



**Tese de Doutorado**

**Efeito de técnicas de neuromodulação sobre parâmetros bioquímicos e neurofisiológicos em pacientes com dor crônica musculoesquelética.**

**LICIANE FERNANDES MEDEIROS**

**Porto Alegre, 2014**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:  
FISIOLOGIA**

**Efeito de técnicas de neuromodulação sobre parâmetros  
bioquímicos e neurofisiológicos em pacientes com dor crônica  
musculoesquelética.**

**LICIANE FERNANDES MEDEIROS**

Orientadora: Profa. Dra. Iraci Lucena S.Torres

Co-orientador: Prof. Dr. Wolnei Caumo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Ciências Biológicas: Fisiologia - UFRGS,  
como requisito para obtenção do título de Doutor.

*“Eu tentei 99 vezes e falhei, mas na centésima tentativa eu consegui.  
Nunca desista de seus objetivos mesmo que esses pareçam impossíveis.  
A próxima tentativa pode ser a vitoriosa”.*

***Albert Einstein***

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por iluminar sempre meu caminho e promover muitas conquistas.

À minha orientadora, Profa. Dra. Iraci L.S. Torres, um agradecimento muito especial, por todas as oportunidades de aprendizado, tanto pessoais como profissionais. Um agradecimento repleto de carinho e consideração.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Wolnei Caumo, por sua compreensão, oportunidades e auxílio a mim concedidos.

À minha família, que mesmo distante, sempre esteve presente com incentivos. Em especial ao meu pai Odilon, por todo este tempo oferecer sempre o melhor para meu crescimento e desenvolvimento.

Um especial agradecimento às amigas e colegas Andressa de Souza e Carla de Oliveira, por todo incentivo, paciência e apoio.

Ao Renato Vianna, que em muitos momentos soube ouvir, aceitar e apoiar os momentos difíceis.

Aos queridos companheiros, que fizeram esta jornada ser mais leve com muitos momentos de alegria e descontração. Principalmente, a Stefânia Cioato que, incansavelmente, colaborou para o desenvolvimento inicial do projeto e a Alícia Deitos que esteve sempre presente nos momentos decisivos.

Aos colegas do grupo Laboratório de Farmacologia da Dor e Neuromodulação: Modelos Animais.

Aos colegas do grupo Laboratório de Dor & Neuromodulação. Em especial, ao Jairo Dussán-Sarria que contribuiu muito com seu poder estatístico e otimismo.

Ao *Laboratory of Neuromodulation - Spaulding Rehabilitation Hospital - Harvard Medical School* e ao Prof. Dr. Felipe Fregni pela oportunidade de Doutorado-Sanduíche, pela ampliação do conhecimento das técnicas de Neuromodulação.

Aos professores e funcionários do Departamento de Farmacologia da UFRGS.

A todos os professores, colegas e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, em especial à secretária Alice e bolsistas.

Ao Laboratório de Fisiologia Cardiovascular da UFRGS, e aos professores Dra. Adriane Belló-Klein e Dr. Alex Sander Araújo, e aos colegas Dra. Cristina Campos Carraro e Alexandre Luz de Castro.

Aos Professores da Banca de Defesa, que prontamente aceitaram o convite.

Ao FIPE-HCPA, pelo apoio financeiro para o desenvolvimento do projeto.

Ao HCPA, local onde o presente trabalho pôde ser desenvolvido com qualidade e segurança.

A CAPES e CNPq, pelas bolsas de Doutorado e Doutorado-Sanduíche.

A PIBIC-CNPq/UFRGS, pelas bolsas dos alunos que participaram deste trabalho.

A todos que de alguma maneira, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Em especial, a todos os pacientes que participaram e contribuíram para a construção da presente Tese.

## Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS.....	i
LISTA DE FIGURAS .....	iv
LISTA DE TABELAS .....	v
RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	vii
I. INTRODUÇÃO .....	1
1. Dor crônica e sensibilização .....	2
2. Síndrome Dolorosa Miofascial (SDM).....	6
3. Terapias não farmacológicas para o tratamento da dor crônica musculoesquelética .....	8
4. Biomarcadores .....	15
JUSTIFICATIVA DO ESTUDO.....	22
III – HIPÓTESES .....	23
Hipótese 1.....	23
Hipótese 2.....	23
II. OBJETIVOS .....	24
Objetivo Geral.....	25
Objetivos Específicos .....	25
III. MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
Protocolo 1. ....	27
Protocolo 2. ....	37
IV. RESULTADOS .....	39
Protocolo 1. ....	40
Protocolo 2. ....	47
V. DISCUSSÃO .....	52
Discussão - Protocolo 1 .....	53
Discussão - Protocolo 2.....	57
VI. CONCLUSÕES.....	61
VI.1 – Conclusões Específicas.....	62
VII. PERSPECTIVAS .....	64
VIII. REFERÊNCIAS .....	65
IX. ANEXOS.....	96
IX.1 – Aprovação do Comitê de Ética .....	97
IX.2 - Aprovação do Comitê de Ética .....	98
IX.3 – Parecer do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) .....	99
IX.4 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	105
IX.5 - Divulgações.....	110
IX.6 - Produções .....	111
IX.7 – Comprovante de Submissão .....	113

IX.8 – Artigo 1. Effect of deep intramuscular stimulation and transcranial magnetic stimulation in the peripheral and neurophysiological biomarkers in myofascial pain syndrome (Manuscrito submetido ao <i>The Journal of Physiology</i> ).....	115
IX.9 – Artigo 2. Motor cortex excitability and BDNF as markers for chronic musculoskeletal pain: an exploratory study (Manuscrito submetido a <i>Pain Practice</i> ).....	152

## LISTA DE ABREVIATURAS

AMPA = ácido  $\alpha$ -amino-3-hidróxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico

ANOVA = Análise de Variância (*Analysis of Variance*, em inglês)

ATP = adenosina 5' trifosfato

BDNF = fator neurotrófico derivado do encéfalo

BHE = barreira hemato-encefálica

Ca<sup>2+</sup> = íon cálcio

CAT = catalase

CGRP = peptídeo relacionado ao gene da calcitonina

COX = ciclooxigenase

CPM = modulação condicionada à dor (*Conditioned Pain Modulation*, em inglês)

CSP = período silente (*Cortical Silent Period*, em inglês)

Cu = Cobre

DCFH-DA = diacetato de dicloro-dihidrofluoresceína

DIMST = eletroestimulação intramuscular (*deep intramuscular stimulation therapy*, em inglês)

DNIC = Controle Inibitório Nociceptivo Difuso (*Diffuse noxious inhibitory control*, em inglês)

DNPH = 2,4 dinitro fenil hidrazina

EAAT-2 = *Excitatory amino acid transporter*

EAO = espécies ativas de oxigênio

EAN = espécies ativas de nitrogênio

EAV = Escala Analógica Visual

EMG = eletromiografia

Fe = Ferro

GABA = ácido- $\gamma$ -aminobutírico

GLT-1 = *glial high affinity glutamate transporter*

GPx = glutationa peroxidase

H<sup>+</sup> = íons hidrogênio

HCPA = Hospital de Clínicas de Porto Alegre

IASP = Associação Internacional para o Estudo da Dor (*International Association for Study of Pain*)

ICF = facilitação intracortical (*Intracortical Facilitation*)

IL = Interleucina

IL-10R1 = receptores de IL10 do tipo 1



IL-10R2 = receptores de IL10 do tipo 2

K<sup>+</sup> = íons potássio

kDa = kilodalton

LASER = Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*)

LDH = lactato desidrogenase

LM = limiar motor

LTD = depressão de longa duração (*Long Term Depression – LTD*)

LTP = potenciação de longa duração (*Long Term Potentiation – LTD*)

LTD-like = do tipo depressão de longa duração

LTP-like = do tipo potenciação de longa duração

MEP = potencial evocado motor (*Motor Evoked Potential*)

m/s = metros por segundo

Mn = Manganês

mRNA = ARN mensageiro (*messenger RNA*)

NADPH = *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase*

NGF = fator de crescimento neuronal

NMDA = N-metil-D-aspartato

NK = neurocinina

OA = osteoartrite

pH = potencial hidrogeniônico

rTMS = estimulação magnética transcraniana repetitiva (*Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation*)

SDM = síndrome dolorosa miofascial

SICI = inibição intracortical (*Short Intracortical Inhibition*)

sIL6-6R = receptor solúvel de IL-6

SNC = sistema nervoso central

SNC = sistema nervoso periférico

SOD = superóxido dismutase

SPSS = Statistical Package for the Social Sciences

TENS = estimulação elétrica nervosa transcutânea (*Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation*)

TMS = estimulação magnética transcraniana (*Transcranial Magnetic Stimulation*)

TNF- $\alpha$  = fator de necrose tumoral alfa- $\alpha$

TNFR1 = receptores de TNF do tipo 1

TNFR2 = receptores de TNF do tipo 2

TOIMS = *Twitch-obtaining intramuscular stimulation*

TrkB = receptor quinase relacionados à tropomiosina B

Zn = Zinco

## **LISTA DE FIGURAS**

**Figura 1.** Pontos-gatilhos.

**Figura 2.** Técnica de Estimulação Intramuscular.

**Figura 3.** Equipamento de Estimulação Magnética Transcraniana (TMS).

**Figura 4.** Protocolo do estudo.

**Figura 5.** Pontos de inserção das agulhas.

**Figura 6.** Estimulador elétrico.

**Figura 7.** Fluxograma do estudo.

**Figura 8.** Média da intensidade da Dor na EAV desde o 1º dia de intervenção até 10º dia de intervenção.

**Figura 9.** Potencial evocado motor (MEP) mensurado antes do início da intervenção e no décimo dia de intervenção após a última sessão.

## **LISTA DE TABELAS**

### **Protocolo 1.**

**Tabela 1.** Características da amostra em estudo.

**Tabela 2.** Parâmetros de excitabilidade cortical mensurados antes do início da intervenção e no décimo dia de intervenção após a última sessão.

**Tabela 3.** Parâmetros bioquímicos mensurados no basal, após 5º dia da sessão de tratamento e no 10º dia de tratamento antes da última sessão.

### **Protocolo 2.**

**Tabela 4.** Características sócio-demográficas, estado psicológico e biomarcadores da amostra.

**Tabela 5.** Parâmetros de excitabilidade cortical em pacientes com OA e SDM.

**Tabela 6.** Modelo de regressão hierárquica múltipla para parâmetros de excitabilidade cortical (ICF, ICI e CSP) e Limiar de Dor à Pressão (PPT).

**Tabela 7.** Efeito do estradiol sobre a relação entre PPT e BDNF.

## RESUMO

A dor crônica musculoesquelética é um importante problema de saúde pública, pois, além de ter alta prevalência, suas consequências são nefastas à condição física, psicológica e comportamental, levando ao afastamento do trabalho e aposentadoria precoce. Considerando que quadros de dor crônica são relacionados a alterações biológicas em importantes sistemas endógenos, a busca de biomarcadores sistêmicos interrelacionados com este processo poder ser útil para o entendimento dos possíveis efeitos terapêuticos e adversos de técnicas de neuromodulação, tanto centrais quanto periféricas. Baseado nisto, o objetivo principal deste estudo foi avaliar o efeito dos tratamentos com estimulação magnética transcraniana repetitiva (rTMS) e eletroestimulação intramuscular (DIMST) na intensidade da dor e em parâmetros bioquímicos e neurofisiológicos em pacientes com dor crônica musculoesquelética, e, secundariamente, buscar possíveis biomarcadores em quadros de dor crônica musculoesquelética. Este estudo foi dividido em dois experimentos. No experimento 1, comparou-se o efeito das técnicas de neuromodulação periférica (DIMST) e central (rTMS) sobre os parâmetros de excitabilidade cortical e níveis séricos de BDNF, S100 $\beta$ , citocinas e parâmetros de estresse oxidativo em pacientes com SDM. Foram recrutadas 46 mulheres, com idade entre 19 e 75 anos e diagnóstico de síndrome dolorosa miofascial (SDM). Trata-se de um ensaio clínico randomizado, cego, em paralelo, controlado com placebo-sham. As pacientes foram randomizadas em 4 grupos: (1) rTMS+DIMST, (2) rTMS +sham-DIMST, (3) sham-rTMS+DIMST e (4) sham-rTMS + sham-DIMST. No experimento 2, avaliou-se parâmetros neurofisiológicos de excitabilidade cortical e níveis séricos de BDNF como marcadores de dor crônica musculoesquelética. Foram recrutadas 72 mulheres, com idade entre 19 e 75 anos e diagnóstico de osteoartrite (OA) e SDM. Os parâmetros mensurados foram: dor pela escala análogo-visual (EAV), limiar de dor por algometria (PPT) e excitabilidade cortical pelo TMS. No experimento 1, as pacientes mostraram-se iguais entre os grupos no basal. Houve uma redução na dor mensurada pela EAV nos grupos 1, 2 e 3 em relação ao grupo 4. O parâmetro de excitabilidade, potencial evocado motor (MEP), apresentou um aumento de amplitude ao final da intervenção 2. Não foram observadas mudanças nos parâmetros bioquímicos analisados durante e ao final das intervenções, seja entre as intervenções e dentro das intervenções. No experimento 2, observou-se que o PPT apresenta uma correlação positiva com inibição intracortical (ICI) e negativa com a facilitação intracortical (ICF). As pacientes com SDM apresentam o período silente (CSP) mais longo que pacientes com OA. O BDNF e estradiol apresentam relação positiva com PPT; no entanto, quando foi avaliada a interação destes fatores, o efeito sobre o PPT foi em direção oposta. Em resumo, os tratamentos ativos, central e/ou periférico, mostraram-se eficazes no alívio da dor, porém, dentre os parâmetros bioquímicos analisados, não se observou biomarcador responsivo a estas técnicas. Sugere-se uma relação entre dor crônica musculoesquelética e alterações na excitabilidade cortical do córtex motor. Além disto, é importante ressaltar que estes tratamentos não alteraram nenhum dos parâmetros de avaliação de dano celular, como, por exemplo, o aumento de proteína glial (S100 $\beta$ ), sugerindo que são técnicas seguras no que se refere aos parâmetros avaliados nesta tese. Posteriores estudos são necessários buscando novos biomarcadores que permitam um melhor diagnóstico, prognóstico e avaliação da resposta ao tratamento com técnicas de neuromodulação na dor crônica musculoesquelética.

**Palavras chave:** dor musculoesquelética, síndrome dolorosa miofascial; BDNF, citocinas, estimulação magnética transcraniana e estimulação intramuscular elétrica.

## ABSTRACT

Chronic musculoskeletal pain is a major public health problem with high prevalence, because, besides its high prevalences, its consequences are harmful to the physical, psychological and behavioral condition, leading to absence from work and early retirement. Taking into account that chronic pain processes are related to biological changes in endogenous systems, searching systemic biomarkers interconnected with this process can be useful to understand the potential therapeutic and adverse effects of the neuromodulation techniques, both central and peripheral. Based on that, the aim of this study was to evaluate the effect of treatment with repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) and intramuscular electrical stimulation (DIMST) on pain intensity, biochemical and neurophysiological parameters in chronic musculoskeletal pain patients. Secondly, the aim was to find possible biomarkers in chronic musculoskeletal pain conditions. This study was divided into two protocols. Protocol 1, it was compared the effect of central (rTMS) and peripheral (DIMST) neuromodulation techniques on pain intensity, cortical excitability parameters and serum levels of BDNF, S100 $\beta$ , cytokines and oxidative stress parameters in patients with myofascial pain syndrome (MPS.) Forty women, aged between 19 and 75 years, MPS diagnosis were recruited. This is a randomized, blind, parallel, placebo - sham clinical trial. The patients were randomized into four groups: (1) rTMS + DIMST, (2) rTMS + sham-DIMST, (3) sham-rTMS + DIMST, and (4) sham-rTMS + sham-DIMST. Protocol 2, we assessed the neurophysiological parameters of cortical excitability and BDNF serum levels as markers of chronic musculoskeletal pain. Seventy-two women, aged between 19 and 75 years diagnosed with osteoarthritis (OA) and MPS were recruited. The measured parameters were: pain intensity by visual analogue scale (VAS), pain pressure threshold (PPT) and cortical excitability by TMS. In protocol 1, the patients presented similarities in the baseline between the four groups. The patients presented a reduction in pain intensity measured by VAS in the groups 1, 2 and 3 in relation to group 4. After rTMS intervention, there was an increase in the MEP amplitude. There were no changes in biochemical parameters analyzed during and after the interventions. In protocol 2, it was observed that PPT has a positive correlation with intracortical inhibition (ICI) and negative correlation with intracortical facilitation (ICF). Patients with MPS exhibit longer silent period (CSP) than OA patients. BDNF and estradiol serum levels presented a positive correlation with PPT; however, when their interaction was assessed, the effect on the PPT was in the opposite direction. In summary, the active, central and/ or peripheral treatments were effective in relieving the pain; however, among the biochemical parameters analyzed, there was no biomarker responsive to these techniques. It is suggested a relationship between chronic musculoskeletal pain and changes in cortical excitability of the motor cortex. Furthermore, it is important to note that these treatments did not alter any of the parameters of cellular damage assessment, such as the increase of glial protein (S100 $\beta$ ), suggesting that they are safe as to the parameters evaluated in these techniques. Further studies are needed to find new biomarkers that allow better diagnosis, prognosis and assessment of treatment response with neuromodulation techniques in chronic musculoskeletal pain.

