHQ – *Women's Health Questionnaire*

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Sumário

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1	Menopausa	4
2.2	Sintomas Vasomotores	5
2.3	Transcranial direct current stimulation – tDCS	7
2.4	BDNF - Brain-derived neurotrophic fator	8
2.5	Qualidade de vida na pós menopausa	9
3	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
4	JUSTIFICATIVA.....	18
5	OBJETIVOS	18
5.1	Objetivo Principal:	18
5.2	Objetivos Secundários:	18
6	ARTIGO EM INGLÊS	19
6.1	Abstract	19
6.2	Introduction	20
6.3	Methods	21
6.3.1	Design overview, setting, and participants	21
6.3.2	Interventions	22
6.3.3	Randomization and masking	22
6.3.4	Sample size justification	22
6.3.5	Instruments and assessment	23
6.3.6	Statistical analysis.....	23
6.4	Results	23
6.4.1	Patients characteristics	23
6.4.2	Analysis of the main outcome: number of hot flashes per day.....	24
6.4.3	Secondary outcomes: BDNF and Women´s Health Questionnaire.....	25
6.5	Discussion.....	26
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
8	ANEXOS	30

1 INTRODUÇÃO

Define-se o Climatério ou Transição Menopáusica como a fase que marca a transição da vida reprodutiva para a não reprodutiva, podendo se estender por tempo variável. A menopausa resulta da secreção diminuída dos hormônios ovarianos, em especial o estradiol, quando há depleção do estoque finito de folículos ovarianos. A menopausa é definida após 12 meses de amenorréia; pode ocorrer, ainda, devido a cirurgias, quimioterapia ou radiação. Inicialmente, o ciclo menstrual torna-se irregular, e há o aumento nos níveis de Hormônio Folículo Estimulante (FSH), numa resposta fisiológica ao decréscimo nas concentrações de estrogênio. À medida que a transição menopáusica progride, os ciclos menstruais e, conseqüentemente, a ovulação, falham. A idade média de ocorrência da menopausa varia em torno dos 51 anos, podendo ocorrer prematuramente, em mulheres com menos de 40 anos, ou mais tardiamente, aos 55 anos [1, 2].

A diminuição ou falta dos hormônios sexuais femininos pode afetar vários sistemas e determina sinais e sintomas conhecidos pelo nome de síndrome climatérica (sintomas vasomotores, alterações emocionais, ressecamento de mucosas), que pode causar grande prejuízo à qualidade de vida. Atualmente, o principal tratamento oferecido a essas é a Terapia Hormonal (TH). O uso de estrogênios e progestagênios oferece alívio parcial ou total dos sintomas climatéricos, sendo objeto de estudo de diversos artigos [3, 4, 5, 6].

Dentro da Síndrome Climatérica, os sintomas vasomotores são os mais comumente relatados, sendo descritos em mais de 50% das pacientes. São normalmente descritos como sensações de calor, geralmente no tórax, pescoço e face, associados ainda a palpitações e ansiedade. Os episódios variam em freqüência, duração e severidade, com duração de menos de cinco minutos. Podem ser desencadeados por mudanças na temperatura ambiente, comidas ou bebidas quentes, ou stress. Muitas mulheres relatam que tais sintomas interferem em atividades diárias ou no sono. Além disso, tais sintomas podem persistir por vários anos após a menopausa.

O mecanismo responsável pelos sintomas vasomotores ainda não é totalmente compreendido. Uma possibilidade é de que as concentrações reduzidas

de estrogênio poderiam diminuir a concentração de endorfinas no hipotálamo, aumentando a liberação de norepinefrina e de serotonina e alterando o *set point* do núcleo termorregulador [7, 8, 9]

Apesar de ser a primeira escolha para o tratamento dos sintomas climatéricos, o uso indiscriminado da TH mostrou que pode trazer prejuízos em determinados grupos de mulheres. O estudo WHI - *Women's Health Initiative*, mostrou que o uso da TH em pacientes mais idosas, ou com mais de dez anos de menopausa, não trazia benefícios, além de mostrar maiores taxas de eventos cardiovasculares. Pacientes com história de câncer de mama apresentam contra-indicação absoluta ao uso de TH. Nessas situações, outros fármacos, como os Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina, têm sido usados como tratamento, com resultados inferiores à TH. Mantém-se a busca, portanto, por outras opções terapêuticas para sintomas climatéricos [10, 11, 12, 13].

A aplicação de corrente elétrica para modificar a função cerebral é técnica antiga, mencionada há mais de 200 anos. Estudos em animais mostraram que a aplicação de correntes fracas pode induzir atividade cortical, diminuição da excitabilidade neuronal, entre outros achados. Observou-se, ainda, que tais modificações permaneciam mesmo após a cessação do estímulo, envolvendo sínteses protéicas e níveis de AMP cíclico e cálcio intracelular. A aplicação transcraniana de correntes fracas também induz um fluxo de corrente intracerebral grande o suficiente para alterar a atividade neuronal e o comportamento [14].

A Estimulação Direta Transcraniana (tDCS, da sigla em inglês para *transcranial direct current stimulation*) de diferentes áreas corticais mostrou modificação nas funções cognitivas e comportamentais. Sua aplicação em doenças psiquiátricas e neurológicas tem sido amplamente pesquisada, mas ainda não há relatos de estudos na área da Ginecologia, especificamente nos Sintomas Climatéricos [15, 16, 14].

O tDCS difere qualitativamente de outras técnicas como a estimulação elétrica transcraniana e a estimulação magnética transcraniana, não induzindo potenciais de ação neuronais, pois os campos estáticos nesta gama não produzem a despolarização rápida requerida para produzir potenciais de ação nas membranas

neurais. Desta maneira, o tDCS pode ser considerado como uma intervenção neuromodulatória. Outro parâmetro importante é a duração do estímulo no tDCS. Com uma densidade de corrente constante, o aumento na duração do estímulo determina a ocorrência e duração de pós-efeitos em humanos e animais [17, 18].

Além do efeito em sintomas depressivos, o tDCS pode apresentar efeitos em outros sintomas mediados pelo Sistema Nervoso Autônomo e pelo eixo neuro-psico-imune-endócrino, incluindo a atividade anti-inflamatória mediada por interleucinas e a produção de cortisol. Outra questão pouco estudada são os efeitos da neuromodulação na expressão de BDNF, um marcador de depressão e de dor. Sendo o BDNF um marcador de neuroplasticidade, as técnicas neuromodulatórias poderiam alterar a expressão desta neurotrofina [19, 20].

O tDCS apresenta poucos efeitos adversos; dentre os relatados, temos desconforto ou prurido no local da aplicação, eritema de pele, leve tontura ou náusea, cefaléia e sonolência.

Em virtude da possibilidade de alterações neuronais sem caráter invasivo, e pela ausência de estudos na área, este projeto pretende avaliar o uso de uma nova técnica, o tDCS, de uso em áreas como Psiquiatria e Neurologia, no alívio de sintomas vasomotores em mulheres pós menopáusicas. Além do caráter inovador, a técnica descrita apresenta mínimos paraefeitos relatados, o que torna plausível seu uso. O objetivo deste estudo é avaliar a melhora dos sintomas vasomotores, de mulheres pós menopáusicas, que receberam sessões com tDCS, e compará-los com um grupo placebo sham. O uso de placebo justifica-se, pois revisão sistemática mostrou diminuição da frequência de fogachos de até 51% em grupos tratados com placebo.

Sintomas vasomotores são a principal queixa de mulheres na peri e pós-menopausa. Apesar da grande eficácia da Terapia Hormonal no alívio dos sintomas vasomotores, há efeitos adversos relacionados ao seu uso. Além disso, um número considerável de mulheres não quer ou não pode usar TH, devido às contra-indicações. Busca-se, cada vez mais, pela qualidade de vida da mulher na pós menopausa, tentando-se oferecer novas possibilidades terapêuticas. O tDCS, método de neuromodulação, já amplamente estudada em outras áreas, com bons resultados, traz vantagens a simplicidade de uso, não ser invasivo, baixo custo, aspectos que reforçam sua aplicação no tratamento de sintomas vasomotores.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *Menopausa*

Menopausa é definida clinicamente pela ausência de ciclos menstruais pelo período de 12 meses, associado a altos níveis de FSH. A idade média de ocorrência da menopausa nas mulheres é em torno dos 51 anos. A transição menopáusicas, período que antecede a falência ovariana definitiva, inicia em torno dos 45 anos, podendo durar, normalmente, 4 a 5 anos [1, 21, 22]

A cessação dos ciclos menstruais na mulher ocorre os folículos ovarianos já não secretam mais, adequadamente, os hormônios ovarianos, estradiol e progesterona. Inicialmente, os ciclos menstruais tornam-se irregulares, com aumento progressivo do FSH, em virtude da diminuição dos hormônios ovarianos. Isso ocorre porque, na mulher, o estoque de folículos ovarianos, passíveis de ovular e possibilitar a gestação, são finitos. Ao nascer, a mulher apresenta cerca de 650 mil folículos ovarianos, que vão continuamente entrando em apoptose. No período da menarca, esse valor já reduziu para cerca de 250 a 300 mil. Dentre desse grupo, apenas alguns poucos sofrerão a ação do FSH e do LH e culminarão em ovulação. Os demais entrarão em apoptose, até que, no período da menopausa, não há mais folículos remanescentes.

A menopausa, normalmente, é processo fisiológico. No entanto, cirurgias pélvicas, especialmente no ovário e tratamentos oncológicos (radio e quimioterapia) podem antecipar a atividade ovariana precocemente. Além disso, alguns estudos sugerem que tabagismo, baixas condições socioeconômicas, idade da menarca, paridade, índice de massa corporal e história familiar podem afetar a idade da menopausa. A idade da menopausa também varia conforme o país avaliado.

A menopausa, além de definir para a mulher o fim do seu período reprodutivo, o que, por si só, geralmente é causador de stress, costuma se acompanhar de sinais e sintomas que, juntos, denomina-se Síndrome Climatérica. Sintomas vasomotores (fogachos ou calorões), atrofia vaginal, sintomas urinários, insônia, labilidade emocional, são as queixas referidas pelas pacientes [21, 22].

Os sintomas menopáusicos variam de intensidade, frequência e duração, podendo sequer acometerem pacientes [1]. Não se sabe exatamente quais mecanismos ocorrem para que tal variação ocorra. Sabe-se que a diminuição dos hormônios ovarianos atinge vários tecidos; as queixas urogenitais, por exemplo, ocorrem por resposta fisiológica a diminuição de estradiol e andrógenos. Há fluxo vascular diminuído na vagina, diminuição de secreções vaginais, mudança nas mucosas e no pH vaginal, de ácido para neutro, causando sensação de ressecamento vaginal, prurido e dispareunia.

Estudos sugerem que a Síndrome Climatérica está, na verdade, definida pelos sintomas vasomotores e urogenitais, sendo que os sintomas emocionais associados, como insônia, ansiedade, depressão e instabilidade no humor, são originados daqueles [23].

2.2 Sintomas Vasomotores

Sintomas vasomotores, fogachos ou calorões, são os mais comumente citados pelas pacientes menopáusicas [1, 21, 22]. São caracterizados por sensação súbita de calor, especialmente no tórax, pescoço e face, associados a suor, palpitações e ansiedade. Variam de frequência, duração, severidade e recorrência. A duração média é menor que cinco minutos, mas essa descrição varia enormemente entre as pacientes. A maioria das mulheres apresentam fogachos por dois anos, mas cerca de 15% podem manter os sintomas por até 30 anos [24].

Algumas vezes, os fogachos podem ter como gatilho mudanças na temperatura, ingestão de comidas ou bebidas quentes, ou stress. Os episódios, conforme sua característica, podem interferir na atividade diária ou no sono da mulher, a ponto de necessitar tratamento. São, geralmente, os primeiros sintomas observados pelas pacientes, já na Transição Menopáusicas.

Os mecanismos causadores dos sintomas vasomotores ainda não são totalmente entendidos [25].

Uma das teorias está associada a uma disfunção do núcleo termoregulatório,

essencial para a homeostasia e manutenção da temperatura corporal através da zona termoregulatória (ZT). Suores ocorrem quando a temperatura corporal situa-se acima da ZT, enquanto que calafrios surgem quando o limite inferior da ZT foi ultrapassado. Mulheres que sofrem de sintomas vasomotores apresentam uma ZT menor, mais facilmente de ter seus limites ultrapassados [26].

Além disso, a diminuição nos níveis de estrogênio também diminuiria as concentrações de endorfina no hipotálamo, aumentando a secreção de norepinefrina, e levando ao up-regulation dos receptores de serotonina no hipotálamo, envolvidos na mesma regulação da temperatura. Esses neurotransmissores diminuem o set point do núcleo termoregulatório, desencadeando uma perda inapropriada de calor, o que causaria o fogacho [1, 24, 27, 28, 29, 30]. Receptores α -2 centrais são afetados pela diminuição dos estrogênios, também aumentando os níveis de norepinefrina. Essa ativação dos sistemas noradrenérgicos e serotoninérgico podem diminuir o limite superior da ZT, aumentando a possibilidade de ocorrência de fogachos [30, 31].

No entanto, apenas a diminuição absoluta dos níveis de estrogênio pós menopausa não podem ser considerados os únicos responsáveis pelo surgimento e manutenção dos sintomas vasomotores. A medida sérica de estrogênios no plasma, na urina ou na vagina não teve correlação com surgimento ou severidade de sintomas [31]. Da mesma forma, nem todas as pacientes tratadas com Terapia Hormonal têm melhora nos sintomas vasomotores.

O sistema opióide também já foi avaliado como causa de sintomas vasomotores mas, até o momento, não há evidências que suportem essa idéia [31].

Pesquisas recentes sugerem um papel dos neurônios hipotalâmicos Kisspeptina, Neurocinina B e Dinorfina (KNDy) no mecanismo dos sintomas vasomotores [32]. Estudos post mortem feitos no hipotálamo de mulheres menopausadas mostraram uma hipertrofia na população desses neurônios no núcleo arqueado [33, 34], sugerindo que a diminuição do estrogênio sérico poderia ser responsável por essas alterações, muito embora não há estudos mostrando qualquer ação destes neurônios na termoregulação.

2.3 Transcranial direct current stimulation – tDCS

A aplicação de corrente elétrica para modificar a função cerebral é técnica antiga, mencionada há mais de 200 anos. Estudos em animais mostraram que a aplicação de correntes fracas pode induzir atividade cortical, diminuição da excitabilidade neuronal, entre outros achados. Observou-se, ainda, que tais modificações permaneciam mesmo após a cessação do estímulo, envolvendo sínteses protéicas e níveis de AMP cíclico e cálcio intracelular. A aplicação transcraniana de correntes fracas também induz um fluxo de corrente intracerebral grande o suficiente para alterar a atividade neuronal e o comportamento [35, 36, 37].

Os experimentos de Luigi Galvani foram determinantes para cunhar o termo “correntes galvânicas” como significado de indução de corrente direta em tecidos. Após isso, foi iniciado o uso das correntes galvânicas na Medicina Clínica, mais especificamente em distúrbios mentais, além do uso em técnicas de estimulação ou sedação [38].