**Keywords:** musculoskeletal pain, myofascial pain syndrome, BDNF, cytokines, transcranial magnetic stimulation, deep intramuscular stimulation therapy.

---

## **I. INTRODUÇÃO**

## 1. Dor crônica e sensibilização

A dor é conceituada pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (*International Association for Study of Pain – IASP*) como “uma experiência sensorial e emocional desagradável, relacionada com lesão tecidual real ou potencial, ou descrita em termos deste tipo de dano” (Merskey & Bogduk, 1994; Linton & Skevington, 1999). A dor de modo geral, seja aguda ou crônica, leva o indivíduo a manifestar sintomas como alterações de sono, apetite, manifestações de irritabilidade, diminuição da capacidade de concentração e restrições na execução de atividades profissionais e sociais.

A dor pode ser classificada em aguda ou crônica, segundo critério de classificação temporal. A dor aguda tem geralmente uma causa próxima, e exerce uma função de proteção essencial, associando estímulos nocivos potencialmente prejudiciais com uma sensação desagradável (Woolf, 2004). É causada por traumas, doenças subjacentes ou alterações funcionais musculares ou viscerais e, na maioria dos casos, cessa em alguns dias ou semanas, sendo responsiva a analgésicos clássicos. Ao contrário do objetivo protetor da dor aguda, a dor pode se tornar persistente ou crônica; neste caso ou o organismo não é capaz de reverter a lesão, ou são estabelecidos mecanismos adaptativos inadequados (D’Mello & Dickenson, 2008), acarretando prejuízos ao organismo. Para a dor crônica, um dos critérios diagnósticos preconizado pela IASP é duração por pelo menos três meses; no entanto alguns autores sugerem que a dor crônica pode variar de um a seis meses (Morgan & Mikhail, 1996; Loeser *et al.*, 2001).

A dor crônica é de difícil tratamento e está associada a substancial sofrimento psicológico, prejuízo funcional e diminuição da capacidade física (Wolfe *et al.*, 1990; Verhaak *et al.*, 1998). Segundo a Organização Mundial de Saúde, anualmente, 1 em cada 10 adultos tem diagnóstico de dor crônica (Goldberg & McGee, 2011). Mais especificamente, as dores crônicas de origem musculoesqueléticas representam um problema de saúde pública de



custo elevado e, por serem incapacitantes, têm um impacto devastador na qualidade de vida do indivíduo. Dor referida, disestesia, distúrbios das funções autonômicas (lacrimejamento ou secura nos olhos, coriza persistente, salivação excessiva), e/ou motoras (espasmos musculares, perda da coordenação motora), hiperalgesia secundária, além de distúrbios proprioceptivos, como tontura e zumbido (Kruse & Christiansen, 1992; Okeson, 1998; Cummings & White, 2001) são disfunções que podem estar relacionadas à dor miofascial. Entre as dores musculoesqueléticas, a síndrome dolorosa miofascial (SDM) é considerada um problema de saúde frequente que acarreta sérios prejuízos pessoais e econômicos à população.

Considerando a complexidade na transmissão do estímulo nociceptivo, os processos de dor crônica podem desencadear alterações plásticas em diversos níveis deste sistema, levando à sensibilização tanto em nível periférico quanto central (Ji *et al.*, 2003; Basbaum *et al.*, 2009; Costigan *et al.*, 2009). A sensibilização periférica está envolvida com o acúmulo de moduladores locais liberados em resposta ao dano e que atuam sobre a aferência nociceptiva primária. Esta sensibilização tem como consequência a exacerbação da resposta ao estímulo doloroso (Woolf, 1989; Woolf & Chong, 1993; Aida *et al.*, 1999). Dentre os mediadores, a bradicinina e a substância P promovem intensa vasodilatação e aumento da permeabilidade capilar, contribuindo para o aumento da inflamação (Cockcroft *et al.*, 1994; Karabucak *et al.*, 2005) e as prostaglandinas promovem a diminuição do limiar dos nociceptores (O'Banion, 1999).

A sensibilização central, que ocorre na medula espinhal, pode estar relacionada a processos independentes (*wind up*, sensibilização sináptica clássica e potenciação de longa duração - LTP) e dependentes de transcrição gênica (fase tardia da LTP e facilitação de longo prazo) (Ji *et al.*, 2003). A sensibilização sináptica clássica está relacionada com estímulos repetidos da periferia ou estimulação assíncrona, aumentando a resposta de fibras A $\delta$  e C

(potenciação homossináptica) e fibras A $\beta$  (potenciação heterossináptica)(Klein *et al.*, 2008). O *wind-up* resulta da somação de potenciais pós-sinápticos lentos após estimulação repetida de baixa frequência (<5Hz) e por tempo prolongado (Li *et al.*, 1999). A LTP está relacionada com estímulos repetidos de alta frequência com posterior ativação de receptores ácido  $\alpha$ -amino-3-hidróxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico (AMPA) e neurocinina (NK)-1 (Randic *et al.*, 1993), sendo caracterizada como aumento persistente da eficiência sináptica (Sandkühler & Liu, 1998). Diferentes sistemas estão envolvidos na indução e manutenção da sensibilização central (Millan, 1999), e os receptores glutamatérgicos do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) exercem um papel fundamental neste processo (Neugebauer *et al.*, 1993; Woolf & Salter, 2000), com aumento de influxo de Ca<sup>2+</sup> e sinalização intracelular mediada dependente de Ca<sup>2+</sup>. A facilitação de longo prazo está relacionada com mudança fenotípica no gânglio da raiz dorsal por meio da ativação de fatores de transcrição, como por exemplo, a expressão de genes de formação imediata (c-fos) e de enzimas (ciclooxigenase - COX-2) (Rocha *et al.*, 2007).

É importante destacar que o processo de sensibilização central em pacientes com dor crônica pode ainda estar envolvido com a disfunção do sistema inibitório descendente (Zhuo, 2008). Em humanos, um dos métodos de avaliação deste sistema está relacionado com o Controle Inibitório Nociceptivo Difuso (DNIC), onde um estímulo doloroso heterotópico tônico (estímulo térmico, mecânico, elétrico ou químico) tem a capacidade de diminuir a percepção de dor existente em outra parte do organismo (Graven-Nielsen *et al.*, 1998; Bouhassira *et al.*, 2003). Experimentalmente, foi demonstrado que mulheres apresentam este sistema menos eficiente comparado aos homens (Ge *et al.*, 2004). Além disso, este sistema mostra ser menos eficiente em patologias como disfunção temporo-mandibular miofascial (Bragdon *et al.*, 2002), dor crônica lombar (Peters *et al.*, 1992), fibromialgia (Kosek & Hansson, 1997), osteoartrite (Arendt-Nielsen *et al.*, 2010) e cefaleia crônica do tipo tensional

(Sandrini *et al.*, 2006). Atualmente, a denominação “modulação condicionada à dor” (*conditioned pain modulation* – CPM) tem substituído a DNIC (Yarnitsky, 2010).

Adicionalmente, algumas doenças crônicas apresentam maior prevalência em mulheres do que em homens, entre elas migrêneas, problemas temporomandibulares, síndrome do túnel do carpo, fibromialgia, osteoartrite e dor relacionada a doenças autoimunes como artrite reumatóide (Greenspan *et al.*, 2007; Fillingim *et al.*, 2009). Além disso, a dor pode ativar diferentes áreas neurais em homens e mulheres (Gould *et al.*, 1990; Juraska, 1991; Roof, 1993), com ativações no córtex pré-frontal ventromedial, córtex cingulado anterior direito e amígdala esquerda em mulheres e córtex pré-frontal dorsolateral direito, ínsula e substância cinzenta periaquedutalem homens (Naliboff *et al.*, 2003). Evidências sugerem que o gênero tem maior influência sobre limiar de dor à pressão do que ao calor (Riley *et al.*, 1998).

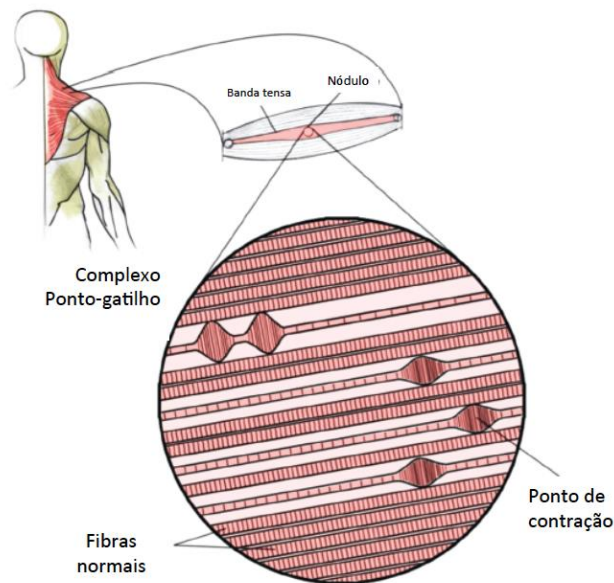
Os mecanismos pelos quais os hormônios gonadais influenciam a percepção à dor não estão totalmente esclarecidos. Sabe-se que as flutuações em níveis hormonais ocorrem muito com o aumento da idade em homens e mulheres (Harman *et al.*, 2001; Cervellati *et al.*, 2011). Porém, em mulheres, estas flutuações ocorrem também durante o ciclo menstrual, na gravidez e na menopausa. Estudos demonstram que mulheres, em diferentes condições de dor, sentem mais dor que homens (Fillingim *et al.*, 2009; Hurley & Adams, 2008; Paller *et al.*, 2009). Um estudo prévio do nosso grupo de pesquisa sugere que a modulação dos níveis de BDNF sobre o limiar de dor sujeitos saudáveis é dependente do gênero, apresentando um efeito positivo sobre o limiar de dor em mulheres, onde o aumento dos níveis de BDNF está correlacionado com um aumento do limiar de dor à pressão, e o efeito observado em homens está em direção oposta (Stefani *et al.*, 2013). Além disto, um estudo em animais demonstrou que os níveis de estrogênio regulam a expressão de BDNF mRNA em áreas associadas ao processo nociceptivo, como o hipocampo, o córtex cerebral e a medula espinhal (Allen & McCarson,

2005).

## 2. Síndrome Dolorosa Miofascial (SDM)

Entre as causas mais comuns de dor crônica musculoesquelética está a SDM (Simons *et al.*, 2005), atingindo 30% dos pacientes na atenção clínica primária (Skootsky *et al.*, 1989) e até 85% dos pacientes em centros especializados de dor (Gerwin, 2001), sendo mais prevalente em mulheres, com uma relação de aproximadamente 3:1 (Long & Kephart, 1998). Os locais mais comuns de desenvolvimento da SDM são a região lombar, os ombros, a cabeça e a face (Fricton, 1994), e as causas mais comuns são traumatismos, microtraumatismos repetitivos, sobrecargas agudas, descondicionamento físico, acidentes automobilísticos (“efeito chicote” com comprometimento da região cervical ou lombar) e estresse emocional (Lin *et al.*, 2001).

A SDM é caracterizada como uma disfunção regional proveniente de pontos-gatilhos (pontos hipersensíveis ou *trigger points*) localizados em músculos, inserções tendinosas e fáscias (Simons *et al.*, 1999; Figura 1). Os pontos-gatilhos são facilmente identificáveis por meio de palpação produzindo contração local (*twitch*) e dor referida (aquela sentida em área de superfície distante do órgão estimulado) (Gerwin, 1995; Simons *et al.*, 1999).



**Figura 1.** Pontos-gatilhos (Adaptado de Simons & Travell, 1998).

A identificação dos pontos-gatilhos está relacionada com presença de nódulos na banda tensa, reconhecimento da dor pelo paciente e limitações de movimento (Simons, 2002). Estes pontos-gatilhos podem ser classificados como ativos ou latentes (Alvarez & Rockwell, 2002); quando ativos, causam dor espontânea gerando disfunções motoras como rigidez e restrição de movimento, enquanto que pontos-gatilhos latentes provocam disfunção motora sem dor, porém a dor estando presente após palpação ou estímulo mecânico (Lucas, 2008).

A dor miofascial local é associada com a liberação de substâncias algícas do músculo lesado, incluindo trifosfato de adenosina (ATP) (Reinohl *et al.*, 2003), bradicinina, 5-hidroxitriptamina, prostaglandinas, potássio e prótons relacionados à isquemia local. Estas substâncias podem ativar nociceptores musculares e provocar a liberação de peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) a partir de fibras de dor muscular, que, por sua vez, aumentam a atividade da placa terminal motora. Isquemia muscular local, atividade elétrica espontânea, níveis elevados do CGRP, substância P (SP), norepinefrina, fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucinas (IL) 1 e IL-6, diminuição do pH do tecido e

alterações periféricas como hiperatividade autonômica (Maekawa *et al.*, 2002) são algumas das alterações musculares relacionadas à SDM (Borg-Stein & Simons, 2002; Shah *et al.*, 2005).

O estímulo doloroso originado no musculoesquelético é transmitido por nociceptores polimodais do grupo III (fibras A $\delta$ ) e do grupo IV (fibras C). Estes nociceptores, quando sensibilizados pelos mediadores inflamatórios e neuropeptídios, podem levar a hiperalgesia e sensibilização central de neurônios do corno dorsal (Mense, 2003).

A sensibilidade apresentada na zona dos pontos-gatilho pode estar relacionada com a hiperalgesia ou alodinia, ambos os fenômenos envolvidos com a sensibilização central (Mense & Simons, 2001). Corroborando este conceito, Sluka e colaboradores demonstraram a participação de alterações plásticas no SNC, mais especificamente em neurônios da medula espinhal e do tálamo, na resposta hiperalgésica mecânica secundária (2001). A sensibilização central participa do desenvolvimento da sensibilidade, bem como da dor referida (Arendt-Nielsen & Graven-Nielsen, 2008), e é também um fator importante na origem da fibromialgia e SDM (Henriksson & Mense, 1994; Mense, 1998).

### **3. Terapias nãofarmacológicas para o tratamento da dor crônica musculoesquelética**

A avaliação de novas terapias, farmacológicas e não farmacológicas, devem ser estimuladas, contribuindo, assim, para um tratamento mais efetivo desta condição. Dentre as terapias farmacológicas, a aplicação de agentes tópicos como anti-inflamatórios não-esteroidais, agentes opióides, novos agentes analgésicos (Argoff, 2002) e infiltração local com anestésico têm apresentado efeito satisfatório no alívio da dor miofascial (Fischer, 1999).

No entanto, terapias não farmacológicas têm sido largamente estudadas para o tratamento da SDM. Dentre as terapias não farmacológicas que produzem alívio satisfatório da dor miofascial estão: Terapia Manual (Kostopoulos & Rizopoulos, 2001), Compressão (Hong *et al.*, 2004), Quiropraxia (Hsieh & Hong, 1990), Estimulação Elétrica Nervosa Transcutânea (TENS) (Hsueh *et al.*, 1997), Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação (LASER) (Snyder-Mackler *et al.*, 1986), Agulhamento de pontos-gatilho [agulhamento seco (Chu, 1995), Acupuntura (Smith *et al.*, 2007), e Agulhamento seco acoplado à estimulação elétrica (Chu *et al.*, 2004)].

A Acupuntura é uma das formas mais antigas de terapia baseada na filosofia Chinesa, que postula que qualquer doença do organismo ocorre devido ao desequilíbrio entre as forças Yin e Yang (Dupler, 2001). Conforme esta filosofia, as desordens ou doenças são manifestadas em pontos específicos na pele ou proximidades, e a energia vital circula pelo corpo por meio dos meridianos (Wildish, 2000). Para melhor obtenção do alívio imediato da dor nas técnicas de agulhamento dos pontos-gatilho, muitos autores ressaltam a importância de promover a resposta de contração local (*twitch*) durante o agulhamento, resposta similar ao efeito “De *Qi*” (estimulação energética) em acupuntura (Chu, 1995; Gunn, 1996a; Hong, 1994a, 2000). Esta sensação é caracterizada por sensação subjetiva de plenitude, dormência, formigamento e calor, um pouco de dor local e sensação de distensão (MacPherson & Asghar, 2006). Os acupunturistas acreditam que o agulhamento restabelece o equilíbrio do organismo (Kaptchuk, 2000), e os pacientes experimentam a sensação “De *Qi*”. Novas formas de acupuntura têm sido desenvolvidas, como acupuntura auricular em mãos e pés, incluindo a eletroacupuntura (agulhas acopladas a um estimulador elétrico) (Lao, 1996).

Com relação ao agulhamento seco (*dry needling*), este é uma técnica baseada na Acupuntura Ocidental, considerando princípios de neurofisiologia e neuroanatomia (Smith & Hay, 2004). O agulhamento seco profundo (*deep dry needling*) consiste na inserção da

agulha sobre o ponto-gatilho, e sua eficácia está relacionada com a intensidade da dor causada pela inserção e a precisão do local de agulhamento (Lewit, 1979). Em 1996b, Gunn denominou esta técnica como “estimulação intramuscular” (*intramuscular stimulation*). Alguns pesquisadores acreditam que sua maior efetividade está relacionada com o maior número de contrações geradas com o agulhamento (Hong, 1994b; Chu, 1997, 1999), sendo atualmente conhecida como *twitch-obtaining intramuscular stimulation (TOIMS)*. Seu efeito no alívio da dor miofascial está relacionado com a inserção da agulha sobre o ponto-gatilho que promove a contração local (*twitch*) com consequentes alterações no comprimento e na tensão da fibra, ativando fibras mecanoreceptivas. Este impulso sensorial atua como efeito do tipo “portão”, bloqueando o estímulo nociceptivo proveniente do ponto-gatilho (Chu, 1995). O mecanismo de ação desta técnica pode também estar relacionado com o DNIC (Kim et al., 2013), ou produção de endorfinas, serotonina e acetilcolina em nível de SNC (Chu et al., 1979; Stux et al., 2003).

É importante ressaltar que, em pontos-gatilho localizados em regiões próximas a órgãos vitais como o pulmão, a técnica de agulhamento seco superficial (*superficial dry needling*) pode ser utilizada (Lewit, 1979). A inserção da agulha é feita sobre o tecido subcutâneo próximo ao ponto-gatilho, sendo capaz de promover o alívio da dor (Macdonald et al., 1983). O efeito desta técnica parece estar relacionado à estimulação de fibras do tipo A $\delta$  com consequente liberação de peptídeos opióides de interneurônios inibitórios encefalinérgicos localizados no corno dorsal da medula espinhal (Bowsher, 1998), bem como pela geração de um potencial elétrico entre a agulha e a pele (Karavis, 1997).

Alguns estudos demonstram a eficácia da estimulação intramuscular no manejo da dor crônica miofascial (Chu, 2000; Couto et al., 2013, Figura 2) e da eletroestimulação intramuscular no alívio de dor crônica cervical (Chu et al., 2005; Lee et al., 2008). A técnica de eletroestimulação contribui para a eficiência analgésica da acupuntura (White et al., 2001;



Greif *et al.*, 2002), onde, em baixas frequências (2 Hz), facilitam a liberação de encefalinas, enquanto que, em altas frequências (100 Hz), estimulam a liberação de dinorfinas (Han, 2003, 2004). O sistema descendente inibitório também é ativado pela eletroacupuntura (Lee *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2011), e a estimulação de regiões que fazem parte deste sistema (substância cinzenta periaquedutal, núcleo magno da rafe, locus coeruleus) potencializam o seu efeito analgésico (Zhao, 2008).



**Figura 2.** Técnica de Estimulação Intramuscular (Fonte: Autor).

Além de técnicas neuromodulatórias periféricas, consideradas como técnicas de modulação do tipo “*bottom-up*”, investigadas no alívio de dor crônica musculoesquelética, como a estimulação intramuscular acoplada à corrente elétrica, as técnicas de neuromodulação central, técnicas do tipo “*top-down*”, têm sido amplamente estudadas no âmbito de novas terapêuticas para dor crônica.

Dentre os métodos de estimulação central utilizados para o alívio da dor crônica, destaca-se a Estimulação Magnética Transcraniana repetitiva (rTMS, *Transcranial Magnetic Stimulation*), considerado um método focal e não-invasivo. Apesar de ser um método antigo de estimulação cerebral (Barker *et al.*, 1985), na última década tem sido investigado para tratamento de diversas patologias. Esta técnica tem demonstrado bons resultados em pacientes

com depressão (O'reardon *et al.*, 2007), acidente vascular encefálico, doença de Parkinson, epilepsia (Fregni & Pascual-Leone, 2007) e, recentemente, dor em pacientes com quadro depressivo (Avery *et al.*, 2007) e dor neuropática (Khedr *et al.*, 2005; Lefaucheur, 2006a).

O córtex motor primário tem sido a área alvo na utilização desta técnica para o tratamento de dor crônica (Cruccu *et al.*, 2007; Lefaucheur *et al.*, 2008; Lefaucheur, 2008; Fregni *et al.*, 2007; Leo & Latif, 2007; Lima & Fregni, 2008). Por exemplo, a rTMS aplicada sobre córtex motor primário reduziu a dor, e melhorou a qualidade de vida de pacientes fibromiálgicos (Passard *et al.*, 2007). No entanto, para maior eficácia, a rTMS deve ser focal, utilizando-se bobina em forma de oito, sob alta frequência, acima de 5 Hz, de longa duração, pelo menos 1000 pulsos e sessões repetidas de tratamento (Cruccu *et al.*, 2007).

Apesar das evidências de alívio da dor após rTMS aplicado sobre o córtex motor, seu mecanismo não está totalmente compreendido. Estudos sugerem que o efeito analgésico relacionado com a estimulação do córtex motor pode estar envolvido com a diminuição da transmissão na informação sensorial (Pleger *et al.*, 2004), o aumento da atividade da substância cinzenta periaquedutal (Pagano *et al.*, 2011), e também com a restauração intracortical do sistema inibitório gabaérgico (Lefaucheur *et al.*, 2006b). Além disso, a estimulação do córtex motor ativa interneurônios intercorticais e axônios corticoespinhais, podendo estas fibras estimular diferentes áreas, como: projeções talâmicas, projeções córtico-corticais e conexões em paralelo as lâminas corticais (Lima & Fregni, 2008). Enquanto que uma simples sessão de rTMS aplicada sobre córtex motor promove curta duração do alívio da dor (Lefaucheur *et al.*, 2001; Pleger *et al.*, 2004), sessões repetidas de rTMS prolongam este efeito (Khedr *et al.*, 2005).

A técnica de TMS baseia-se na geração de um campo magnético por meio de uma bobina acoplada a um gerador; este campo magnético atravessa o crânio e produz uma corrente elétrica capaz de despolarizar os neurônios (Barker, 1999, Rossi *et al.*, 2009, Figura 3). O

estímulo magnético atinge aproximadamente 2 cm de profundidade, podendo variar de acordo com a bobina utilizada (Zangen *et al.*, 2005). No entanto, este estímulo, além de atingir regiões corticais, pode atingir também, de forma indireta, regiões subcorticais (Lefaucheur *et al.*, 2006a). Esta técnica, quando aplicada sobre o córtex motor, é capaz de produzir movimento contralateral de contração visível, ou mensurado por meio da técnica de eletromiografia (EMG), e está relacionada diretamente à área motora estimulada no córtex.



**Figura 3.** Equipamento de Estimulação Magnética Transcraniana (TMS) (Fonte: Autor).

Estudos demonstram que estimulações de alta frequência (iguais ou superiores a 5Hz) promovem um aumento da excitabilidade do córtex motor (Chen *et al.*, 1997; Muellbacher *et al.*, 2000, 2002), como demonstrado pelo aumento da amplitude do potencial evocado motor (MEP) após rTMS (Pascual-Leone *et al.*, 1994), enquanto que baixas frequências (em torno de 1Hz) são capazes de diminuir a excitabilidade do córtex motor (Berardelli *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 1997a; Maeda *et al.*, 2000; Muellbacher *et al.*, 2000, 2002).

Os mecanismos propostos das alterações plásticas ocorridas no córtex motor podem estar relacionados com processos como a LTP e depressão de longa duração (LTD), como demonstrado por Wang e colaboradores (1996), onde efeitos do tipo *LTP-like* e *LTD-like*

foram demonstrados em córtex auditivo de ratos após rTMS, ou seja, altas frequências de rTMS estão associadas a *LTP-like* (Peinemann *et al.*, 2004; Quartarone *et al.*, 2005), enquanto que baixas frequências estão associadas com *LTD-like* (Chen *et al.*, 1997; Lang *et al.*, 2006). Também, os efeitos da TMS na modulação de neurotransmissores (Ben-Shachar *et al.*, 1997; Keck *et al.*, 2000) e na indução gênica (Hausmann *et al.*, 2000) podem contribuir para seus mecanismos de longa duração. Estudo prévio demonstrou que, 24 horas após uma única sessão de estimulação repetitiva alta frequência, houve um aumento de sítios de ligação de NMDA em hipotálamo, amígdala e córtex parietal (Kole *et al.*, 1999).

Além da possibilidade de ser uma nova terapêutica para quadros de dor crônica, a TMS pode ser utilizada como ferramenta auxiliar no entendimento de parâmetros neurofisiológicos relacionados à excitabilidade cortical e processos de dor crônica. Pacientes fibromiálgicos apresentam menores níveis de facilitação intracortical (ICF) e inibição intracortical (SICI) que sujeitos saudáveis (Mhalla *et al.*, 2010), e pacientes com neuralgia apresentam redução na ICI (Schwenkreis *et al.*, 2010). Os efeitos observados na mudança da excitabilidade cortical motora, quer para compreensão de mecanismos fisiopatológicos, por estimulação transcraniana, quer pelo uso de medicações, podem ser mensurados por esta técnica e quantificados por meio da observação de alterações no MEP registrado por EMG. Os parâmetros neurofisiológicos de excitabilidade cortical comumente investigados pela técnica de TMS e mensurados por EMG são: o Limiar Motor (LM), o MEP, a ICF, a SICI e o período silente (CSP). Esses parâmetros neurofisiológicos estão relacionados com diferentes sistemas de neurotransmissão.

Os processos de dor crônica são capazes de modular sistemas biológicos endógenos associados a biomarcadores; no entanto, os efeitos desencadeados pelas técnicas de neuromodulação sobre os marcadores periféricos e centrais não estão completamente compreendidos. Os marcadores biológicos e neurofisiológicos podem contribuir para um

melhor entendimento dos efeitos terapêuticos e adversos destas técnicas em quadros de dor crônica como a SDM.

#### 4. Biomarcadores

Os biomarcadores podem ser utilizados como parâmetros de avaliação em diversas situações, entre elas, confirmação de diagnóstico, relação causa-efeito, efetividade de tratamento. Estes biomarcadores podem ser encontrados periférica ou centralmente, sendo de fácil mensuração como aqueles que estão em soro ou plasma, ao contrário dos neurofisiológicos, como os parâmetros de excitabilidade cortical. Adicionalmente, a dor crônica é capaz de ativar diversos sistemas endógenos, como o endócrino, o autonômico e o imune.

Durante processos de dor crônica, há um aumento na síntese de BDNF, tanto nos aferentes primários, quanto em neurônios de segunda ordem (Onda *et al.*, 2004; Pezet & McMahon, 2006), e células gliais (Tokumine *et al.*, 2003; Coull *et al.*, 2005) da medula espinhal. O BDNF é sintetizado no gânglio da raiz dorsal e transportado até o terminal aferente primário (Zhou & Rush, 1996; Michael *et al.*, 1997; Li *et al.*, 1999b), sendo liberado no corno dorsal da medula espinhal, ligando-se ao TrkB presente em neurônios de segunda ordem (Pezet *et al.*, 2002b), sendo também encontrados pré-sinápticamente (Salio *et al.*, 2005).

Além disso, o BDNF atua sobre os receptores NMDA nas vias nociceptivas ascendentes e descendentes (Malenka & Bear, 2004) e na regulação de interneurônios gabaérgicos em córtex cerebral (Woo & Lu, 2006), e na modulação da neurotransmissão peptidérgica (Merighi *et al.*, 2008). A facilitação na transmissão glutamatérgica é considerada um importante mecanismo em neuroplasticidade sináptica de longa duração (LTP) no SNC (Figurov *et al.*, 1996; Levine *et al.*, 1998; Schinder & Poo, 2000; Kovalchuk *et al.*, 2002).A

administração de BDNF induz hiperalgesia térmica e alodinia mecânica (Shu *et al.*, 1999; Miki *et al.*, 2000; Zhou *et al.*, 2000), bem como aumento na ativação de receptores NMDA em medula espinhal *in vitro*, um mecanismo de sensibilização central de neurônios espinhais (Kerr *et al.*, 1999).

O BDNF é uma neurotrofina de 12.4 kDa (Barde *et al.*, 1982), atualmente conhecida como neurotransmissor e neuromodulador (Merighi *et al.*, 2004; Pezet *et al.*, 2002a), com importante participação no processo nociceptivo (Matayoshi *et al.*, 2005; Pezet & McMahon, 2006). Autores sugerem que os níveis séricos e plasmáticos de BDNF refletem os níveis tecido-encéfalo em diferentes espécies (Klein *et al.*, 2010), podendo ser um excelente marcador dos níveis centrais (Karege *et al.*, 2002b). O encéfalo é responsável por aproximadamente 75% dos níveis circulantes de BDNF, com uma pequena participação da periferia (Rasmussen *et al.*, 2009). Foi demonstrada uma correlação positiva entre os níveis séricos e centrais de BDNF em ratos (Karege *et al.*, 2002a), bem como os níveis séricos e líquóricos em humanos (Pillai *et al.*, 2010). Tem sido amplamente demonstrada a relação entre níveis de BDNF e diversas patologias, como, por exemplo, aumento de seus níveis em pacientes com fibromialgia, dermatite atópica, migrânea, esclerose múltipla, e diminuição em pacientes com depressão maior e epilepsia (Forsgren *et al.*, 2011).

Adicionalmente, as citocinas apresentam atividade no processo nociceptivo; as citocinas pró-inflamatórias, como as IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6 e TNF- $\alpha$ , apresentam efeitos principalmente algícos; por outro lado, as citocinas anti-inflamatórias, como as IL-4, IL-10, e IL-13, têm função analgésica (Üçeyler *et al.*, 2009). O sistema imune, quando ativado, promove a liberação de mediadores como óxido nítrico, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  e fator de crescimento neuronal (NGF) (Sommer *et al.*, 2001; Coutaux *et al.*, 2005; Zhang & Huang, 2006), que contribuem para a sensibilização periférica e central (Julius & Basbaum, 2001; Coutaux *et al.*, 2005; Planells-Cases *et al.*, 2005).

As citocinas são pequenas moléculas, menores que 30 kDa e suas concentrações variam de pg até ng/mL. As citocinas atravessam a barreira hemato-encefálica (BHE) por meio de transporte ativo sendo que o transporte do TNF- $\alpha$  envolve receptores dos tipos p55 and p75 (Pan & Kastin, 2002). O TNF- $\alpha$  desencadeia sua atividade por meio de receptores de TNF do tipo 1 (TNFR1) e tipo 2 (TNFR2), com menor afinidade com este último (MacEwan, 2002).

O TNF- $\alpha$  é uma citocina de 17 kDa produzida por células inflamatórias como neutrófilos, linfócitos ativados e macrófagos também por células endoteliais, células de músculo liso, fibroblastos e queratinócitos (di Giovine *et al.*, 1991; Vilcek & Lee, 1991; Zhang *et al.*, 1995). As citocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$  e IL1 $\beta$ , são também liberadas pela glia, sendo capazes de regular o desenvolvimento e a plasticidade de circuitos neuronais (Deverman & Patterson, 2009), incluindo as vias nociceptivas (Schäfers & Sorkin, 2008; McMahon & Malcangio, 2009; Ren & Torres, 2009).

Evidências indicam que a hiperalgesia induzida pelo TNF- $\alpha$  pode estar relacionada à indução de outros mediadores inflamatórios que levam à hiperalgesia (Schäfers *et al.*, 2003; Woolf *et al.*, 1997; Sommer & Kress, 2004). Em algumas condições patológicas, como enxaqueca e dores de cabeça persistentes, os pacientes apresentam níveis aumentados de TNF- $\alpha$  no plasma e líquido (Perini *et al.*, 2005; Rozen & Swidan, 2007), ainda há alguns estudos demonstrando que o tratamento com anti-TNF- $\alpha$  em condições de dor refratária melhora nos escores de dor (Tobinick, 2003, 2004).

O TNF- $\alpha$  está associado ao “*sickness behavior*” (comportamento de doença ou doentio) em humanos e modelos animais, com comportamentos de letargia, anorexia e retraimento social, enquanto a IL-10 parece contrabalancear estes efeitos (Dantzer, 2004). A administração intratecal de TNF aumenta a resposta das fibras C, e o aumento do fenômeno de *wind-up* (Reeve *et al.*, 2000) promove alterações da excitabilidade neuronal por meio de

transportadores de glutamato (EAAT2/GLT-1) e diminuição da recaptação de glutamato (Korn *et al.*, 2005).

Além disso, a IL-6 é produzida e secretada por macrófagos, células gliais e neurônios (Juttler *et al.*, 2002), e seus altos níveis estão associados com “*sickness behavior*” (Vollmer-Conna *et al.*, 2004). Autores ressaltam a presença de receptor solúvel de IL6 (sIL-6R) (Marz *et al.*, 1999), e este complexo IL-6/ sIL-6R promove o aumento da sensibilidade do nociceptor induzindo à hipersensibilidade térmica (Opree & Kress, 2000; Obreja *et al.*, 2002, 2005). A administração intratecal de IL-6 promove aumento de BDNF mRNA no gânglio da raiz dorsal (Murphy *et al.*, 2000). Além disso, a administração intramuscular produz hiperalgesia mecânica por até 5 dias (Dina *et al.*, 2008) e a injeção intraplantar e intramuscular de TNF- $\alpha$  e IL-6 em ratos promove hiperalgesia (Schafer *et al.*, 2003; Woolf *et al.*, 1997).

Estudos demonstraram que pacientes com fibromialgia apresentam níveis séricos elevados de TNF- $\alpha$  (Maes *et al.*, 1999; Wallace *et al.*, 2001; Gür *et al.*, 2002); enquanto os níveis de citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10 estão reduzidos (Üçeyler *et al.*, 2006). Além disso, a IL-10 suprime a ativação de macrófagos e inibe a habilidade de produzir e secretar citocinas pró-inflamatórias por macrófagos e células dendríticas. A IL-10 também inibe a produção de TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, e IL-8, *in vitro* (Blackwell & Christman, 1996; Sheeran & Hall, 1997). É também produzida por células não imunes, como queratinócitos, células epiteliais e tumores (Moore *et al.*, 2001; Williams *et al.*, 2004), e atua por meio de receptores específicos do tipo 1 (1) e tipo 2 (IL-10R2) (Mosser & Zhang, 2008).