O funcionamento do tDCS ocorre devido à excitação das fibras nervosas corticais geradas pela corrente elétrica aplicada. Um eletrodo é o ânodo (eletrodo negativo) e o outro é o cátodo (eletrodo positivo). O fluxo de corrente move-se do ânodo para o cátodo, passando pelo escalpo, provocando aumento ou diminuição da excitabilidade cortical, que é dependente da polaridade da estimulação [35]. A excitabilidade cortical aumenta pela estimulação anódica, enquanto que a estimulação catódica a diminui. Dessa forma, o cátodo estimulado diminui o potencial de repouso da membrana, hiperpolarizando os neurônios; o estímulo anódico, ao aumentar o potencial da membrana, causa depolarização neuronal [39].

A escolha do local de colocação do ânodo e do cátodo tem, por objetivo, modular a excitabilidade do cérebro, estimulando estruturas neuronais hipoativas ou inibindo estruturas neuronais hiperativas. Vai depender, na maioria dos casos, de qual sintoma quer se tratar [35, 40].

O tDCS difere qualitativamente de outras técnicas como a estimulação elétrica transcraniana e a estimulação magnética transcraniana, não induzindo potenciais de ação neuronais, pois os campos estáticos nesta gama não produzem a despolarização rápida requerido para produzir potenciais de ação nas membranas

neurais. Assim, o tDCS pode ser considerado como uma intervenção neuromodulatória. Outro parâmetro importante é a duração do estímulo no tDCS. Com uma densidade de corrente constante, o aumento na duração do estímulo determina a ocorrência e duração de pós-efeitos em humanos e animais [35].

A aplicação da técnica de tDCS pode apresentar efeitos em outros sintomas mediados pelo Sistema Nervoso Autônomo e pelo eixo neuro-psico-imune-endócrino, incluindo a atividade anti-inflamatória mediada por interleucinas e a produção de cortisol. Outra questão pouco estudada são os efeitos da neuromodulação na expressão de BDNF, um marcador de depressão e de dor. Sendo o BDNF um marcador de neuroplasticidade, as técnicas neuromodulatórias poderiam alterar a expressão desta neurotrofina.

O tDCS apresenta poucos efeitos adversos; dentre os relatados, temos desconforto ou prurido no local da aplicação, eritema de pele, leve tontura ou náusea, cefaléia e sonolência. É considerada uma técnica segura, não havendo estudos com efeitos adversos graves [41, 42, 43, 44] .

Estudo randomizado publicado em 2011 mostrou que há maiores alterações na excitabilidade cortical quando o tDCS era aplicado diariamente, quando comparado a aplicação em dia alternados. Portanto, os protocolos recentes advogam o uso diário do tDCS, 24 horas após a última aplicação [45].

2.4 BDNF - Brain-derived neurotrophic factor

O BDNF é uma neurotrofina, proteína que regula diversos aspectos do desenvolvimento e funções neuronais, como a estruturação sináptica e a plasticidade sináptica dos sistemas periférico e central [46]. É também a proteína mais abundante no cérebro, sendo responsável pelo desenvolvimento e manutenção do sistema neuronal. Entre suas várias ações, estão a ligação com a sobrevivência neuronal e a atuação como neuromodulador endógeno nas vias nociceptivas [47, 48].

A síntese do BDNF no SNC pode ser modificada por estresse, isquemia, hipoglicemia, depressão, entre outros fatores. Estudos sugerem que ele apresenta

um papel nos mecanismos adaptativos essenciais, principalmente no processo de potenciação sináptica de longa duração (mecanismo de neuroplasticidade fundamental para desencadear e sustentar o processo de memória da dor). Seus níveis aumentados incrementam a potenciação de longa duração, ao passo que sua redução atenua esse fenômeno [49].

Como prova da função e modificação dos níveis de BDNF em processos fisiológicos crônicos, observou-se que a proteína está diminuída em pacientes depressivos, quando comparados a controles sem a doença [50]. Quando avaliou-se os níveis de BDNF em pacientes depressivos pós tratamento, observou-se um aumento na concentração sérica da proteína [51, 52]. Esses estudos sugerem que níveis de BDNF, se alterados conforme mudanças na clínica do paciente, após tratamento, corrobora a idéia da associação entre BDNF e mudanças neuroplásticas. Da mesma forma, espera-se diferenças no BDNF em pacientes pós outras técnicas neuromodulatórias, como eletroacupuntura e estimulação magnética transcraniana repetitiva (rTMS).

2.5 Qualidade de vida na pós menopausa

O conceito de qualidade de vida (QV) varia conforme o autor e o indivíduo analisado; relaciona-se à auto-estima e ao bem-estar pessoal, abrangendo uma série de aspectos, como a capacidade funcional, o nível socioeconômico, o estado emocional, a interação social, a atividade intelectual, o auto-cuidado, o suporte familiar, o próprio estado de saúde, os valores culturais, éticos e de religiosidade, o estilo de vida, a satisfação com o emprego e/ou com atividades diárias e o ambiente em que se vive [53]. Entre as várias definições de QV, o Grupo de Estudo da Qualidade de Vida da Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHOQOL Group, 1994) adotou um conceito multidimensional que a define como “a percepção do indivíduo de sua posição na vida no contexto da cultura e sistema de valores nos quais ele vive e em relação a seus objetivos, expectativas, padrões e preocupações”.

Vários instrumentos, em forma de questionários, têm sido elaborados com o objetivo de transformar dados subjetivos, informados pelo indivíduo analisado, em

dados objetivos e, dessa maneira, obter informações sobre determinadas populações avaliadas pelo questionário.

Os instrumentos de avaliação podem ser genéricos (que buscam avaliar globalmente os aspectos importantes relacionados à QV, como físico, social, psicológico e espiritual) e os específicos (capazes de avaliar de forma individual e específica alguns aspectos da QV, sendo mais sensíveis na detecção de alterações após uma determinada intervenção). Normalmente, os questionários específicos são direcionados na avaliação de determinada função ou população.

A avaliação da QV de mulheres na pós menopausa é alvo de debates e pesquisas. Sendo o período pré e pós menopausa momento de intensas mudanças, físicas e psicológicas, é esperado que isso se reflita, negativamente, sobre a QV da mulher [54, 55, 56].

Os sintomas associados ao período pré e pós menopausa constituem a síndrome climatérica, que pode comprometer, de forma significativa, a QV [57]. Tanto sintomas quanto a QV são influenciadas pelas atitudes e percepções das próprias mulheres em relação à menopausa. Porém, dentre os fatores associados à QV e envelhecimento, os mais relevantes são as suas condições físicas e emocionais prévias, a sua inserção social e experiências frente a eventos vitais [58].

Entre os instrumentos desenvolvidos para avaliar o impacto dos sintomas climatéricos sobre a QV, temos o *Health-related quality of life in the Spanish women through and beyond menopause (The Cervantes Scale)*, *Women's Health Questionnaire (WHQ)*, *Utian Quality of Life (UQOL)*, *The Menopause Especific Quality of Life Questionnaire (MENQOL)*, *The Menopause Quality of Life Scale (MQOL)*, *Menopause Rating Scale (MRS)* e *Qualifemme*, sendo que o WHQ apresentou as pontuações psicométricas mais elevadas [59].

A escala *Women's Health Questionnaire (WHQ)*, conhecida como Questionário de Saúde da Mulher, foi desenvolvida em 1986 na Inglaterra por Myra Hunter para avaliar os sintomas físicos e emocionais e estudar possíveis alterações de saúde em mulheres climatéricas [60]. O questionário evita enfatizar demasiadamente apenas os sintomas pós-menopausa, sendo capaz de avaliar, avaliando também as transformações globais na vida das mulheres. É utilizada

internacionalmente, com tradução para várias línguas, como francês, sueco, africano, búlgaro, dinamarquês, holandês, belga-holandês, australiano, inglês canadense, alemão, italiano, espanhol e português [61]. Além disso, o WHQ foi a primeira medida de QV incluída no banco de dados internacional de saúde relacionado à QV (IQOD).

É composto por 36 sinais e sintomas auto relatados, avaliados em uma escala de severidade de Likert de cinco pontos (de 0 a 4 pontos) que fornece dimensões individuais e as notas totais. Quanto maior a pontuação, mais pronunciado o sofrimento e disfunção. Inclui questões sobre: sintomas somáticos, humor deprimido, dificuldades cognitivas, ansiedade e medo, funcionamento sexual, sintomas vasomotores, problemas de sono, problemas menstruais, e auto-percepção [62].

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-
- 1 - Nelson, H. Menopause Lancet 2008; 371: 760–70
 - 2 - North American Menopause Society. Menopause Guidebook, 7th edn. <http://www.menopause.org/MGI.pdf>
 - 3 - Hugh S. Taylor and JoAnn E. Manson. Update in Hormone Therapy Use in Menopause. J Clin Endocrinol Metab, February 2011, 96(2):255–264
 - 4 - MacLennan A. Oral estrogen replacement therapy versus placebo for hot flashes: a systematic review. Climacteric. 2001;4(1):58-74.
 - 5 - Silva Filho et al. Climacteric symptoms and quality of life: validity of women's health questionnaire. Rev. Saúde Pública vol.39 no.3 São Paulo June 2005
 - 6 - Shifren JL, Schiff I. Obstet Gynecol. 2010 Apr;115(4):839-55. Role of hormone therapy in the management of menopause
 - 7 - Casper RF, Yen SS. Neuroendocrinology of menopausal flashes: a hypothesis of flush mechanism. Clin Endocrinol (Oxf) 1985; 22: 293–312

-
- 8 - Freedman RR, Krell W. Reduced thermoregulatory null zone in postmenopausal women with hot flashes. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181: 66–70
- 9 - Freedman RR, Norton D, Woodward S, Cornelissen G. Core body temperature and circadian rhythm of hot flashes in menopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 2354–58
- 10 - Chen WY. Postmenopausal hormone therapy and breast cancer risk: current status and unanswered questions. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2011 Sep;40(3):509-18
- 11 - L.A. Fitzpatrick. Alternatives to estrogen. *Med Clin N Am* 87 (2003) 1091–1113
- 12 - Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, et al . Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy post-menopausal women: principal results from the Women’s Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288:321-33
- 13 - Sturdee, D. Updated IMS recommendations on postmenopausal hormone therapy and preventive strategies for midlife health. *Climacteric*; Jun2011, Vol. 14 Issue 3, p302-320, 19p
- 14 - Nitsche, A et al. Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. *Brain Stimulation* (2008) 1, 206–23
- 15 - Brunoni, A et al. Challenges and recommendations from a working group meeting. *Arq Neuropsiquiatr* 2010;68(3):433-451
- 16 - Fertonani A et al. Naming facilitation induced by transcranial direct current stimulation. *Behavioural Brain Research* 208 (2010) 311–318
- 17 - George, M & Jones, GA. Noninvasive techniques for probing neurocircuitry and treating illness: vagus nerve stimulation (VNS), transcranial magnetic stimulation (TMS) and transcranial direct current stimulation (tDCS) *Neuropsychopharmacology Reviews* (2010) 35, 301–316

18 - Rossi S. et al. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clinical Neurophysiology* 120 (2009) 2008–2039

19 - Moreines, J et al. Neuropsychological Effects of Neuromodulation Techniques for Treatment-Resistant Depression: A Review *Brain Stimul.* 2011 January 1; 4(1): 17–27

20 - O'Connell, N et al. Non invasive brains stimulation techniques for chronic pain. *Eur J Phys Rehabilitation Med* 2011; 47 : 309-26

21 - Pachman DR, Jones JM, Loprinzi CL. Management of menopause-associated vasomotor symptoms: Current treatment options, challenges and future directions. *Int J Womens Health* 2010;2: 123–135;

22 - Grady D. Clinical practice. Management of menopausal symptoms. *N Engl J Med* 2006;355: 2338 –2347;

23 - Avis NE, Brockwell S, Colvin A. A universal menopausal syndrome? *Am J Med* 2005; 118 (suppl 2): 37–46;

24 - Phuong, K, et all. *The Oncologist* 2011;16:1658–1664. Hot Flashes: A Review of Pathophysiology and Treatment Modalities

25 - Kronenberg, F., 2010. Menopausal hot flashes: a review of physiology and biosociocultural perspective on methods of assessment. *J. Nutr.* 140, 1380S–1385S

26 - Freedman RR. Hot flashes: behavioral treatments, mechanisms, and relation to sleep. *Am J Med* 2005;118(suppl 12B):124 –130.

27 - Casper RF, Yen SS. Neuroendocrinology of menopausal fl ushes: a hypothesis of fl ush mechanism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1985; 22: 293–312.

28 - Freedman RR, Norton D, Woodward S, Cornelissen G. Core body temperature and circadian rhythm of hot fl ashes in menopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 2354–58;

-
- 29 - Freedman RR, Krell W. Reduced thermoregulatory null zone in postmenopausal women with hot flashes. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 66–70.
- 30 - Shanafelt TD, Barton DL, Adjei AA et al. Pathophysiology and treatment of hot flashes. *Mayo Clin Proc* 2002;77:1207–1218.
- 31 - Freedman RR. Physiology of hot flashes. *Am J Hum Biol* 2001;13:453– 464.
- 32 - N.E. Rance et al. *Frontiers in Neuroendocrinology* 34 (2013) 211–227
- 33 - Rance et al., 1990
- 34 - Sheehan and Kovács, 1966
- 35 - NITSCHKE, M.A.; COHEN, L.G.; WASSERMANN, E.M.; PRIORI, A.; et al. Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. Elsevier. *Brain Stimul* 2008; 1: 206-23
- 36 - Largus S. 1529. *De compositionibus medicamentorum*. Paris.
- 37 - Islam N, Aftabuddin M, Moriwaki A, Hattori Y, Hori Y. Increase in the calcium level following anodal polarization in the rat brain. *Brain Res* 1995;684:206-208
- 38 - PRIORI A. Brain Polarization in humans: a reappraisal of an old tool for prolonged non invasive modulation on brain excitability. *Clin Neurophysiol*. 2003 Apr; 114(4):589-95.
- 39 - ZAGHI, S.; ACAR, M.; HULTGREN, B.; BOGGIO, P.S.; FREGNI, F. Noninvasive brain stimulation with low-intensity electrical currents: putative mechanisms of action for direct and alternating current stimulation. *Neuroscientist* 16:285–307. (2010)
- 40 - POREISZ, C.; BOROS, K.; ANTAL, A.; PAULUS, W. Safety aspects of transcranial direct current stimulation concerning healthy subjects and patients. *Brain Res Bull*. 2007; 72: 208-14.
- 41 - BOGGIO, P.S.; ZAGHI, S.; FREGNI, F. Modulation of emotions associated with images of human pain using anodal transcranial direct current stimulation (tDCS).

Neuropsychologia 2009; 47: 212-7.

42 - FENTON, B.W.; PALMIERI, P.A.; BOGGIO, P.; FANNING, J.; FREGNI, F. A preliminary study of transcranial direct current stimulation for the treatment of refractory chronic pelvic pain. *Brain Stimulation* 2009; Vol. 2, issue 2:103–7.

43 - VALLE, A.; ROIZENBLATT, S.; BOTTE, S. ZAGHI, S. et al. Efficacy of anodal transcranial direct current stimulation (tDCS) for the treatment of fibromyalgia: results of a randomized, shamcontrolled longitudinal clinical trial. *J Pain Manag.* 2009 ; 2(3): 353–361.

44 - FREGNI, F., BOGGIO, P.S., et al. A sham-controlled phase II Trial of transcranial direct current stimulation for the treatment of central pain in traumatic spinal Cord injury. *Pain* 2006a:122 (1-2):197-209

45 - ALONZO A., BRASSIL J., TAYLOR J.L., MATIN D., et al. (2011). Daily transcranial direct current stimulation (tDCS) leads to greater increase in cortical excitability than second daily transcranial direct current stimulation. *BRAIN STIMULATION*

46 - APFEL SC. Neurotrophic factors in peripheral neuropathies: therapeutic implications. *Brain Pathol.* 1999;9(2):393-413.