Recentes estudos demonstram a participação da glia (micróglia e astrócitos) na indução e manutenção da dor em nível de medula espinhal (Watkins *et al.*, 2001; Tsuda *et al.*, 2003; McMahon *et al.*, 2005; Inoue, 2006). Após dano tecidual (pele, músculo ou articulação) ou de nervo periférico, ocorre a ativação de astrócitos em medula espinhal em resposta a neuromoduladores (neuropeptídeos e adenosina) e neurotransmissores (ATP e glutamato) e



citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ ) liberadas após o dano (Gao & Ji, 2010). Entretanto, os astrócitos participam em processos de dor persistente por meio de interleucinas IL-18 (Miyoshi *et al.*, 2008), de IL-1 $\beta$  (Guo *et al.*, 2007) e do TNF- $\alpha$  (Wei *et al.*, 2008).

Estudo das alterações cerebrais fisiológicas ou patológicas, especialmente *in vivo*, têm sido um permanente estímulo para a busca de marcadores periféricos que possam espelhar como o cérebro reage aos mais variados estímulos (Busnello *et al.*, 2008). Neste sentido, diferentes moléculas têm sido propostas pela literatura internacional como marcadores bioquímicos de atividade ou injúria neuronal e glial. Mais especificamente, a S100B é uma proteína de astrócitos que, ao ser secretada, exerce um papel trófico sobre astrócitos e neurônios (Feoli *et al.*, 2008). Em condições normais, a micróglia e os astrócitos estão quiescentes (Nimmerjahn *et al.*, 2005), porém, em condições patológicas, são ativados (Rossi *et al.*, 2007; Hanisch *et al.*, 2007). Os níveis cerebrais desta proteína se elevam devido ao aumento da secreção ou por lesão glial, podendo ser quantificada no sangue e no líquido. Tudo isso faz com que trabalhos investiguem os níveis séricos e líquóricos da proteína S100B em doenças neurodegenerativas (Peskind *et al.*, 2001; Schaf *et al.*, 2005) e doenças psiquiátricas (Lara *et al.*, 2001; Machado-Vieira *et al.*, 2002).

A enzima lactato desidrogenase (LDH) é um marcador simples periférico de dano celular (Tian *et al.*, 1999) ou tecidual, sendo responsável por catalisar a reação piruvato a lactato e vice-versa, e o aumento da sua atividade extracelular está relacionado a condições de estresse oxidativo (Jovanovic *et al.*, 2010).

O estresse oxidativo é definido como “um desequilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes em favor dos oxidantes, levando a alterações da sinalização e do controle redox e/ou danos moleculares” (Jones, 2006) sendo encontrado em diversas condições crônicas, como artrite reumatóide, Parkinson, Alzheimer, doenças cardiovasculares e diabetes mellitus (Valko *et al.*, 2007), bem como, em processos de dor crônica musculoesquelética (Altindag

&Celik, 2006; Ozgocmen *et al.*, 2006). As principais biomoléculas oxidantes estão relacionadas às espécies ativas de oxigênio (EAOs) e espécies ativas de nitrogênio (EANs). Dentre as EAOs, destacam-se o ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o ânion radical hidroxil ( $HO^{\bullet}$ ). As fontes endógenas de EAOs são NADPH oxidase, xantina oxidase, óxido nítrico sintase, COX, citocromo P-450 e cadeia respiratória (Cohen, 1994).

A peroxidação lipídica ocorre a partir da subtração de hidrogênio dos lipídios presentes principalmente na membrana plasmática por meio do ataque do radical  $HO^{\bullet}$ , levando à formação de radicais lipoperóxil ( $LOO^{\bullet}$ ) (Halliwell & Chirico, 1993). Este processo pode levar a alterações na permeabilidade e na fluidez da membrana lipídica (Dix & Aikens, 1993). Além disso, as proteínas carboniladas estão relacionadas com a oxidação de proteínas, ou seja, a fragmentação de cadeias e oxidação de aminoácidos e formação de compostos carbonilados ocorrem anteriormente e seus produtos de reação são mais estáveis do que os da peroxidação lipídica (Dalle-Donne *et al.*, 2003).

O aumento das EAOs na medula espinhal pode estar envolvido com o processo nociceptivo, por meio da redução na atividade dos interneurônios inibitórios gabaérgicos (Yowtak *et al.*, 2011; Sah *et al.*, 2002) e também com o processo de sensibilização central (Guedes *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2004), enquanto que os sequestradores (*scavengers*) de EAOs estão relacionados ao processo de alívio da dor (Naik *et al.*, 2006; Rokyta *et al.*, 2003).

Os métodos de defesa antioxidante do organismo são compostos por sistemas enzimáticos e não enzimáticos. Dentre os sistemas enzimáticos, destacam-se a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPx), entre outras. Dentre os não enzimáticos, destacam-se as bilirrubinas, o ácido úrico, vitamina C, vitamina E, entre outros. A SOD catalisa a conversão do  $O_2^{\bullet-}$  em  $H_2O_2$ , e é considerada uma das enzimas mais importantes, podendo ser encontrada sob três formas distintas: cobre e zinco (Cu/Zn-SOD), manganês (Mn-SOD) e ferro (Fe-SOD) (Diplock *et al.*, 1998; Sarni & Leite, 2003). As enzimas

CAT e GPx atuam na decomposição do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Droge, 2002), portanto apresentam um efeito protetor ao organismo (Sagara *et al.*, 1998; Sarni & Leite, 2003). Os eritrócitos possuem abundante enzimas antioxidantes como SOD, CAT e GPx (Romero *et al.*, 2003).

Considerando que a dor crônica musculoesquelética é um problema com grande impacto mundial, com alta prevalência e alto custo econômico, esta tese de doutorado visou encontrar marcadores que pudessem estar relacionados com os processos de dor crônica e com os efeitos terapêuticos e adversos de diversas técnicas utilizadas para o alívio e o tratamento desta condição.

## **JUSTIFICATIVA DO ESTUDO**

É importante ressaltar que os estudos epidemiológicos muito têm contribuído para o aumento da compreensão do processo da SDM, porém com menor incremento na compreensão da patofisiologia e das evoluções diagnóstica e terapêutica. Inúmeros processos e sistemas biológicos endógenos estão envolvidos na origem e manutenção da dor crônica, como por exemplo, disfunção do circuito neuro-imune-endócrino, que acarreta má qualidade de sono, sintomas de ansiedade, sintomas depressivos, maior susceptibilidade a infecções e manifestações de disfunções neuro-vegetativas. Deve ser salientado que, como os processos de dor crônica são capazes de modular diversos sistemas, os efeitos desencadeados pelas técnicas de neuromodulação sobre os mediadores periféricos e centrais devem ser investigados, contribuindo para um melhor entendimento dos efeitos terapêuticos e adversos destas técnicas em um modelo de dor crônica como a Síndrome Dolorosa Miofascial.

### **III- HIPÓTESES**

#### Hipótese 1.

Os tratamentos de neuromodulação periférica e central, como estimulação intramuscular elétrica e estimulação transcraniana magnética repetida, aplicadas em associação ou não, são capazes de reduzir a intensidade da dor e promover alterações nos biomarcadores periféricos e centrais em pacientes com Síndrome Dolorosa Miofascial.

#### Hipótese 2.

Os parâmetros de excitabilidade cortical e níveis séricos de fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) são marcadores de dor crônica musculoesquelética.

---

## **II. OBJETIVOS**

## **Objetivo Geral**

Considerando que quadros de dor crônica apresentam alterações biológicas em sistemas endógenos, a busca de biomarcadores deste processo pode ser útil para o entendimento dos possíveis efeitos terapêuticos das técnicas de neuromodulação, seja central e periférica. Assim, o objetivo principal deste estudo foi avaliar o efeito do tratamento com estimulação magnética transcraniana repetitiva (rTMS) e eletroestimulação intramuscular (DIMST) sobre a intensidade de dor e em parâmetros bioquímicos e neurofisiológicos em pacientes com Síndrome Dolorosa Miofascial, e, em segundo lugar, buscar possíveis biomarcadores em quadros de dor crônica musculoesquelética.

## **Objetivos Específicos**

1. Comparar o efeito das técnicas de neuromodulação periférica e central sobre a intensidade de dor, os parâmetros de excitabilidade cortical (potencial evocado motor, período silente, inibição e facilitação intracortical), os níveis séricos de BDNF, S100 $\beta$ , citocinas (TNF- $\alpha$ , IL6 e IL10) e parâmetros de estresse oxidativo (glutathiona peroxidase, catalase, superóxido dismutase, espécies ativas de oxigênio e proteínas carboniladas) de pacientes com Síndrome Dolorosa Miofascial.
2. Avaliar parâmetros neurofisiológicos de excitabilidade cortical (potencial evocado motor, período silente, inibição e facilitação intracortical) e níveis séricos de BDNF como marcadores de dor crônica musculoesquelética.

---

### **III. MATERIAIS E MÉTODOS**



## **Protocolo 1.**

### **Delineamento**

Trata-se de um ensaio clínico randomizado, cego, controlado por placebo-sham.

### **Aspectos éticos**

O protocolo segue as condições estabelecidas na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) sob os números 100196 e 100276, e está de acordo com a Declaração de Helsinki (ANEXOS IX.1 e IX.2).

### **Pacientes**

Foram recrutadas mulheres entre 19 e 75 anos de idade por meio de encaminhamento à rede pública por meio de cartazes e por nota, meios de comunicação de massa e do Serviço de Dor Crônica/HCPA.

a. Critérios de inclusão: pacientes alfabetizados, com idade de 19 a 75 anos, apresentando dor crônica musculoesquelética (>3 meses), com pelo menos um (1) ponto-gatilho miofascial e restrição dolorosa de mobilidade cervical, crânio ou face e/ou de cintura escapular, e um escore médio de dor maior ou igual a 3 cm na escala análogo visual de dor (EAV) em 5 dias pré-tratamento (os escores variam de 0 a 10 cm).

b. Critérios de exclusão: déficits neurológicos, doenças sistêmicas, fibromialgia, doenças inflamatórias crônicas, uso de corticóides e pacientes com contra-indicações do uso de estimulação magnética transcraniana repetitiva (rTMS) (Rossi *et al.*, 2009).

### **Avaliação Clínica**

No Laboratório de Neuromodulação do HCPA, o paciente foi primeiramente avaliado por profissional treinado. O diagnóstico de SDM está relacionado à dor regional, pontos-gatilho, banda tensa e pontos dolorosos. Além disso, nódulos palpáveis, dor exacerbada pelo

estresse, diminuição da amplitude do movimento são essenciais para diagnóstico de SDM (Fischer, 1986; Harden *et al.*, 2000; Simons & Dommerholt, 2005; Myburgh *et al.*, 2011).

Após a leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (**ANEXO IX.4**), o paciente foi submetido a avaliação dos parâmetros basais, incluindo questionários, parâmetros dor e excitabilidade cortical.

### **Questionários ou Escalas**

- a. As variáveis sócio-demográficas foram aferidas por meio de questionário padronizado.
- b. A dor foi aferida pela EAV no basal e no curso do tratamento. Os escores da EAV variam de 0 cm (sem dor) até 10 cm (pior dor possível) (Price *et al.*, 1983).
- c. Os sintomas depressivos foram aferidos por meio do Inventário de Depressão de Beck. Os escores variam de 0 a 63 (Gorenstein & Andrade, 1996).
- d. A incapacidade determinada pela dor foi avaliada por meio da escala de capacidade funcional em dor crônica para atividades da vida diária (Caumo *et al.*, 2013).
- e. O nível de pensamento catastrófico foi avaliado por meio da escala de pensamentos catastróficos (Shen *et al.*, 2012).
- f. A qualidade de sono foi aferida por meio do Questionário de sono de Pittsburgh (Buysse & cols., 1989).
- g. Os níveis de ansiedade foram aferidos por meio da versão reduzida do Inventário de Ansiedade Traço-Estado (Kaipper *et al.*, 2010).
- h. Aferição de potenciais efeitos adversos da estimulação magnética transcraniana foi utilizado o questionário de efeitos adversos (Figura 4).

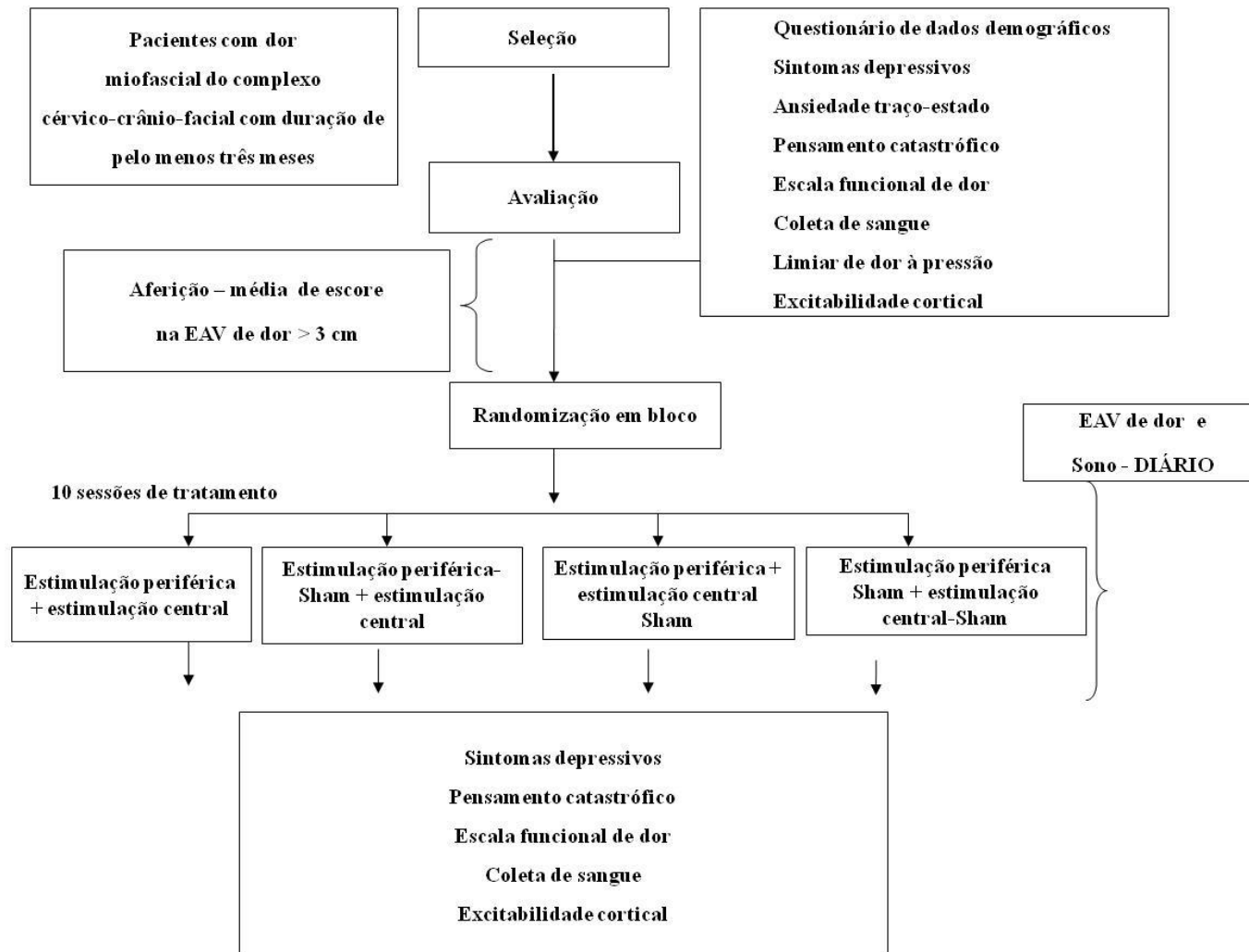


Figura 4. Protocolo do estudo.

### **Parâmetro de dor**

O limiar de dor à pressão (PPT) foi mensurado por meio de algômetro de pressão digital, com área de 1 cm<sup>2</sup> na região da pele normal do antebraço direito. A pressão máxima aplicada foi de 1400 kPa para evitar dano tecidual. O voluntário foi instruído a avisar quando a primeira sensação dolorosa, e o limiar de dor foi estabelecido pela média de três aferições (Fischer, 1987).

### **Parâmetros de Excitabilidade Cortical**

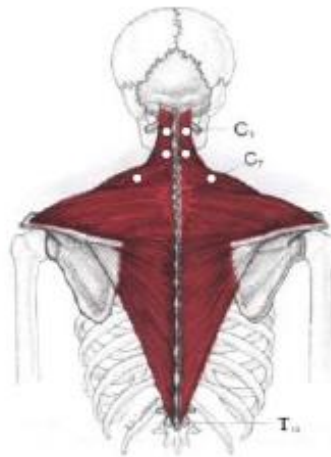
Os parâmetros de excitabilidade cortical foram mensurados (Lefaucheur *et al.*, 2006a) utilizando-se MagPro X100 (Magventure Company, Denmark) acoplada a uma bobina em formato de oito (Cool-B70 Butterfly) com diâmetro de 97 mm. A bobina foi colocada sobre o córtex motor esquerdo (área motora M1 referente à mão direita) perpendicular ao crânio em um ângulo de aproximadamente 45° ao plano sagital. Os sujeitos foram acomodados em uma poltrona confortável com os braços e mãos relaxadas. Para determinação dos parâmetros de excitabilidade cortical, em primeiro lugar foi determinado o limiar motor (MT), ou seja, o estímulo de menor intensidade que promove uma amplitude do potencial evocado motor (MEP) de 50- $\mu$ V em 5 de 10 estímulos consecutivos. O MEP é definido como amplitude de 1mV, utilizando-se 130%MT. O período silente foi realizado com ajuda de um dinamômetro, onde o paciente pressiona o equipamento em 20% da força máxima, e um estímulo de 130%MT. A facilitação (ICF) e inibição intracortical (ICI) foram realizados usando um intervalo de 12 ms e 2 ms, respectivamente, entre os pulsos. Os parâmetros de excitabilidade cortical foram mensurados na avaliação basal e no décimo dia de tratamento logo após a última sessão.

### **Intervenções**

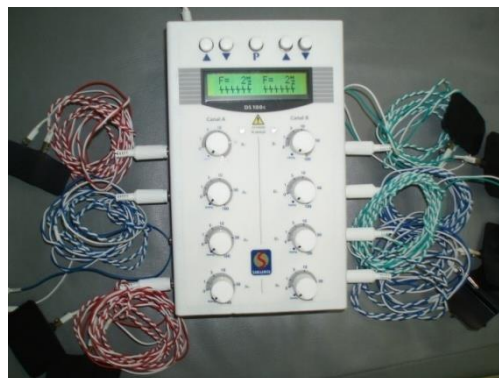
O tratamento consiste em 10 sessões diárias (de segunda a sexta), 20 minutos de estimulação periférica e 20 minutos de estimulação central. As sessões foram realizadas no Laboratório de Neuromodulação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

a. Eletroestimulação Periférica (DIMST):

O método consiste na utilização de agulhas estéreis (40 mm X 0.25 mm; Suzhou Huanqiu Acupuncture Medical Appliance Co. Ltd., 218, China), que foram inseridas diretamente nos pontos-gatilho ou bandas tensas (Couto *et al.*, 2013), de acordo com a Figura 5. A estimulação intramuscular elétrica (acupuntura neurofuncional) foi padronizada para o tempo (20 minutos), frequência de estímulo (2 Hz, contínua), intensidade de percepção do estímulo (não dolorosa, Figura 6).



**Figura 5.** Pontos de inserção das agulhas (Fonte: Autor).



**Figura 6.** Estimulador elétrico (Fonte: Autor).

b. Método Sham DIMST

O sham periférico foi constituído de eletrodos colocados sobre os mesmos pontos localizados conforme descrito no item anterior. Utilizou-se o mesmo estimulador periférico, porém os cabos estavam desconectados do estimulador.

c. Estimulação Magnética Transcraniana Repetitiva (rTMS)

Utilizou-se um aparelho de rTMS com potência máxima de 4 Tesla (T), com a bobina em forma de oito (8). A estimulação foi realizada no córtex motor primário esquerdo (M1) relacionado à mão direita, sob alta frequência (10Hz), a 80% do limiar motor. A sequência de ondas foi composta por 4 segundos de estimulação seguidos por 26 segundos de intervalo, com um total de 1600 pulsos por sessão.

d. Método Sham rTMS

Foi utilizado o mesmo equipamento de rTMS com uma bobina placebo acoplada que produz o mesmo som produzido pela bobina ativa.

**Coleta e preparação das amostras**

A coleta das amostras de sangue foi realizada em três momentos da pesquisa: a **1<sup>a</sup>** no dia que precedeu o início do tratamento; a **2<sup>a</sup>**, imediatamente após o tratamento no quinto dia; e a **3<sup>a</sup>**, no décimo dia antes da última sessão de tratamento. A coleta foi realizada por profissional treinado no Centro de Pesquisa Clínica/ HCPA. A veia cubital dos pacientes foi puncionada, e o sangue foi coletado em tubos com gel separador e/ou heparina. Imediatamente após a coleta, as amostras foram aliquotadas especificamente de acordo com cada protocolo de análise. Após 10 minutos de centrifugação a 4000 rpm, o soro e o plasma foram separados, aliquotados e imediatamente congelados à temperatura de -70°C. Foi realizada a lavagem dos eritrócitos com soro fisiológico

0,9% e posterior armazenamento à temperatura de  $-70^{\circ}\text{C}$ . Todas as análises foram realizadas posteriormente. As amostras não permaneceram armazenadas por mais de uma ano até a análise.

### **Análises bioquímicas**

As dosagens mensuradas pelo método de ELISA foram realizadas na Unidade de Análise Molecular e Proteínas (UAMP, Laboratório de Pesquisa Experimental, localizada no 1º andar, do HCPA), a análise do estradiol, no Laboratório de Patologia do HCPA, enquanto que as medidas de estresse oxidativo, no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular localizado no Instituto de Ciências Básicas da Saúde – UFRGS coordenado pela Profa. Dra. Adriane Belló-Klein e pelo Prof. Dr. Alex Sander Araujo. Para as análises de BDNF, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10, S100 beta, Lactato Desidrogenase (LDH) e Estradiol, utilizou-se o soro como amostra. Para as análises de Dano oxidativo a proteínas e Espécies Ativas de Oxigênio, utilizou-se o plasma dos pacientes, e para as análises das enzimas Catalase, Superóxido Dismutase e Glutationa Peroxidase (GPx), utilizou-se os eritrócitos.

#### BDNF, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10, S100 beta

A concentração sérica destes biomarcadores foi determinada através de Kit ELISA, sendo os ensaios realizados de acordo com as especificações de cada kit: BDNF, através do kit ChemiKine BDNF Sandwich ELISA Kit (CYT306, ChemiKine /Millipore, Billerica, MA, USA) com detecção mínima de 7,8 pg/mL; TNF- $\alpha$ , através de Kit (KHC3011, Invitrogen, Frederick, MD) com detecção mínima de 1,7 pg/mL; IL-6, através de Kit (DuoSet DY206, R&D Systems) com detecção mínima de 0,92 pg/mL; IL-10, através de Kit (DuoSet DY217B, R&D Systems) com detecção mínima de <1 pg/mL; S100 beta, através de Kit (EZHS100B-33K, Millipore, Missouri, USA) com detecção mínima de 2,7 pg/mL.

#### Lactato Desidrogenase (LDH)

A dosagem sérica de LDH foi mensurada através de kit espectrofotométrico Laborclin Bioliquid e executada de acordo com as especificações do kit. A enzima LDH foi expressa em U/L.

#### Níveis séricos de Estradiol

A dosagem sérica do estradiol foi mensurada pelo método imunoensaio quimioluminescência automatizado (Enhanced Estradiol E2; Siemens Advia Centaur) com detecção mínima de 10,7 pg/mL. Os níveis de estradiol foram expressos em pg/mL.

#### **Estresse Oxidativo**

a. Catalase (CAT): a atividade da enzima antioxidante catalase é diretamente proporcional à taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), no qual quantificou-se a velocidade de decomposição do  $H_2O_2$  em 240 nm. Os resultados foram expressos em  $\mu$ moles/mg de proteína (Aebi, 1984).

b. Superóxido Dismutase (SOD): a atividade da enzima antioxidante SOD foi determinada com a inibição da reação do radical superóxido com pirogalol (Marklung, 1985) em 420 nm. Os resultados foram expressos em U SOD/ mg de proteína.

c. Glutathione Peroxidase (GPx): a atividade da enzima GPx foi determinada medindo-se o consumo de NADPH em 340nm (Flohé & Gunzler, 1984). A atividade da GPx foi expressa em nmoles/mg de proteína.

c. Dano oxidativo a proteínas (Proteína carbonilada): o dano oxidativo às proteínas por carbonilação foi determinado de acordo com o método proposto por Reznick & Packer, 1994. A técnica baseia-se na reação das proteínas oxidadas com 2,4 dinitro fenil hidrazina (DNPH) em meio ácido, medido em 360nm. Os resultados foram expressos em nmoles/ mg de proteína.



d. Espécies Ativas de Oxigênio (EAOs): as EAOs foram determinadas medindo-se a emissão de fluorescência do diacetato de dicloro-dihidrofluoresceína (DCFH-DA), sendo mensurado em 525 nm. Os resultados foram expressos em nmol/ mg de proteína (Lebel *et al.*, 1992).

### **Determinação de Hemoglobina**

A hemoglobina foi mensurada com a utilização do reagente de Drabkin por meio da conversão à cianometahemoglobina, e os valores foram expressos em mg/mL (Drabkin & Austin, 1935).

### **Determinação de proteína**

A dosagem de proteínas foi realizada seguindo o método de Lowry e colaboradores e foram expressos em mg (Lowry *et al.*, 1951).

### **Tamanho da amostra**

O cálculo de tamanho de amostra baseou-se em prévio estudo usando rTMS (Short *et al.*, 2011) para um tamanho de efeito Cohen's ( $f^2$ ) de 0.28 para a variável dependente (EAV). O tamanho mínimo amostral para a análise de medidas repetidas com correlação de 0.2 para 10 avaliações e 4 grupos, considerando-se uma variável dependente (EAV), o poder estatístico de 80%, e o erro alfa de 5% foi de 44 pacientes (GPower 3.1.7).

### **Randomização e cegamento**

A tabela de randomização foi gerada por programa de computador (Randomlog ou similar). A randomização foi em bloco de 8 e 12 para garantir o mesmo número de sujeitos em cada grupo e estratificada para o gênero. Os códigos dos números randomizados foram armazenados em envelopes pardos lacrados com o número da sequência de entrada do paciente na parte externa do

envelope. Porém, a identificação dos códigos da randomização permaneceu aos cuidados de dois pesquisadores independentes que não participaram da seleção, aferição ou execução dos procedimentos terapêuticos. O cegamento foi mantido em todas as fases do estudo.

### **Processamento dos dados e análise estatística**

Os valores foram descritos como média ( $\pm$  desvio padrão), mediana (intervalo interquartil), ou frequência, de acordo com as variáveis em questão. A comparação basal entre os grupos foi realizada por meio de ANOVA de uma via para variáveis com distribuição normal e Kruskal-Wallis para variáveis com distribuição não-normal, enquanto que para a comparação de frequências foi utilizado o teste de Qui-quadrado ou Fischer. As variáveis dependentes foram o potencial evocado motor (MEP), a inibição intracortical (SICI), a facilitação intracortical (ICF) e o período silente (CSP); e os parâmetros bioquímicos séricos (BDNF, S100 $\beta$ , LDH, citocinas e parâmetros de estresse oxidativo). A análise utilizada conduzida foi modelos mistos com as variáveis independentes tempo, intervenção (rTMS + DIMST, rTMS + sham-DIMST, sham-rTMS + DIMST, sham-rTMS + sham-DIMST) e interação tempo x intervenção. O teste de Bonferroni foi utilizado para as comparações múltiplas, quando apropriado. O método de análise intenção-de-tratar (*intention-to-treat*) foi considerado para evitar possíveis vieses (Gupta, 2011).

Para todas as análises, o nível de significância estatística para o erro alfa estabelecido foi um  $P < 0.05$ . As análises foram processadas usando o SPSS versão 20.0 (SPSS, Chicago, IL).

## **Protocolo 2.**

### **Delineamento**

Trata-se de um estudo exploratório com pacientes com dor musculoesquelética.

### **Aspectos éticos**

Conforme descrito no protocolo 1.

### **Pacientes**

Foram recrutadas mulheres entre 19 e 75 anos de idade por meio de encaminhamento da rede pública, chamadas por meio de cartazes e por nota, meios de comunicação de massa e do Serviço de Dor Crônica/HCPA.

a. Pacientes com diagnóstico de SDM: conforme descrito no protocolo 1.

b. Pacientes com diagnóstico de osteoartrite (OA): pacientes apresentam OA de joelho com sintomas característicos e diagnóstico validado por médico, de acordo com critérios clínicos e radiográficos do Colégio Americano de Reumatologia (The American College of Rheumatology)(Altman *et al.*, 1986) e graduados entre 2-4 na escala de Kellgren/ Lawrence (Ravaudet *et al.*, 1995). Os critérios de exclusão são: artrite reumatóide, fibromialgia, cirurgia prévia na região, radiculopatia primária, condições neurológicas como Parkinson, doenças inflamatórias crônicas, uso de corticóides e, além disso, pacientes com contra-indicações do uso de TMS (Rossi *et al.*, 2009).

Os **Questionários ou Escalas, Parâmetro de dor, Parâmetros de Excitabilidade Cortical, Coleta e Preparação das Amostras, Análises Bioquímicas, Processamento de Dados** foram realizados conforme descritos no Protocolo 1.

### **Tamanho da amostra**

Considerando um estudo exploratório, o cálculo amostral foi estimado. Os testes *post hoc* mostraram que o poder das análises de regressão múltiplas hierárquicas com amostra de 72

pacientes foi de 87%, erro alfa de 5%, permitindo três preditores em cada nível, detectando um tamanho de efeito de 0.2 (Soper, 2013).

### **Processamento dos dados e análise estatística**

Os valores foram descritos como média ( $\pm$  desvio padrão), mediana (intervalo interquartil), ou frequência, de acordo com as variáveis em questão. A comparação basal entre os grupos (SDM e OA) foi realizada por meio de teste t de Student para variáveis com distribuição normal e Mann-Whitney para variáveis com distribuição não normal, enquanto que para a comparação de frequências foi utilizado o teste de Qui-quadrado ou Fischer.

O uso de analgésicos foi classificado em duas categorias: uso maior que três vezes por semana e menor ou igual a três vezes por semana. Além disso, o estradiol foi classificado em duas categorias: maior ou igual a 30 pg/mL e menor que 30 pg/mL (Veldhuis *et al.*, 2004). Para controlar os potenciais confundidores e determinar a relação entre os parâmetros de excitabilidade cortical (MEP, ICF, ICI e CSP) e o PPT, utilizou-se a análise de regressão linear com seleção do tipo *forward* (Katz, 1999) e *a priori* (Victora *et al.*, 1997; Mickey & Greenland, 1989). A análise multivariada compreende uma relação hierárquica das variáveis propostas. O primeiro nível hierárquico incluiu dados demográficos; o segundo nível incluiu sintomas depressivos, uso de medicações psicotrópicas e álcool; o terceiro nível incluiu tempo de dor e uso de analgésicos; o quarto nível incluiu estradiol e BDNF; o quinto nível incluiu o PPT, e as variáveis descritas previamente. O critério para a variável permanecer no modelo foi a significância estatística (Mickey & Greenland, 1989; Victora *et al.*, 1997).

A análise de regressão foi utilizada para avaliar a relação entre níveis séricos de BDNF, estradiol e sua interação. O critério para a variável permanecer no modelo foi a significância estatística (Mickey & Greenland, 1989; Victora *et al.*, 1997).

Para todas as análises, o nível de significância estatística para o erro alfa estabelecido foi um  $P < 0.05$ . As análises foram processadas usando o SPSS versão 20.0 (SPSS, Chicago, IL).

---

#### **IV. RESULTADOS**

**Protocolo1.**

Os dados clínicos e demográficos dos pacientes estão descritos na Tabela 1. Essas características mostraram-se similares entre os grupos ( $P>0.05$ ) (Tabela 1). Onze pacientes foram alocados no grupo rTMS + DIMST, doze pacientes alocados no grupo rTMS + sham-DIMST, doze pacientes alocados no grupo sham-rTMS + DIMST, e onze pacientes alocados no grupo sham-rTMS + sham-DIMST. Quarenta e quatro pacientes completaram o estudo. Duas pacientes não completaram o estudo (uma paciente no grupo rTMS + sham-DIMST e uma paciente no grupo sham-rTMS + DIMST), devido a ineficácia do tratamento (**Figura 7**). Os efeitos adversos moderados ou severos não foram observados em relação as intervenções.

**Tabela 1.** Características da amostra em estudo. Dados apresentados como média e desvio padrão ou frequência (%) (n=46).