47 - MERIGHI, A.; SALIO, C.; GHIRRI, A.; LOSSI, L.; FERRINI, F.; BETELLI, C.; et al. BDNF as a pain modulator. *Progress in neurobiology.* 2008;85(3):297-317

48 - LEVER, I.J.; BRADBURY, E.J.; CUNNINGHAM, J.R.; et al. Brain-derived neurotrophic factor is released in the dorsal horn by distinctive patterns of afferent fiber stimulation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience.* 2001;21(12):4469-77.

49 - KOSSEL, A.H.; CAMBRIDGE, S.B.; WAGNER, U.; BONHOEFFER, T. A caged Ab reveals an immediate/instructive effect of BDNF during hippocampal synaptic potentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2001;98(25):14702-7.

-
- 50 - KAREGE F., PERRET G., BONDOLFI M.S., et al. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Res*, 109 (2002), pp. 143–148
- 51 - AYDEMIR O., DEVEC A., TANELI F. The effect of chronic antidepressant treatment on serum brain-derived neurotrophic factor levels in depressed patients: a preliminary study *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 29 (2) (2005), pp. 261–265
- 52 - BRUNONI, A.R.; LOPES, M.; FREGNI, F. A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2008;11:1169-80.
- 53 - Verlade JE, Avila FC. Methods for quality of life assessment. *Salud Publica Mex*. 2002; 44(4):349-61
- 54 - Speroff L, Fritz MA. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 7.ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2005; 621-778
- 55 - Fernandes CE, Baracat EC, Lima GR. *Climatério: Manual de Orientação*. São Paulo: Febrasgo, 2004
- 56 - Wender MCO, Freitas F, Sisson de Castro JA et al. *Climatério. Rotinas em Ginecologia*. 6. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2011; 700-22
- 57 - Fernandes CE, NR Melo, S Wehba. *Climatério Feminino: fisiopatologia, diagnóstico e tratamento*. 1. ed. São Paulo: Lemos Editorial, 1999
- 58 - De Lorenzi, DRS. Avaliação da qualidade de vida no climatério. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2008; 30(3):103-6.
- 59 - Shin H, Shin HS. Measurement of Quality of Life in Menopausal Women: A Systematic Review. *West J Nurs Res*. 2012; 34(4):475-503
- 60 - Hunter M, Battersby R, Whitehead M. Relationships between psychological

symptoms, somatic complaints and menopausal status). *Maturitas* 1986; 8:217-28

61 - Hunter MS. The women's health questionnaire (WHO): frequently asked questions (FAQ). *Health Qual Life Outcomes* 2003; 1:41

62 - Hunter MS. The Women's Health Questionnaire: A measure of mid-aged women's perceptions of their emotional and physical health. *Psychol Health* 1992; 7:45-54

4 JUSTIFICATIVA

Grande número de mulheres no período do Climatério apresentam sintomatologia importante, com prejuízo nas atividades diárias e na qualidade de vida. Atualmente, o tratamento mais indicado às mulheres é a Terapia Hormonal (TH), que pode trazer alívio parcial aos sintomas. Eventualmente, a TH não pode ser utilizada, como em pacientes com câncer de mama. Da mesma forma, a queixa mais comum da Síndrome Climatérica é o fogacho, ou sintoma vasomotor, cujo mecanismo ainda não é totalmente compreendido.

O advento de técnicas neuromodulatórias, com raros eventos adversos e facilidade de uso, com a propriedade de longo tempo de duração dos seus efeitos benéficos, permitiu sua investigação e aplicação em Neurologia e Psiquiatria. No entanto, jamais foi estudada para sintomas vasomotores.

Portanto, este trabalho se propõe a avaliar o uso de uma técnica neuromodulatória, o tDCS, para diminuição de sintomas vasomotores, como uma nova alternativa terapêutica para os sintomas climatéricos.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo Principal:

Avaliar o efeito do tDCS nos sintomas vasomotores, em mulheres pós menopáusicas, atendidas em hospital terciário do Sul do Brasil.

5.2 Objetivos Secundários:

Comparar o efeito do tDCS com tDCS–sham em mulheres pós menopáusicas nos desfechos:

- Níveis de BDNF
- Escore de Qualidade vida (pelo WHQ)

6 ARTIGO EM INGLÊS

6.1 *Abstract*

Background: During the menopausal transition and post menopause, the appearance of various symptoms that express the depletion of ovarian follicles and estrogen decline is common; the most often reported by women are vasomotor symptoms or hot flashes. Even the Hormonal Therapy is not able to finish with the symptoms in all affected women. Transcranial direct current stimulation (tDCS) is a modulatory technique, commonly used in psychiatric and neurologic diseases. We tested the hypothesis that tDCS would be an effective treatment to reduce vasomotor symptom in menopausal women.

Methods: Nine menopausal women, at any age, all with vasomotor symptoms, were randomized to one of the groups, tDCS (active treatment) or placebo-sham. The treatment consisted in daily application sessions of stimulation with electrical current of 02 mA, for ten consecutive days, with anodal stimulation over the primary motor cortex (M1) area. The assessments were number of hot flashes before the treatment and one week after the treatment, Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and the Women's Health Questionnaire. Only patients were blinded to the treatment.

Results: comparing the average number of vasomotor symptoms (hot flashes) per day during the period of seven days, there was no significant difference between the two groups, and there were no differences in the levels of BDNF and WHQ.

Conclusion: we can not rule out the use of tDCS in the treatment of vasomotor symptoms, because of the small number of patients evaluated in this study. Monitoring of these patients will be kept, and treatment will be applied to other women with vasomotor symptoms.

Keywords: Menopausal Transition, vasomotor symptoms, Transcranial direct current stimulation

6.2 Introduction

Climacteric or Menopausal Transition is defined as the transition from reproductive to non-reproductive reproductive life, with extension of variable length. During this period, the appearance of various symptoms that express the depletion of ovarian follicles is common; among these symptoms, the most frequently reported by women are vasomotor symptoms or hot flashes.

The reduction or absence of female sex hormones can affect multiple systems, and determining signs and symptoms known by climacteric syndrome (vasomotor symptoms, emotional changes, dryness of mucous membranes), which can cause great damage to the life quality. Vasomotor symptoms are the most commonly reported symptom, being described by more than 50% of patients. They are usually described as sensations of heat, usually in the chest, neck and face, still associated with palpitations and anxiety. The episodes vary in frequency, duration and severity, lasting less than five minutes. They can be triggered by changes in ambient temperature, food or hot beverage, or stress. Many women report that these symptoms interfere with daily activities or sleep. Furthermore, these symptoms can persist for years after menopause. Currently, the main treatment offered to these women is Hormone Therapy (HT).

However, not all women can use TH. The absolute contra-indications to HT are breast or endometrial cancer, serious hepatic or cardiovascular disease. In addition to hormonal therapy, other medications have been employed in an attempt to improve these symptoms; although they present better results than placebo, yet have little clinical impact in reducing vasomotor symptoms. Thus, it opens up the possibility of new therapies for the treatment of these symptoms.

The exact mechanism for vasomotor symptoms is not fully understood. There is a possibility is that reduced estrogen concentrations may decrease the endorphin concentration in hypothalamus, increasing the release of norepinephrine and serotonin and changing the set point of the thermoregulatory nucleus.

However, only the absolute decrease in estrogen levels after menopause can not be the only responsible for vasomotor symptoms. The measure of serum

estrogens in plasma, urine or vagina did not correlate with onset or severity of symptoms.