Características	rTMS + DIMST (n=11)	rTMS +Sham- DIMST (n=12)	Sham- rTMS + DIMST (n=12)	Sham – rTMS + Sham- DIMST (n=11)	P
Idade (anos)*	49,18 (11,63)	45,83 (9,63)	47,25 (11,00)	46,73 (13,09)	0,91
Índice de Massa Corporal*	25,16 (3,28)	26,27 (3,73)	25,77 (1,48)	26,08 (4,46)	0,93
Educação (anos)*	15,09 (3,59)	11,25 (5,17)	11,92 (3,75)	13,18 (3,34)	0,13
Fumo (sim/não)‡	0 / 11	0/12	1/11	1/10	0,55
Uso de Álcool (sim/não)‡	7/4	5/7	5/7	8/3	0,33
Comorbidades (sim/não)‡	4/7	6/6	8/4	3/8	0,25
Hipertensão	4/7	3/9	4/8	2/9	
Hipotireoidismo	1/10	1/11	1/11	0/11	
Asma	1/10	0/12	0/12	0/11	
Outros	2/9	1/11	5/7	1/10	

EAV (cm)*	6,54 (1,75)	6,67 (2,06)	5,70 (3,49)	5,83 (3,38)	0,77
Uso de analgésicos por mais de três vezes na semana (sim/não)‡	5/6	6/6	5/7	8/3	0,53
Índice de Qualidade de Sono de Pittsburgh*	14,91 (5,56)	19,17 (7,26)	20,09 (8,18)	17,18 (7,10)	0,33
Inventário de Depressão de Beck*	13,64 (8,52)	15,83 (9,16)	17,73 (10,39)	10,55 (8,66)	0,31
IDATE-Traço*	29,09 (6,70)	30,42 (8,39)	28,18 (9,23)	26,00 (8,36)	0,63
IDATE- Estado*	23,91 (7,36)	25,00 (7,14)	25,09 (8,87)	22,91 (6,30)	0,89
Escala de Catastrofização da Dor(B-PCS)*	25,36 (13,34)	32,83 (10,09)	30,73 (10,87)	25,91 (16,10)	0,43
Capacidade Funcional Dor Crônica (B-PCP:S)*	59,09 (18,03)	56,50 (17,0)	60,59 (16,93)	56,32 (16,07)	0,92
Dor	23,36 (2,77)	24,83 (3,65)	24,14 (3,95)	25,32 (2,45)	0,53
Interferência nas atividades	23,91 (10,27)	19,17 (10,04)	23,00 (11,21)	18,55 (8,73)	0,50
Interferência nas emoções	11,82 (6,03)	12,50 (7,21)	13,45 (5,24)	12,50 (7,21)	0,95
Diagnóstico de doença psiquiátrica ‡ (sim/ não)	3/8	6/6	6/6	2/9	0,28
Uso de psicotrópicos (sim/não)‡	4/7	5/7	5/7	1/10	0,29

i) *Medicações psicotrópicas: tricíclicos, benzodiazepínicos, antidepressivos serotoninérgicos e/ou noradrenérgicos, inibidores da monoamino-oxidase, nortriptilina, amitriptilina, gabapentina, topiramato, pregabalina; ii) Analgésicos: diclofenaco, dipirona, paracetamol, ácido acetilsalicílico, inibidor da ciclooxigenase 2, ou anti-inflamatórios não-esteroidais associados com miorrelaxantes e/ou cafeína.*

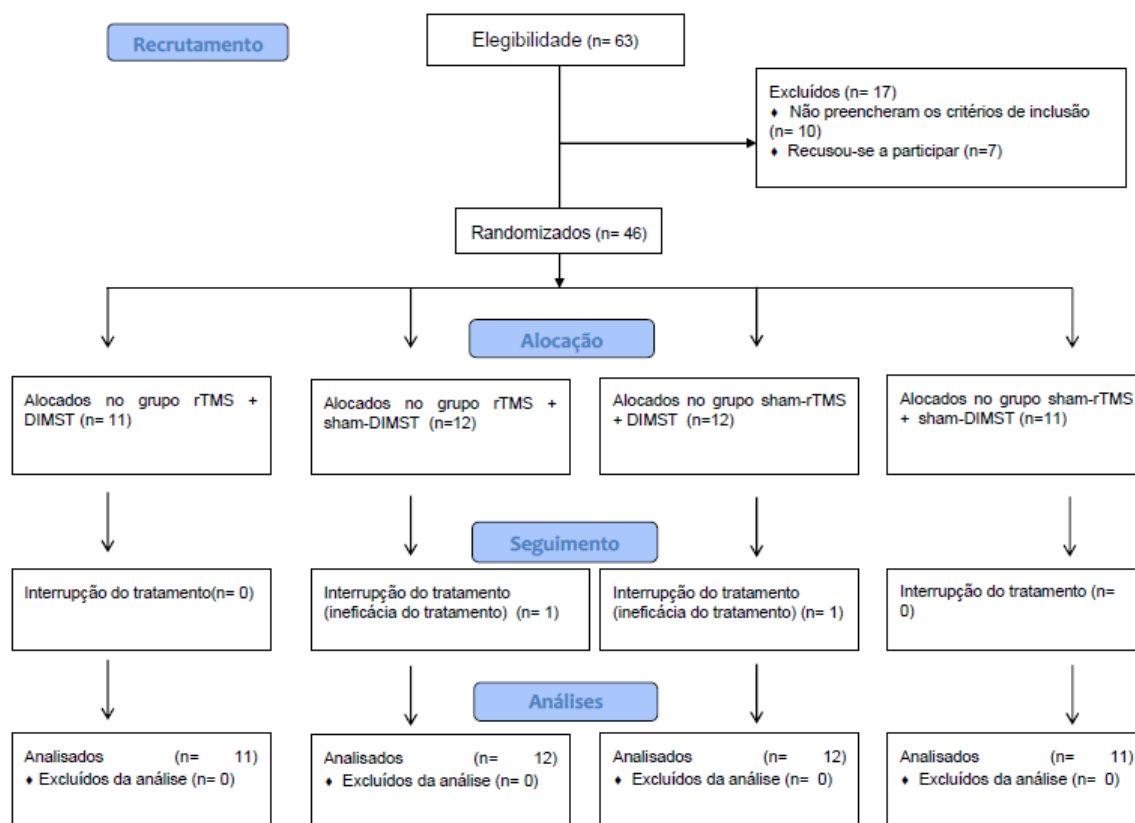
\* ANOVA de uma via

\*\*Kruskal-Wallis

‡ Qui-quadrado ou Fisher

EAV= escala análogo-visual

IDATE= Inventário de Ansiedade Traço-Estado



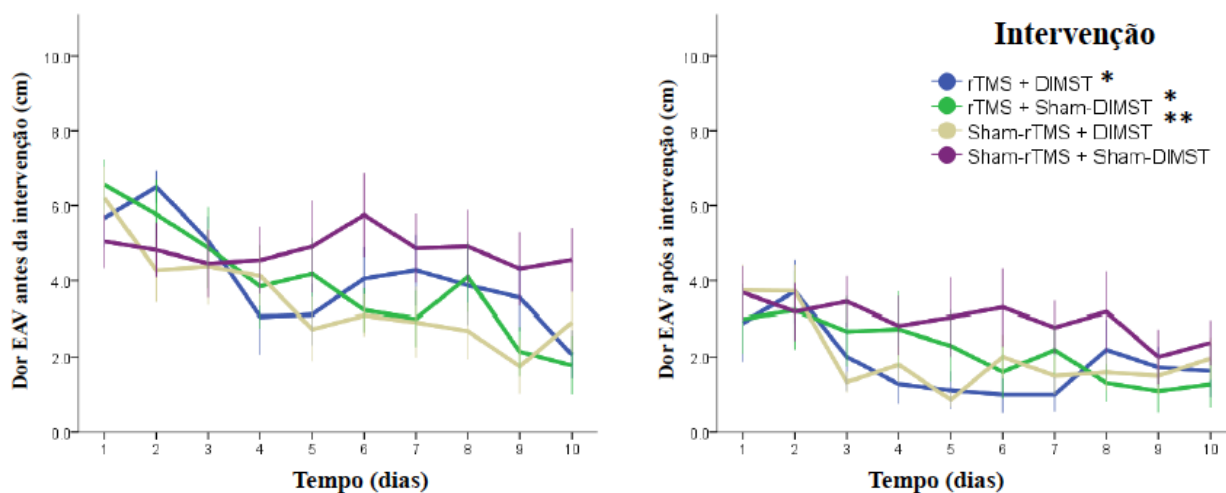
**Figura 7.** Fluxograma do estudo.

### a. Intensidade da Dor na EAV

Observou-se efeito do tratamento ( $P < 0,05$ ,  $F_{(1,3)} = 3,49$ ) e do tempo ( $P < 0,05$ ,  $F_{(1,9)} = 7,55$ , modelos mistos) sobre a intensidade da dor mensurada diariamente na EAV antes do tratamento. O grupo sham-rTMS + DIMST apresentou menores níveis de dor que o grupo sham-rTMS + sham-DIMST (**Figura 8**). Em relação ao tempo, a dor no 1º dia foi diferente do 7º dia, 9º dia e 10º dia; a dor no 2º dia foi diferente do 9º e 10º dia ( $P < 0,05$ ).

A dor quando mensurada imediatamente após cada sessão de tratamento, observou-se efeito do tratamento ( $P < 0,05$ ,  $F_{(1,3)} = 4,65$ ) e do tempo ( $P < 0,05$ ,  $F_{(1,9)} = 2,68$ , modelos mistos). Os grupos rTMS + DIMST, rTMS + sham-DIMST e sham-rTMS + DIMST apresentaram menores níveis de dor que o grupo sham-rTMS + sham-DIMST (**Figura 8**). Porém, não observou-se efeito sinérgico entre as intervenções.





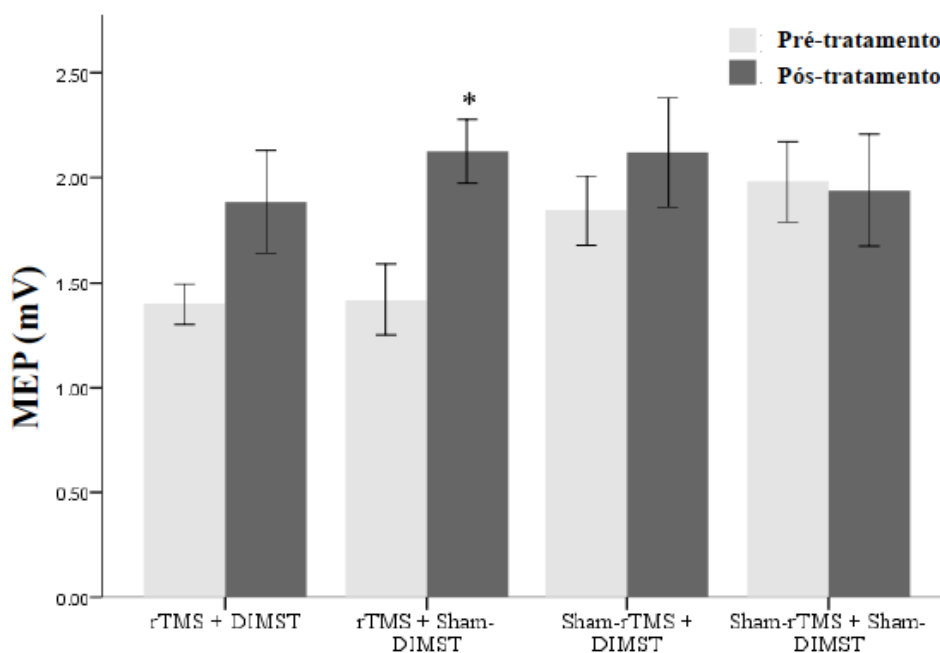
**Figura 8.** Média da intensidade da Dor na EAV desde o 1º dia de intervenção até 10º dia de intervenção. Dados expressos como média e erro padrão da média.

\* diferente do grupo sham-rTMS + sham-DIMST mensurado imediatamente após a intervenção ( $P < 0,05$ , modelos mistos/Bonferroni).

\*\* diferente do grupo sham-rTMS + sham-DIMST mensurado antes e imediatamente após a intervenção ( $P < 0,05$ , modelos mistos/Bonferroni).

### b. Parâmetros de excitabilidade cortical

Observou-se uma interação entre tempo e tratamento ( $P < 0,05$ , modelos mistos). Houve um aumento do potencial evocado motor (MEP) após a intervenção rTMS+ sham-DIMST em relação ao basal ( $P < 0,05$ , modelos mistos, **Figura 9**). Adicionalmente, observou-se uma tendência a aumentar o MEP após a intervenção rTMS + DIMST em relação ao basal ( $P = 0,08$ , modelos mistos, **Figura 9**). Nos demais parâmetros analisados (facilitação e inibição intracortical e período silente), não observou-se diferença entre os grupos ( $P > 0,05$ , modelos mistos, **Tabela 2**).



**Figure 9.** Potencial evocado motor (MEP) mensurado antes do início da intervenção e no décimo dia de intervenção após a última sessão. Dados expressos como média e erro padrão da média (n=46).

\*significativamente diferente do basal ( $P < 0,05$ , modelos mistos/Bonferroni)

**Tabela 2.** Parâmetros de excitabilidade cortical antes do início da intervenção e no décimo dia de intervenção após a última sessão. Dados expressos como média e desvio padrão (DP) (n=46).

Intervenção	Facilitação Intracortical		Inibição Intracortical		Período Silente (ms)	
	Basal	Final	Basal	Final	Basal	Final
rTMS + DIMST	1,04 (0,18)	1,05 (0,19)	0,33 (0,14)	0,26 (0,10)	70,63 (18,42)	68,07 (13,06)
rTMS + Sham-DIMST	1,41 (0,71)	1,20 (0,36)	0,54 (0,85)	0,27 (0,08)	58,35 (20,11)	65,43 (18,21)
Sham-rTMS + DIMST	1,15 (0,29)	1,26 (0,16)	0,28 (0,16)	0,29 (0,09)	74,76 (16,82)	70,46 (21,35)
Sham-rTMS + Sham-DIMST	1,07 (0,19)	1,09 (0,26)	0,34 (0,14)	0,30 (0,17)	67,98 (20,94)	68,69 (13,64)

Não foram observadas diferenças significativas ( $P > 0,05$ , modelos mistos).

**c. Parâmetros bioquímicos**

As intervenções não promoveram mudanças nos parâmetros de neuroplasticidade (níveis séricos de BDNF), nem marcadores inflamatórios (níveis séricos de TNF- $\alpha$ , IL6 e IL10), parâmetros de estresse oxidativo (proteínas carboniladas e espécies reativas de oxigênio) e enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) ( $P > 0,05$ , modelos mistos, **Tabela 3**). Adicionalmente, as intervenções não alteram parâmetros séricos de S100 $\beta$  e LDH ( $P > 0,05$ , modelos mistos, **Tabela 3**).

**Tabela 3.** Parâmetros bioquímicos mensurados no basal, após 5º dia da sessão de tratamento e no 10º dia de tratamento antes da última sessão.

	rTMS + DIMST			rTMS + Sham-DIMST			Sham-rTMS + DIMST			Sham-rTMS + Sham-DIMST		
	Basal	5º Dia	10º Dia	Basal	5º Dia	10º Dia	Basal	5º Dia	10º Dia	Basal	5º Dia	10º Dia
BDNF (ng/mL)	20,69 (10,75)	22,00 (6,79)	26,30 (8,87)	29,74 (20,99)	32,91 (21,66)	31,36 (22,18)	22,68 (11,42)	26,05 (8,08)	22,38 (8,85)	34,26 (20,42)	36,07 (24,68)	32,68 (23,77)
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	28,14 (5,23)	26,66 (6,96)	26,37 (6,12)	25,80 (4,64)	24,75 (4,64)	24,07 (5,62)	30,25 (14,92)	30,06 (13,27)	29,27 (11,12)	27,13 (7,58)	29,42 (8,05)	28,06 (7,39)
S100 $\beta$ (pg/mL)	20,70 (8,79)	14,58 (5,21)	17,49 (8,34)	15,70 (7,56)	13,88 (7,08)	17,81 (10,87)	13,86 (6,60)	13,29 (5,38)	13,25 (6,37)	17,62 (5,76)	14,35 (4,39)	15,73 (6,19)
IL10 (pg/mL)	<1	<1	<1	2,33 (2,65)	2,52 (3,43)	2,10 (3,27)	<1	1,04 (1,01)	1,11 (1,11)	2,36 (2,73)	3,03 (4,20)	2,07 (1,77)
IL6 (pg/mL)	<0,92	<0,92	<0,92	<0,92	<0,92	<0,92	<0,92	1,09 (1,37)	<0,92	<0,92	1,05 (1,23)	<0,92
LDH (U/L)	88,59 (29,47)	101,48 (42,43)	93,06 (25,49)	94,62 (36,38)	85,91 (35,24)	101,09 (40,30)	89,84 (26,83)	106,79 (26,84)	101,53 (36,14)	104,76 (47,61)	116,42 (63,40)	117,75 (56,58)
GPx ( $\mu$ moles/mg de proteína)	0,78 (0,52)	0,72 (0,47)	0,79 (0,86)	0,73 (0,57)	0,72 (0,54)	0,79 (0,66)	0,74 (0,57)	0,71 (0,64)	0,99 (0,89)	0,46 (0,41)	0,47 (0,27)	1,04 (1,39)
SOD (USOD/ mg de proteína)	95,91 (39,91)	113,98 (57,87)	125,73 (77,17)	90,28 (51,56)	96,43 (49,82)	112,06 (78,03)	105,51 (71,89)	89,97 (48,35)	123,92 (82,82)	75,91 (46,60)	87,84 (62,35)	103,64 (75,55)
CAT ( $\mu$ moles/mg de proteína)	649,63 (237,00)	770,29 (286,60)	743,96 (414,57)	753,88 (385,16)	667,85 (279,25)	726,73 (317,76)	763,62 (360,82)	848,55 (500,39)	668,68 (278,79)	643,36 (312,58)	629,93 (246,09)	765,19 (351,72)
CAR (nmol/mg de proteína)	118,80 (19,65)	109,04 (14,15)	106,13 (15,33)	116,33 (19,64)	121,46 (15,20)	122,12 (10,82)	113,08 (19,08)	141,03 (69,19)	116,24 (19,57)	121,58 (16,08)	118,27 (16,89)	123,05 (12,27)
ROS (nmol/mg de proteína)	0,93 (0,56)	1,00 (0,43)	1,10 (0,57)	0,99 (0,43)	1,12 (0,37)	1,13 (0,66)	1,18 (0,68)	1,17 (0,58)	1,20 (0,62)	0,88 (0,41)	1,06 (0,94)	1,13 (0,90)

Dados expressos como média (DP) (n=46).

Não foram observadas diferenças significativas ( $P>0,05$ , modelos mistos).

LDH: lactato desidrogenase; GPx: glutatona peroxidase; SOD: superóxido dismutase; CAT: catalase; CAR: proteínas carboniladas; ROS: espécies reativas de oxigênio.