Recent research suggests a role of hypothalamic neurons Kisspeptin, Neurokinin B and Dynorphin (kndy) in the mechanism of vasomotor symptoms. Post mortem studies made in the hypothalamus of postmenopausal women showed hypertrophy in the population of these neurons in the arcuate nucleus, suggesting that the decrease in serum estrogen could be responsible for these changes, although there are no studies showing any action of these neurons in thermoregulation.

The transcranial direct current stimulation (tDCS) is a non-invasive brain stimulation technique, which is safe, cheap and portable. It can be used to modulate cortical excitability by a weak electrical current applied to the brain through electrodes placed on the scalp in which anodal and cathodal stimulation increase and decrease cortical excitability, respectively. This technique has been used to modulate the altered neuronal response in chronic pain, depression, stroke and Parkinson's disease. Furthermore, the tDCS may enhance BDNF secretion, which is a marker of neuronal plasticity associated with pain processing.

Since vasomotor symptoms do not have a known mechanism, and tDCS can have effects on other symptoms mediated by the Autonomic Nervous System (ANS) and the endocrine-immune neuro-psycho-axis, we evaluated the hypothesis that the application of ten consecutive days tDCS in postmenopausal women with vasomotor symptoms might reduce the daily number of hot flashes, when compared to placebo sham.

6.3 Methods

6.3.1 Design overview, setting, and participants

This study was approved by the Research Ethics Committee at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (number 12-418 HCPA) in accordance with the Declaration of Helsinki (Resolution 196/96 of the National Health Council). The study was registered at clinicaltrials.gov (NCT01896791). All patients provided written informed consent before participating in this trial (Appendix A). We recruited nine menopausal women, at any age, with, at least, 12 month of amenorrhea, under care of the

Menopause Clinic of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Inclusion criteria required at least 05 episodes of vasomotor symptoms per day. Exclusion criterias were patients with psychiatric or neurological diseases such as epilepsy, Parkinson, dementia, patients with head trauma, uncontrolled chronic disease, pacemaker users, previous treatment with tDCS or electroconvulsive therapy, patients using Hormonal Therapy, using medications as paroxetine, fluoxetine, sertraline, citalopram, and venlafaxine, in addition to the contraindications to tDCS.

6.3.2 Interventions

The tDCS is a therapeutic tool relatively inexpensive, non-invasive, painless and safe, and its shape simulated (sham) can be used efficiently for blinded studies. During the stimulation session, the women remained awake and sit in a comfortable chair. The device (Transcranial Stimulation Kit) has two electrodes to be placed on the patients' scalp. One electrode is the anode (positive electrode) and the other is the cathode (negative electrode). Current flows from the cathode to the anode through the scalp, which leads to an increase or a decrease in cortical excitability, depending on the polarity of the stimulation. In this study, the anode was positioned over the left M1 area, and the cathode on the right supraorbital right region. The electrodes were immersed in a 35 cm² sponge (wetted in saline solution) for conducting current of about 9 A. Current density used was 2 mA/m² and electrodes attached to the scalp were maintained by an elastic band. The stimulation time was 20 minutes.

6.3.3 Randomization and masking

We randomized using computer generated random numbers, through site randomization.com. Before enrollment, we created two lists of intervention (sham-placebo or active-tDCS), giving a number to each probable participant. After the subject agreed to participate in the trial and gave his written consent, the patient received a number from the list, with the indicated treatment. During the entire protocol timeline, the investigators applying the interventions were not blinded to patient's treatment. The others investigators were unaware of the patient's group.

6.3.4 Sample size justification

Since there are not available data for tDCS and vasomotor symptoms, we

decided to create a pilot study, with 09 patients. The statistical analysis was performed by blinded statistics. The treatment effect definition was the difference of the mean number of hot flashes in the scale of vasomotor symptoms per day, with a power and α levels of 0.8 and 0.05, respectively.

6.3.5 Instruments and assessment

Demographic data and medical comorbidities were assessed using a standardized questionnaire (Appendix B). Previously to the treatment initiation, the patients had to record the number of hot flashes per day (Appendix C), and had to answer the Women's Health Questionnaire (WHQ) (Appendix D). In the first day of treatment, before it started, blood samples were collected for measurement of BDNF. In the tenth day of tDCS application, new blood samples were collected to assessment of BDNF. The WHQ were answered and the number of hot flashes per day were recorded again one week after the stimulation ended.

6.3.6 Statistical analysis

Continuous and categorical variables were summarized using conventional descriptive statistics. t-test, chi-square or Fisher's exact tests were used to compare continuous and the categorical variables, respectively. For variables with non-parametric distributions, comparisons between groups were done using the Wilcoxon-Mann-Whitney test. We averaged the daily number of hot flashes recorded by the patients to generate one value for intervention week. The confidence intervals (95% CI) and associated P-values were also calculated. The data were analyzed using SPSS version 18.0 (SPSS, Chicago, IL).

6.4 Results

6.4.1 Patients characteristics

The clinical and demographic characteristics of the patients are shown in Table 1.

Five patients were allocated to tDCS group, and four patients were allocated to placebo group. All of them completed the study.

Baseline characteristics were comparable across the tDCS and placebo-sham groups (all P values >0.05). We did not observe serious or moderate side effects of the treatment.

None of the patients from tDCS group were smokers, while 25% from the placebo group were.

40% of patients from tDCS group had already received some treatment for vasomotor symptoms, at least one year before the experiments initiated. In the placebo group, the numbers of women who had already done any treatment for hot flashes were higher: 50%.

Table 1 - Clinical characteristics of evaluated patients

	<i>tDCS</i>	<i>Placebo-sham</i>	<i>P value</i>
Age (years±SD¹)	53,4 (±1,12)	59,5(±4,09)	NS
Time of menopause (months±SD¹)	43,2(±14,62)	81(±35,45)	NS
BMI (kg/m² ± DP)²	28,04(±3,1)	29,25(± 050)	NS
Years os study	8,5	8,5	NS
WHQ pre treatment(mean±DP)³	69 (±41)	95,8 (± 13,1)	NS
Number of hot flashes pre treatment (mean±DP)			
Mild hot flashes	0,46(±0,57)	1,75(±2,01)	NS
Moderate hot flashes	2,14(±2,16)	3,54(±1,60)	NS
Severe hot flashes	6,17(±4,91)	4,18(±3,97)	NS

1.Standard deviation

2.BMI: Body Mass Index

3.WHQ: *Women's Health Questionnaire*

6.4.2 Analysis of the main outcome: number of hot flashes per day

The number of hot flashes were similar in both groups before treatment. There were not a statistical difference between groups or time after the interventions. The Table 2 shows the mean number of hot flashes per day in each group, pre and post treatment.

Table 2 - mean number of hot flashes pre and post treatment, in both groups

	<i>tDCS</i>		<i>Placebo-sham</i>	
	Mild hot flashes	Moderate hot flashes	Mild hot flashes	Moderate hot flashes
Pre	0,46	2,14	1,75	3,54
Post	1,37	1,46	0,86	0,75
P value	NS	NS	NS	NS

There was a trend to a significant decrease in the number of severe hot flashes in the tDCS group, as shown in Figure 1.