## Protocolo 2.

Foram recrutadas 72 pacientes para o estudo, 46 pacientes com diagnóstico de SDM e 26 com diagnóstico de OA (características demográficas e psicológicas descritas na **Tabela 4**). As pacientes com SDM apresentam menor idade, maior consumo de analgésicos por semana ( $\geq 3$  vezes) e maiores escores de depressão que as pacientes com OA. O consumo de analgésicos ( $\geq 3$  vezes por semana) foi observado em 54,3% das pacientes com SDM e 7,7% das pacientes com OA. A taxa de risco para o alto consumo de analgésicos foi de 7,2 em pacientes com SDM em comparação com as pacientes com OA [intervalo de confiança 95% 1,85 a 28,09]. As pacientes com OA apresentam maior idade e menores níveis de estradiol, enquanto que as pacientes com SDM apresentam maiores níveis de BDNF e menor PPT que as pacientes com OA (**Tabela 4**).

**Tabela 4.** Características sócio-demográficas, estado psicológico e biomarcadores da amostra. Dados expressos como média  $\pm$  DP [Mediana (IQ 25 e 75)] ou percentagem (n=72).

Características	Osteoartrite (n=26)	Síndrome Dolorosa Miofascial (n=46)	P
Idade (anos) *	64,42 $\pm$ 7,81 [65,0 (57,75-70,25)]	47,15 $\pm$ 11,13 [48,0 (38,75-56,0)]	<0,001
Uso de álcool, Sim/Nao (%) <sup>‡</sup>	7(26,9)/19 (73,1)	26(56,5)/20(43,5)	0,015
Uso de medicações psicotrópicos (%) <sup>‡</sup>	11(42,3) /15 (57,7)	14(30,4)/32(69,6)	0,309
Educação (anos) <sup>†</sup>	10,35 $\pm$ 5,69	13,39 $\pm$ 3,96	0,013

	[11,0 (5,0-13,50)]	[13,0(11,0-16,0)]	
Duração da dor (anos)*	6,73 ± 0,53 [7,0 (6,75-7,0)]	6,13 ± 1,36 [7,00(6,00-7,00)]	0,089
Dor EAV †	5,53 ± 2,15 [5,0 (4,0-7,25)]	6,23 ± 2,45 [7,00(4,75-8,0)]	0,202
Uso de analgésicos (≥3vezes por semana) (Sim/Nao)‡	2 (7,7)/24 (92,3)	25(54,3)/21(45,7)	<0,001
Inventário de Depressão de Beck†	10,19 ± 7,28 [8,5 (5,75-12,25)]	13,89 ± 8,96 [12,0(7,0-18,25)]	0,061
Limiar de Dor à Pressão (PPT, Kgf/cm <sup>2</sup> ) †	7,28 ± 3,02 [7,4 (5,22-8,74)]	3,72 ± 1,99 [3,24(2,48-4,35)]	<0,001
Níveis séricos de BDNF (ng/mL) †	17,91 ± 7,27 [18,03 (13,20-21,66)]	29,10 ± 18,87 [21,59(16,34-40,10)]	0,017
Níveis séricos de Estradiol (pg/mL) †	14,82 ± 8,70 [11,8 (11,8-12,98)]	63,14 ± 68,27 [28,36(11,80-95,53)]	<0,001

i) *Medicações psicotrópicas: tricíclicos, benzodiazepínicos, antidepressivos serotoninérgicos e/ou noradrenérgicos, inibidores da monoamino-oxidase, nortriptilina, amitriptilina, gabapentina, topiramato, pregabalina; ii) Analgésicos: diclofenaco, dipirona, paracetamol, ácido acetilsalicílico, inibidor da cicloxigenase 2, ou anti-inflamatórios não-esteroidais associados com miorelaxantes e/ou cafeína.*

\* *Teste t de Student*

† = *Mann-Whitney*

‡ *Qui-quadrado ou Fisher*

EAV = *escala análogo-visual*

**a. Marcadores de excitabilidade cortical em pacientes com dor crônica musculoesquelética (OA e SDM)**

Na tabela 5, estão descritos os parâmetros de excitabilidade cortical de acordo com diagnóstico (OA e SDM), onde observou-se que as pacientes com SDM apresentam o período silente mais longo que as pacientes com OA cortical (**Tabela 5**).

**Tabela 5.** Parâmetros de excitabilidade cortical em pacientes com OA e SDM. Dados expressos como média  $\pm$  DP [Mediana (IQ25 e 75)] ou percentagem (n=72).

Características	Osteoartrite (n=26)	Síndrome Dolorosa Miofascial (n=46)	P*
Limiar Motor (MT, $\mu$ V) †	43,92 $\pm$ 8,29 [44,0 (37,0-52,25)]	42,78 $\pm$ 7,36 [41,50(37,0-52,25)]	0,496
Potencial Evocado Motor (MEP, mV) †	1,53 $\pm$ 1,51 [1,13(0,36-2,20)]	1,70 $\pm$ 0,61 [1,51(1,27-2,19)]	0,144
Período Silente (CSP, ms) †	52,10 $\pm$ 18,41 [51,72 (36,77-69,25)]	66,21 $\pm$ 18,34 [65,63 (52,03- 80,48)]	0,03
Facilitação Intracortical (ICF) †	1,08 $\pm$ 0,62 [1,00(0,65-1,43)]	1,11 $\pm$ 0,22 [1,11(1,02-1,22)]	0,496
Inibição Intracortical (ICI) †	0,60 $\pm$ 0,42 [0,55(0,23-0,91)]	0,31 $\pm$ 0,13 [0,28(0,22-0,35)]	0,068

† Mann-Whitney.

\*Valor de P ajustado de acordo com testes de comparações múltiplas usando o teste de Hommel.

Não observou-se correlação entre a média do MEP e o PPT, e nenhuma variável ficou retida neste modelo. A ICF apresentou correlação positiva com sintomas depressivos e

negativo com o PPT. A ICI apresentou correlação positiva com PPT e negativa com níveis de estradiol, ou seja, pacientes com maiores níveis de inibição apresentam elevados limiares de dor (PPT) e baixos níveis de estradiol. As pacientes com SDM apresentam período silente maior que as pacientes com OA (**Tabela 6**).

**Tabela 6.** Modelo de regressão hierárquica múltipla para parâmetros de excitabilidade cortical (ICF, ICI e CSP) e Limiar de Dor à Pressão (PPT)(n=72).

<i>Variável Dependente: Facilitação Intracortical (log)</i>			
	<i>T</i>	<i>beta</i>	<i>P</i>
Sintomas Depressivos	3,23	0,35§	<0,001
PPT	-2,18	-0,24¶	0,03
<i>Variável Dependente: Inibição Intracortical</i>			
Estradiol (<30 or ≥30 pg/mL)	-2,24	-0,25 \$	0,03
PPT	2,24	0,25 ¶	0,03
<i>Variável Dependente: Período silente</i>			
Diagnóstico (OA ou MPS)	2,92	0,32 †	0,05

† Modelo 1: Idade e educação. O período silente foi ajustado pelo diagnóstico;

§ Modelo 2: Modelo 1 plus sintomas depressivos, uso de psicotrópicos e álcool;

\$ Modelo 4: Modelo 3 plus BDNF e estradiol;

¶ Modelo 5: Modelo 4 plus PPT.

## **b. Relação entre BDNF, PPT e estradiol**

Observou-se uma correlação positiva do BDNF e estradiol em relação ao PPT; no entanto quando analisado a interação do BDNF e estradiol, observou-se um efeito oposto do BDNF sobre o PPT (**Tabela 7**), com significância de  $F(3, 372) = 20,75$ ,  $P < 0,0001$ , e 45% de variância do PPT ( $R^2 = 0,47$ ,  $R^2_{ajustado} = 0,45$ ).



**Tabela7.** Efeito do estradiol sobre a relação entre o PPT e o BDNF (n=72).

<i>Variável Dependente: Limiar de Dor à Pressão (PPT)</i>			
	<i>T</i>	<i>beta</i>	<i>P</i>
Níveis séricos de BDNF (ng/mL)	6,235	0,127	<0,001
Níveis séricos de Estradiol < 30 or ≥30 pg/mL	2,784	4,401	0,007
Interação BDNF*estradiol	-2,366	-0,135	0,021

*Análise de regressão.*

---

**V. DISCUSSÃO**

**Discussão -Protocolo 1**

Nesse primeiro protocolo, nossos resultados demonstram que ambas as técnicas neuromodulatórias (*top-down e bottom-up*) são capazes de modular o sistema nociceptivo em pacientes com SDM, como verificado pelo resultado clínico de redução da dor na EAV. Além disso, a técnica neuroestimulatória rTMS (*top-down*) promoveu um aumento da excitabilidade do córtex motor primário indexado por um aumento na amplitude do potencial evocado motor (MEP). Adicionalmente, não observou-se alterações nos níveis periféricos de marcadores, como os parâmetros de estresse oxidativo, as citocinas pró-inflamatórias, bem como a proteína S100 $\beta$  e a enzima LDH. Portanto, apesar do efeito analgésico observado após o tratamento com as técnicas neuromodulatórias, não observou-se alterações nos biomarcadores periféricos associados com a neuroplasticidade (BDNF), as ações anti-inflamatórias (IL10) e os sistemas antioxidantes (SOD, CAT, GPx).

Demonstrou-se que as intervenções ativas (rTMS, DIMST e rTMS + DIMST) apresentaram efeito analgésico com redução na intensidade da dor em pacientes com SDM, efeito este corroborado por estudos prévios, porém, em diferentes condições de dor crônica (Couto *et al.*, 2013; Lefaucheur *et al.*, 2006). Alguns estudos sugerem que o efeito analgésico da eletroacupuntura pode estar relacionado à liberação de encefalinas (Han, 2003, 2004) e a ativação do sistema inibitório descendente (Lee *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2011). Adicionalmente, os *inputs* sensoriais podem ser capazes de produzir alterações na excitabilidade do córtex motor (Kaelin-Lang *et al.*, 2002), como demonstrado pelo uso da acupuntura em indivíduos saudáveis (Lo *et al.*, 2005). Nesse estudo, após dez dias de tratamento com DIMST, não observou-se alterações nos parâmetros de excitabilidade do córtex motor.

Além disso, os efeitos analgésicos relacionados com a estimulação do córtex motor parecem estar relacionados à diminuição do *input* sensorial (Pleger *et al.*, 2004), ao aumento

da atividade da substância cinzenta periaquedutal (Pagano *et al.*, 2011) e à restauração dos sistemas gabaérgicos intracorticais (Lefaucheur *et al.*, 2006). É importante salientar que não observou-se efeito sinérgico entre a associação das técnicas neuromodulatórias central (rTMS) e periférica (DIMST), sugerindo que os mecanismos analgésicos relacionados com estas técnicas, independente do local de aplicação, podem, pelo menos em parte, modular mecanismos semelhantes, como por exemplo, a ativação do sistema descendente inibitório.

Adicionalmente, alguns processos de dor estão relacionados a alterações em parâmetros neurofisiológicos avaliados pela técnica de TMS, como por exemplo, o aumento do MEP (On *et al.*, 2007), ou diminuição induzida pela dor experimental (Le Pera *et al.*, 2001). Além disso, o efeito analgésico da rTMS aplicada sobre o córtex motor pode estar relacionado, pelo menos em parte, ao parâmetro neurofisiológico de inibição intracortical (SICI) (Lefaucheur *et al.*, 2006). No presente estudo, observou-se um aumento no MEP após a intervenção com rTMS, e sabe-se que esse parâmetro neurofisiológico está intrinsicamente associado à excitabilidade da via corticoespinhal (Kobayashi & Alvaro Pascual-Leone, 2003). Conforme descrito na literatura, altas frequências (>5 Hz) de rTMS promovem um aumento na excitabilidade do córtex motor (Maeda *et al.*, 2000); portanto, não se pode descartar uma possível relação entre o efeito analgésico observado após essa intervenção e o aumento do MEP.

Sabe-se que os níveis séricos de BDNF derivam em 75% do SNC (Rasmussen *et al.*, 2009), refletindo, assim, seus níveis centrais (Karege *et al.*, 2002), e que esta neurotrofina está ligada ao processo de sensibilização central (Woolf & Salter, 2000; Ji *et al.*, 2003; Malcangio & Lessmann, 2003; Biggs *et al.*, 2010). No entanto, o efeito da TMS sobre os níveis séricos de BDNF é controverso, como a diminuição dos níveis de BDNF após rTMS (Schaller *et al.*, 2014; Angelucci *et al.*, 2004), nenhum efeito após sessão aguda de TMS (Lang *et al.*, 2008) e rTMS (Li Voti *et al.*, 2011; Gedge *et al.*, 2012, Angelucci *et al.*, 2004), ou o aumento dos

níveis séricos de BDNF após a rTMS (Yukimasa *et al.*, 2006, Zanardini *et al.*, 2006), sugerindo que estas diferenças encontradas na literatura podem estar relacionadas ao polimorfismo do BDNF (Vall66Met) (Cheeran *et al.*, 2008), e principalmente aos parâmetros de estimulação utilizados na técnica rTMS. No presente estudo, não observamos diferença nos níveis séricos de BDNF mensurados durante e após o tratamento, sugerindo, assim, que não houve alterações em níveis centrais induzidos pela exposição de técnicas neuromodulatórias, pelo menos com as condições relacionadas a esse estudo.

Os principais efeitos adversos da acupuntura e do agulhamento seco estão associados a hemorragia e sangramento locais e sintomas vegetativos (Ga *et al.*, 2007; Huguenin *et al.*, 2005; Witt *et al.*, 2009), enquanto que a TMS está relacionada com dor e desconforto, dor de cabeça e dor na cervical (Machii *et al.*, 2006; Loo *et al.*, 2008), bem como síncope e muito raramente convulsão (Rossi *et al.*, 2009). Adicionalmente, após estimulação nociceptiva intensa, o processo de sensibilização central pode ser iniciado e mantido por substâncias como a substância P, o TNF- $\alpha$  e o BDNF (Latremoliere & Woolf, 2009; Taves *et al.*, 2013), IL-1 $\beta$  e IL-6 (Kawasaki *et al.*, 2008). Além disso, a IL-6, o TNF- $\alpha$  e o BDNF promovem a liberação de neurotransmissores excitatórios, e diminuem a neurotransmissão inibitória (Taves *et al.*, 2013).

Salienta-se que os pacientes com síndromes de sensibilização central, como cefaléia crônica tensional, fibromialgia, e SDM, apresentaram níveis séricos elevados de BDNF e de TNF- $\alpha$  e níveis baixos de IL-10 e IL-6 em relação a sujeitos saudáveis, a pacientes com osteoartrite e endometriose (Deitos, 2013). Considerando que a SDM não é uma condição primariamente inflamatória, e os processos inflamatórios estão ligados à presença de citocinas (Zhand & An, 2007) e estresse oxidativo (Valerio *et al.*, 2009); no presente estudo, os biomarcadores periféricos avaliados como parâmetros de estresse oxidativo e citocinas não

apresentaram papel de marcador biológico frente aos efeitos das técnicas neuromodulatórias como rTMS e DIMST, pelo menos nessa condição de dor crônica.

Além disso, a proteína S100 $\beta$  é altamente expressa em astrócitos (Donato et al, 2009), e seus níveis séricos elevados foram encontrados em adultos com lesão cerebral (Raabe *et al.*, 2004; Vos *et al.*, 2004; Ingebrigtsen *et al.*, 1999); por outro lado, a enzima LDH reflete danos celulares (Tian *et al.*, 1999), e os seus altos níveis estão associados com estresse oxidativo (Jovanovic *et al.*, 2010). Estudos recentes demonstram que os campos eletromagnéticos são uma potencial fonte exógena de oxidantes (Jajte *et al.*, 2002; Akdag *et al.*, 2007; Simko, 2007), e esses oxidantes podem estar envolvidos com o processo de sensibilização central (Guedes *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2004). No entanto, os parâmetros avaliados em nossas condições experimentais não apresentaram evidências de um aumento nos níveis periféricos de biomarcadores de dano, pelo menos em pacientes com SDM e em resposta a estas intervenções neuromodulatórias. Também não observamos alterações nos níveis periféricos das atividades enzimáticas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase), bem como nos níveis de IL-10. Os sequestradores de espécies ativas de oxigênio estão associados com o alívio da dor persistente (Naik *et al.*, 2006; Rokyta *et al.*, 2003), enquanto que a IL-10 inibe a produção de outras citocinas, como o TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 e IL-8 *in vitro* (Blackwell & Christman, 1996; Sheeran & Hall, 1997). Portanto, estas técnicas neuromodulatórias não promoveram um aumento ou diminuição nesses parâmetros periféricos.

No entanto, o presente estudo apresentou algumas limitações. Em primeiro lugar, os resultados podem estar correlacionados com outras variáveis, como o uso de medicação (psicotrópicos ou analgésicos) ou distúrbios psiquiátricos, apesar dessas variáveis não permanecerem nos modelos estatísticos utilizados. Em segundo lugar, devido a disponibilidade dos pacientes do estudo, os parâmetros de excitabilidade cortical foram

analisados após a última sessão da intervenção. Em terceiro lugar, os parâmetros neurofisiológicos avaliados com o TMS estão relacionados de modo indireto com sistemas de neurotransmissão, demonstrando, assim, uma baixa especificidade, porém essa técnica tem sido uma ferramenta útil para a avaliação neurofisiológica. Em quarto lugar, é importante destacar que todos os parâmetros bioquímicos analisados foram medidos periféricamente; e, em quinto lugar, apesar de a análise estatística considerar as comparações múltiplas, não podemos descartar o possível erro do tipo II.