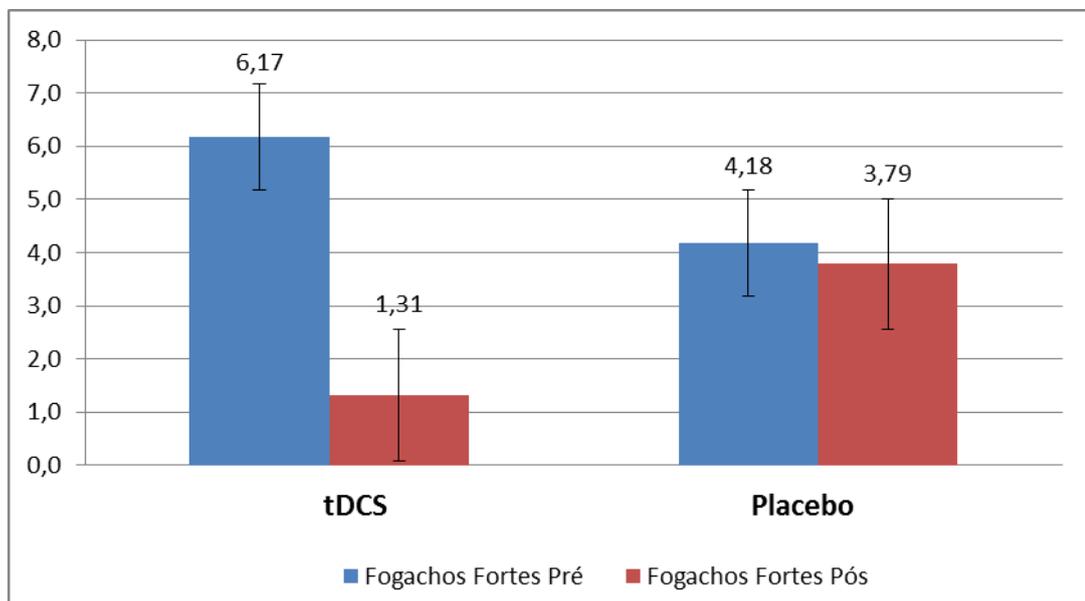


Figure 1 – Mean number of severe hot flashes/day, pre and post treatment, in tDCS group and placebo-sham group (Mann Whitney test)

6.4.3 Secondary outcomes: BDNF and Women's Health Questionnaire

The mean serum BDNF levels were similar in both groups before treatment. We didn't observe a significant modification in BDNF levels after treatment in both groups, using the Mann Whitney test. The data from BDNF are showed in Table 3.

Table 3 - BDNF values for each patient, pre and post treatment

<i>BDNF</i>	<i>tDCS</i>	
	<i>Pre</i>	<i>Post</i>
<i>Patient</i>		
1	10,98	16,95
2	12,07	8,96
3	18,16	21,50
4	20,35	10,62
5	27,88	16,99
	<i>Placebo-sham</i>	
6	10,79	17,62
7	13,26	13,68
8	9,18	6,75
9	21,66	16,47

The WHQ values were lower in the post treatment, in both groups, but it did not have statistical significance (using Mann Whitney test) as shown in Table 4.

Table 4 - WHQ mean values

<i>WHQ</i>	<i>tDCS</i>	<i>Placebo</i>
<i>Pre</i>	69,0	95,8
<i>Post</i>	51,8	70,0

6.5 Discussion

This study demonstrated that the effect of ten days of tDCS application was not different from the placebo-sham to reduce the mean number of hot flashes per day. There was a trend to a significant difference in severe hot flashes numbers in tDCS group ($P= 0,068$).

Although the mechanisms about the etiology of hot flashes are not totally understood, we believe that there is a dysfunction of the thermoregulatory center, essential for homeostasis and the maintenance of body temperature through thermoregulatory zone (TZ). This dysfunction may be due to decreased serum estrogen levels, but research suggests that neurotransmitters play an important role in the genesis of hot flashes. Likewise, other factors, such as the action of the

Autonomic Nervous System or other systems may influence, in some degree, the appearance and severity of vasomotor symptoms.

As the action of tDCS involves neuromodulatory action, it is reasonable to assume that it can act on mechanisms for generating vasomotor symptoms (in example, neurotransmitters pathway), interrupting a harmful action or implementing a neuromodulatory response that reduces the number of hot flashes or change its severity.

Although it was not proven that the opiodergic system is involved in the generation of vasomotor symptoms, there are not enough studies to discard it. Therefore, the action of tDCS on this system should also be considered. The tDCS can interrupt the activation of various nociception signaling pathways in astrocytes, which in turn is activated by the TNF-alpha and interleukin (IL)-1b.

The BDNF expression is increased in response to higher levels of neuronal activity, which may dampen cortical activity promoting strengthening of inhibitory synapses. So, the BDNF could serve as a molecular “sensor” of the global neuronal activity. In this way, we expected a difference in the BDNF levels in tDCS group. Probably, this could not be achieved due to the small number of patients, or the short time between blood collection (one week).

The WHQ questionnaire showed no statistical differences between the two groups. However, the values after treatment in both groups were lower than the beginning. The higher the score, the more pronounced pain and dysfunction in the patient. A larger sample would allow us to confirm that this response is greater in the tDCS group, or is due to the Hawthorne effect.

The strength of the study includes the comparison between tDCS treatment and a placebo-sham intervention in a randomized design with blind evaluators.

An important limitation of the study was the small sample size; anyway, we can not discard tDCS as a possible therapeutic tool in postmenopausal women complaining of hot flashes. Thus, additional research with a larger number of patients is needed to assess the potential benefits of tDCS. Even though strategies were used to protect patients and the team of evaluators from unblinding, formal

assessment for awareness of the allocation (either active or placebo) was not performed. This study is the first to explore the effects of tDCS technique to treat vasomotor symptoms in post menopausal women. Finally, another limitation of this study was the follow-up time, which was rather short.

In conclusion, we could not determine a significant difference between the effects of tDCS and placebo sham in the hot flashes number, BDNF values or WHQ scores. However, we found a trend in the reduction ($p=0,06$) of severe vasomotor symptoms in the tDCS group, when compared to placebo sham. From a clinical standpoint, these findings support more researches with the use of tDCS as a possible therapeutic tool to vasomotor symptoms.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Climatério, ou Transição Menopáusica, é um período de intensas mudanças, físicas e emocionais, para todas as mulheres. Para algumas, os sintomas associados a esse tempo podem ser particularmente desgastantes, causando prejuízo às atividades diárias e comprometendo a qualidade de vida.

Inúmeras pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de obter o tratamento ideal para as queixas das pacientes, desde sintomas vasomotores (os mais comuns), até a questão do sono e da labilidade emocional.

A despeito dessa procura, ainda não temos o tratamento ideal, ou seja, que possa ser aplicado a todas as mulheres, ou a grande maioria delas, sem efeitos adversos e com boa resposta terapêutica. Atualmente, o uso de TH é o que tem melhores resultados; no entanto, várias mulheres ainda não alcançam melhora clínica com ele. Além disso, não se pode esquecer do cada vez maior número de pacientes com algum tipo de neoplasia (como câncer de mama), para as quais o uso de tratamento hormonal é contraindicado mas que, em virtude do tratamento oncológico ou da própria idade, rapidamente iniciam com sintomatologia importante do climatério.

O desenvolvimento das técnicas neuromodulatórias e sua aplicação clínica já

tem sido feita há décadas, principalmente nas áreas da Neurologia e da Psiquiatria. Entre suas vantagens destacadas, há a facilidade de aplicação, seus raros e leves efeitos adversos. Talvez a maior importância das técnicas neuromodulatórias refira-se a seus efeitos prolongarem-se além do tempo de aplicação, diferentemente da TH.

Não se havia testado, ainda, a utilização de uma técnica neuromodulatória, como tDCS, para diminuição de sintomas vasomotores em mulheres pós menopausa. Os resultados, apesar de não apresentarem significância estatística, reforçam a idéia de ampliar a investigação, com maior número de pacientes. Maiores estudos são necessário para confirmar o uso de tDCS como possibilidade de tratamento para sintomas vasomotores.

8 ANEXOS

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A menopausa é um momento importante para a mulher, sendo período de grande transformação. Dentre as várias situações surgidas nesse momento, os sintomas, em especial os sintomas vasomotores (fogachos), apresentam-se como as principais queixas das pacientes. Inúmeros estudos são realizados no sentido de diminuir ou eliminar esses sintomas. Convidamos você a participar do projeto de pesquisa: "Neuromodulação Transcraniana no Tratamento dos Sintomas Vasomotores do Climatério: Ensaio Clínico Randomizado". Trata-se de uma pesquisa realizada no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, cujo objetivo é avaliar a melhora dos fogachos utilizando um novo tratamento em mulheres que já pararam de menstruar, e compará-las a um grupo sem tratamento. As participantes desse projeto, inicialmente, responderão a questionário para avaliação dos fogachos. A divisão dos grupos será realizada através de randomização (sorteio) realizado pelo computador. Os pesquisadores não saberão em qual grupo você estará participando (grupo com ou sem tratamento). Após o sorteio, 15 pacientes, sem nenhum custo, receberão Estimulação Elétrica Transcraniana (TDCS), método não invasivo de tratamento, pelo período de 10 dias consecutivos. Outras 15 pacientes serão consideradas como grupo controle, sem receber o tratamento com TDCS ou tratamento farmacológico. Após a TDCS, as pacientes serão reavaliadas em uma semana, um mês e três meses pós-tratamento, respondendo novamente ao questionário. Durante a realização da TDCS, podem ocorrer sonolência, coceira ou dor de cabeça. O objetivo da realização do TDCS em pacientes com fogachos é a diminuição ou cessação dos fogachos. O grupo sem tratamento não terá alteração dos sintomas ao não receber o tratamento. Antes e durante o tratamento, será coletado duas amostras de sangue para medidas hormonais, cujos resultados estarão à disposição das pacientes. Após o fim da pesquisa, será oferecido, para as pacientes dos dois grupos, o tratamento farmacológico, caso as pacientes se mantenham com sintomas de fogachos, além do acompanhamento no ambulatório de Climatério deste hospital.

As informações pessoais e dados obtidos nas avaliações de cada mulher serão mantidos em sigilo, e só serão utilizados para os fins da pesquisa.

É direito da participante retirar seu consentimento de participação nessa pesquisa no momento em que achar necessário. Na mesma condição, é dever dos pesquisadores esclarecer quaisquer dúvidas e/ou questionamentos referentes a pesquisa, que possam surgir no decorrer da mesma e após seu término. Para isso, os telefones para contato com a responsável pela pesquisa encontram-se no final do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. A participante também receberá informações sobre os resultados da pesquisa quando a mesma for concluída. A participante, igualmente, receberá cópia deste documento.

Para qualquer questão ética, a participante poderá entrar em contato com o Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Diante dessas condições, ciente das minhas atribuições como participante desse Projeto de Pesquisa, aceito, de livre e espontânea vontade, participar desse trabalho.

Nome: _____

Assinatura: _____

Data: __/__/__

RG/CPF: _____

Responsável pela pesquisa: _____

Contato com as pesquisadoras:

Profa. Dra. Maria Celeste Osório Wender

Serviço de Ginecologia e Obstetrícia – HCPA – telefone 51 33598117

Dra. Carolina de Castro Pereira - Fone (51) 93746502

Comitê de Ética em Pesquisa/Hospital de Clínicas de Porto Alegre – Telefone: 51 3359-7640

ANEXO B - NEUROMODULAÇÃO TRANSCRANIANA NO TRATAMENTO DOS SINTOMAS VASOMOTORES DO CLIMATÉRIO: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

Nº: _____ PRONTUÁRIO: _____ DATA: _____

NOME: _____

IDADE: _____ DATA DE NASCIMENTO: _____ TELEFONE: _____

ALTURA: _____ PESO: _____ IMC: _____

ESCOLARIDADE: (0) ANALFABETA (1) 01 A 05 ANOS (2) 06 A 11 ANOS (3) DE 12 A 15 ANOS (4) MAIS DE 15 ANOS

GRUPO: (0) PLACEBO (1) TDCS

G__P__C__A__

OBESIDADE (0) NÃO (1) SIM

TABAGISMO (0) NÃO (1) SIM

BEBIDAS ALCÓOLICAS (0) NÃO (1) SIM, MENOS DE 02 X/SEMANA (2) SIM, MAIS DE 02 VEZES NA SEMANA (3) DIARIAMENTE

MENOPAUSA: _____ MESES

TRATAMENTO PRÉVIO PARA SINTOMAS DA MENOPAUSA

(0) NÃO (1) SIM

SE SIM:

QUANDO: (0) ENTRE DOIS E SEIS MESES (1) MAIS DE 06 MESES E MENOS DE 01 ANO (2) MAIS DE 01 ANO

QUANTO TEMPO: (0) ENTRE DOIS E SEIS MESES (1) MAIS DE 06 MESES E MENOS DE 01 ANO (2) MAIS DE 01 ANO

QUAIS MEDICAÇÕES: (0) TH (1) ISRS (3) ISOFLAVONAS (4) OUTROS

ANEXO D – WOMEN’S HEALTH QUESTIONNAIRE

Por favor diga-nos como se sente agora ou como tem se sentido NOS ÚLTIMOS DIAS, marcando com um “x” o quadrado correspondente à resposta para cada um dos seguintes itens.

	Sim, com certeza	Sim, às vezes	Não, raramente	Não, absolutamente
1. Eu acordo antes da hora e então durmo mal o resto da noite	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Eu fico muito assustada ou com sensação de pânico, sem qualquer razão aparente	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Eu me sinto infeliz e triste	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Eu me sinto ansiosa, quando saio de casa sozinha	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Eu perdi o interesse pelas coisas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Eu tenho palpitações no peito ou a sensação de aperto no estômago	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Eu ainda gosto das coisas das quais gostava antes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Eu sinto que não vale a pena viver	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Eu me sinto tensa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. Eu tenho bom apetite	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11. Eu estou irrequieta e não consigo ficar parada	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12. Eu estou mais irritável do que de costume	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13. Eu tenho medo de envelhecer	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Por favor diga-nos como se sente agora ou como tem se sentido NOS ÚLTIMOS DIAS, marcando com um "x" o quadrado correspondente à resposta para cada um dos seguintes itens.

	Sim, com certeza	Sim, às vezes	Não, raramente	Não, absolutamen
14. Eu tenho dores de cabeça.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
15. Eu me sinto mais cansada do que de costume.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
16. Eu tenho tonturas.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
17. Meus seios estão doridos e sensíveis.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
18. Eu sofro de dores nas costas ou nas pernas e nos braços.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
19. Eu tenho ondas de calor.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
20. Eu estou mais desastrada do que de costume.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
21. Eu me sinto um tanto viva e entusiasmada.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
22. Eu tenho cólicas ou desconforto na barriga.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
23. Eu me sinto indisposta ou nauseada.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
24. Eu perdi interesse pelo sexo.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
25. Eu tenho sensações de bem-estar e paz.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
26. Eu tenho menstruações abundantes..... (Deixe em branco se não tiver mais menstruações)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
27. Eu sofro de suores noturnos.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Por favor diga-nos como se sente agora ou como tem se sentido NOS ÚLTIMOS DIAS, marcando com um "x" o quadrado correspondente à resposta para cada um dos seguintes itens.

	Sim, com certeza	Sim, às vezes	Não, raramente	Não, absolutamente
28. Eu tenho a impressão que minha barriga está inchada, grande.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
29. Eu tenho dificuldade para pegar no sono.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
30. Eu freqüentemente sinto formigamento nas mãos e nos pés.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
31. Eu estou satisfeita com meu relacionamento sexual atual..... (Por favor deixe em branco se não for sexualmente ativa)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
32. Eu me sinto fisicamente atraente.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
33. Eu tenho dificuldade para me concentrar.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
34. Devido a secura da vagina, a relação sexual se tornou desconfortável..... (Por favor deixe em branco se não for sexualmente ativa)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
35. Eu tenho necessidade de urinar mais freqüentemente do que de costume.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
36. Minha memória é fraca.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
37. É muito difícil para você lidar com qualquer um dos sintomas, queixas acima? SIM/NÃO. Se sim, quais:				