Em resumo, nossos resultados demonstram evidências adicionais sobre rTMS e DIMST no alívio da dor em pacientes com SDM, bem como alterações neurofisiológicas como um aumento na amplitude do MEP após tratamento com a rTMS. É importante ressaltar que os tratamentos neuromodulatórios utilizados no presente estudo não promoveram alterações nos marcadores periféricos associado com danos celulares, sugerindo, portanto, que essas técnicas são seguras, pelo menos, de acordo com os parâmetros analisados neste estudo. Futuros estudos são necessários para compreender o exato mecanismo do efeito analgésico da rTMS e DIMST, bem como as descobertas de novos biomarcadores que permitam uma melhor diagnóstico, prognóstico e avaliação da resposta ao tratamento frente às técnicas neuromodulatórias em pacientes com dor crônica musculoesquelética.

### **Discussão - Protocolo 2**

No segundo protocolo, observou-se uma relação entre os parâmetros de excitabilidade cortical e dor crônica musculoesquelética (SDM e OA), onde o limiar de dor à pressão apresenta uma correlação negativa com a facilitação intracortical e positiva com a inibição intracortical. Os pacientes com SDM apresentam um período silente maior que os pacientes com OA. Adicionalmente, observou-se uma correlação positiva entre limiar de dor à

pressão e níveis séricos de BDNF e estradiol. Porém, quando avaliou-se a interação do BDNF e estradiol, o efeito observado sobre o limiar de dor foi em direção oposta.

O presente resultado sugere que os pacientes com dor crônica de longa duração apresentam reorganização em níveis corticais e subcorticais indexados com os parâmetros de excitabilidade como o período silente e a facilitação intracortical. Estas mudanças plásticas podem envolver excitabilidade neuronal e estruturas da matriz da dor, como a medula espinhal, o tálamo, áreas corticais, a amígdala e a substância cinzenta periaquedutal. Este processo dinâmico pode estar envolvido com alterações no limiar de dor, intensidade de dor e aspectos emocionais (Zieglgänsberger *et al.*, 2005). No entanto, os parâmetros de excitabilidade cortical avaliados no presente protocolo estão interrelacionados com diferentes sistemas neurobiológicos: o período silente está relacionado com a ativação de receptores do tipo GABA<sub>B</sub> (Connors *et al.*, 1988), a inibição intracortical é mediada por meio das subunidades  $\alpha 2$ - or  $\alpha 3$ - dos receptores GABA<sub>A</sub> (Di Lazzaro *et al.*, 2006, 2007), e a inibição e facilitação intracortical, por meio de receptores GABA<sub>A</sub> e NMDA (Nakamura *et al.*, 1997).

É importante ressaltar que a modulação na excitabilidade intracortical está relacionada à intensidade e variação da percepção da dor. Durante a aplicação de capsaicina, ocorre uma redução nos níveis de inibição intracortical (Fierro *et al.*, 2010); entretanto, a dor muscular induzida experimentalmente promove um aumento da inibição intracortical e diminuição da facilitação intracortical (Schabrun *et al.*, 2012), ressaltando assim a relação da dor com a excitabilidade do córtex motor, e que os processos de dor crônica podem estar relacionados com mudanças plásticas em todo SNC, incluindo o córtex motor.

No presente estudo, observou-se uma redução na inibição intracortical, corroborando prévios resultados com dor neuropática unilateral (Lefaucheur *et al.*, 2006) e diabética (Turgut & Altun, 2009). A desinibição encontrada no córtex motor pode estar envolvida com uma redução da capacidade modulatória da dor e também com a redução do



limiar de dor. Corroborando nossa hipótese, estudo prévio demonstrou que a ativação de neurônios do córtex motor favorece a inibição de neurônios do corno dorsal da medula espinhal (Seki *et al.*, 2003). Também, os efeitos analgésicos relacionados com a estimulação do córtex motor estão envolvidos com a inibição das vias ascendentes nociceptivas no tálamo (Garcia-Larrea *et al.*, 1999; Brown & Barbaro, 2003) e a ativação da via descendente inibitória (Garcia-Larrea & Peyron, 2007; Viisanen & Pertovaara, 2010; Pagano *et al.*, 2011), como demonstrado por Pagano e colaboradores (2011).

Os nossos resultados demonstram uma importante relação entre o BDNF e a dor, possivelmente devido a ações do BDNF que estão envolvidas com a regulação da excitabilidade neuronal e a modulação da plasticidade sináptica do SNC (Malcangio & Lessmann, 2003). As mudanças na frequência ou na força de ativação das sinapses podem resultar em um aumento ou diminuição da eficiência sináptica, fenômenos conhecidos como potenciação (LTP) ou depressão de longa duração (LTD), respectivamente (Citri & Malenka, 2008). O BDNF é um importante marcador e modulador da atividade neuronal atuando sobre receptores do tipo NMDA, tanto em vias ascendentes quanto em vias descendentes da transmissão nociceptiva (Malenka & Bear, 2004), bem como sobre a regulação de interneurônios gabaérgicos no córtex cerebral (Woo & Lu, 2006). Os receptores TrkB são recrutados durante a ativação de vias nociceptivas, e estão envolvidos com a ativação de fibras do tipo C por meio do BDNF. Adicionalmente, os receptores TrkB atuam sobre os receptores NMDA, potencializando a neurotransmissão glutamatérgica (Jarvis *et al.*, 1997; Lin *et al.*, 1998; Kerr *et al.*, 1999). Além disso, evidências ressaltam a participação do BDNF no processo de sensibilização central (Biggs *et al.*, 2010).

Demonstrou-se também que os níveis séricos de BDNF apresentam uma relação com o limiar de dor à pressão, que é modulada pelos níveis séricos de estradiol. No entanto, o mecanismo envolvido nesta interação não está totalmente esclarecido, portanto sugere-se que:

(i) os níveis aumentados de estradiol podem aumentar o nível basal de excitabilidade, e, assim, diminuir a aferência sensorial causando uma diminuição na percepção da dor; (ii) os níveis baixos de estradiol podem desencadear mecanismos compensatórios que resultam em dor, e os aumentos dos níveis de BDNF podem estar indexados com uma plasticidade mal-adaptativa. Estes resultados ressaltam que o BDNF desempenha um papel importante na plasticidade sináptica, conectividade neuronal e dendrítica (Kuipers & Bramham, 2006; Martinowich *et al.*, 2007).

É importante ressaltar que o presente protocolo apresenta algumas limitações como: o desequilíbrio do tamanho amostral entre as patologias (SDM e OA); a ausência de grupo controle composto por sujeitos saudáveis; o efeito de potenciais confundidores como: medicações (uso de psicotrópicos ou analgésicos), condições psiquiátricas, entre outros.

Em resumo, com o presente protocolo foi possível demonstrar a relação entre os parâmetros de excitabilidade cortical e o limiar de dor à pressão, sintomas depressivos e níveis séricos de estradiol. Adicionalmente, demonstrou-se a relação entre os níveis séricos de BDNF e o limiar de dor à pressão, e este efeito é modulado pelos níveis de estradiol, ou seja, o hormônio estradiol apresenta um importante papel na modulação indexada ao BDNF.

---

## **VI. CONCLUSÕES**

### VI.1 – Conclusões Específicas

1. A Estimulação Magnética Transcraniana Repetitiva (rTMS) é eficaz no alívio da dor em mulheres com SDM.
2. A Estimulação Elétrica Intramuscular (DIMST) é eficaz no alívio da dor em mulheres com SDM.
3. Não houve efeito somatório entre o uso da associação de técnicas neuromodulatórias (rTMS e DIMST) sobre o efeito analgésico com em mulheres com SDM.
4. O rTMS promoveu um aumento na amplitude do potencial evocado motor (MEP), um parâmetro neurofisiológico relacionado com a excitabilidade corticoespinal em mulheres com SDM.
5. As técnicas neuromodulatórias (rTMS e DIMST) não promoveram alterações bioquímicas periféricas nos parâmetros avaliados como níveis séricos de BDNF, S100 $\beta$ , citocinas (TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10) e parâmetros de estresse oxidativo [Glutathione Peroxidase (GPx), Catalase (CAT), Superóxido dismutase (SOD), Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) e carboxilação proteica (Proteína carbonilada)] em mulheres com SDM.
6. Os parâmetros neurofisiológicos de excitabilidade cortical, como a inibição e facilitação intracortical, estão relacionados com o limiar de dor à pressão em mulheres com dor musculoesquelética (SDM e OA).
7. Os níveis séricos de BDNF e estradiol atuam como moduladores do limiar de dor à pressão em mulheres com dor crônica musculoesquelética (SDM e OA).

## VI.2 - Conclusão Geral

Em conclusão, as técnicas neuromodulatórias central (do tipo *top-down*), como a rTMS, e periféricas (do tipo *bottom-up*), como a DIMST, mostraram-se eficazes na redução da dor em mulheres com SDM crônica, porém estes efeitos não foram refletidos perifericamente nos parâmetros bioquímicos analisados. Além disso, os parâmetros de excitabilidade cortical estão associados com a dor, bem como os níveis séricos de BDNF e de estradiol modulam o limiar de dor à pressão em mulheres com dor crônica musculoesquelética.

## **VII. PERSPECTIVAS**

As perspectivas para dar continuidade ao presente estudo são:

- a. continuação do ensaio clínico para obtenção de uma amostra populacional maior, avaliando, assim, demais parâmetros clínicos como limiar de dor à pressão e ao calor, qualidade do sono, pensamento catastrófico e capacidade funcional;
- b. avaliação do efeito das técnicas neuromodulatórias sobre sistema descendente inibitório por meio do CPM;
- c. análise de polimorfismos relacionados ao BDNF (Val66Val e Val66Met).

---

## VIII. REFERÊNCIAS

- Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984;105:121-126.
- Aida S, Baba H, Yamakura T, Taga K, Fukuda S, Shimoji K. The effectiveness of preemptive analgesia varies according to the type of surgery: a randomized, double-blind study. *Anesth Analg* 1999;89:711-716.
- Akdag MZ, Bilgin MH, Dasdag S, Tumer C. Alteration of nitric oxide production in rats exposed to a prolonged, extremely low-frequency magnetic field. *Electromagnetic Biology and Medicine* 2007; 26(2):99–106.
- Allen AL, McCarson KE. Estrogen increases nociception-evoked brain-derived neurotrophic factor gene expression in the female rat. *Neuroendocrinology* 2005; 81:193–199.
- Altindag O, Celik H. Total antioxidant capacity and the severity of the pain in patients with fibromyalgia. *Redox Rep* 2006;11:131-5.
- Altman R, Asch E, Bloch D, Bole D, Borenstein K, Brandt K, Christy W, Cooke TD, Greenwald R, Hochberg M, et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum* 1986;29:1039-49.
- Alvarez DJ, Rockwell PG. Trigger points: diagnosis and management. *Am Fam Physician* 2002; 65:653–660.
- Angelucci F, Oliviero A, Pilato F, Saturno E, Dileone M, Versace V, Musumeci G, Batocchi AP, Tonali PA, Di Lazzaro V. Transcranial magnetic stimulation and BDNF plasma levels in amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroreport* 2004; 22,15(4):717-20.
- Arendt-Nielsen L, Graven-Nielsen T. Translational aspects of musculoskeletal pain: from animals to patients. In: Graven-Nielsen T, Arendt-Nielsen L, Mense S, editors. *Fundamentals of musculoskeletal pain*. Seattle: IASP Press 2008; p 347–66.
- Arendt-Nielsen L, Nie H, Laursen MB, Laursen BS, Madeleine P, Simonsen OH, Graven-Nielsen T. Sensitization in patients with painful knee osteoarthritis. *Pain* 2010; 149(3):573–81.
- Argoff CE. A review of the use of topical analgesics for myofascial pain. *Curr Pain Headache Rep* 2002; 6:375-378.
- Avery DH, Holtzheimer PE, Fawaz W, Russo J, Neumaier J, Dunner DL, Haynor DR, Claypoole KH, Wajdik C, Roy-Byrne P. Transcranial magnetic stimulation reduces pain in patients with major depression: a sham-controlled study. *J Nerv Ment Dis* 2007; 195(5): 378-381.



Barde YA, Edgar D, Thoenen H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *Embo J* 1982; 1: 549-53.

Barker AT, Jalinous R & Freeston I. Non-invasive magnetic stimulation of the human motor cortex. *Lancet* 1985; 1:1106-1107.

Barker AT. The history and basic principles of magnetic nerve stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1999; Suppl 51:3–21.

Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell* 2009; 139(2):267-84.

Ben-Shachar D, Belmaker RH, Grisaru N, Klein E. Transcranial magnetic stimulation induces alterations in brain monoamines. *J Neural Transm* 1997; 104: 191-97.

Berardelli A, Inghilleri M, Rothwell JC, Romeo S, Currà A, Gilio F, Modugno N, Manfredi M. Facilitation of muscle evoked responses after repetitive cortical stimulation in man. *Exp Brain Res* 1998; 122: 79–84.

Biggs JE, Lu VB, Stebbing MJ, Balasubramanyan S, Smith PA. Is BDNF sufficient for information transfer between microglia and dorsal horn neurons during the onset of central sensitization? *Mol Pain* 2010;44:2-14.

Blackwell TS, Christman JW. Sepsis and cytokines: current status. *Br J Anaesth* 1996; 77: 110–77.

Bogduk, N. “Classification of Chronic Pain Descriptions of Chronic Pain Syndromes and Definitions of Pain Terms.” 1994; pp 1–215. IASP press, Seattle,WA.

Borg-Stein J, Simons DG. Myofascial pain. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 2002; 83: 40–S47.

Bouhassira D, Danziger N, Attal N, Guirimand F. Comparison of the pain suppressive effects of clinical and experimental painful conditioning stimuli. *Brain* 2003;126:1068–78.

Bowsher D. Mechanisms of acupuncture. In: Filshie J, White A, editors. *Medical Acupuncture, A Western scientific approach*. Edinburgh: Churchill Livingstone 1998; p. 69-82.

Bragdon EE, Light KC, Costello NL, Sigurdsson A, Bunting S, Bhalang K, Maixner W. Group differences in pain modulation: pain-free women compared to pain-free men and to women with TMD. *Pain* 2002; 96:227–37.

Brown JA, Barbaro NM. Motor cortex stimulation for central and neuropathic pain: current status. *Pain* 2003 Aug;104(3):431-5.

Busnello JV, Oses JP, da Silva RS, Feier G, Barichello T, Quevedo J, Böhmer AE, Kapczinski F, Souza DO, Sarkis JJ, Portela LV: Peripheral nucleotide hydrolysis in rats submitted to a model of electroconvulsive. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008, 32:1829-1833.

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 Res* 1989;28(2):193-213.

Caumo W, Schmidt AP, Schneider CN, Bergmann J, Iwamoto CW, Bandeira D, Ferreira MB. Risk factors for preoperative anxiety in adults. *Acta Anaesthesiol Scand* 2001;45:298–307.

Caumo W, Ruehlman LS, Karoly P, Sehn F, Vidor LP, Dall-Ágnol L, Chassot M, Torres IL. Cross-cultural adaptation and validation of the profile of chronic pain: screen for a Brazilian population. *Pain Med* 2013;14(1):52-61.

Cervellati C, Pansini FS, Bonaccorsi G, Bergamini CM, Patella A, Casali F, Fantini GF, Pascale G, Castaldini C, Ferrazzini S, Ridolfi F, Cervellati G, Cremonini E, Christodoulou P, Bagni B. 17 $\beta$ -estradiol levels and oxidative balance in a population of pre-, peri-, and post-menopausal women. *Gynecol Endocrinol* 2011;27(12):1028-32.

Cheeran B, Talelli P, Mori F, Koch G, Suppa A, Edwards M, Houlden H, Bhatia K, Greenwood R, Rothwell JC. A common polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene (BDNF) modulates human cortical plasticity and the response to rTMS. *J Physiol* 2008; 1;586(Pt 23):5717-25.

Chen R, Classen J, Gerloff C, Celnik P, Wassermann EM, Hallett M, Cohen LG. Depression of motor cortex excitability by low-frequency transcranial magnetic stimulation. *Neurology* 1997; 48:1398–1403.

Chu LSW, Yeh SDJ, Wood DD. Acupuncture manual: a western approach. New York: Marcel Dekker Inc, 1979.

Chu J. Dry needling (intramuscular stimulation) in myofascial pain related to lumbosacral radiculopathy. *Eur J Phys Med Rehabil* 1995; 5(4):106-21.

Chu J. Twitch-obtaining intramuscular stimulation (TOIMS): Effectiveness for long-term treatment of myofascial pain related cervical radiculopathy. *Arch Phys Med Rehabil* 1997; 78(9):1042.

Chu J. Twitch-obtaining intramuscular stimulation. Observations in the management of radiculopathic chronic low-back pain. *J Musculoskeletal Pain* 1999;7(4):131-46.

Chu J. Twitch-obtaining intramuscular stimulation (TOIMS): long term observations in the management of chronic partial cervical radiculopathy. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 2000;40(8):503-10.

Chu J, Yuen K, Wang B, Chan RC, Schwartz I, Neuhauser D. Electrical twitch-obtaining intramuscular stimulation in lower back pain: a pilot study. *Am J Phys Med Rehabil* 2004; 83:104–111.

Citri A, Malenka RC. Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 2008;33:18–41.

Cockcroft JR, Chowienczyk PJ, Bender N, Ritter JM. Inhibition of bradykinin-induced vasodilation in human forearm vasculature by icatibant, a potent B2-receptor antagonist. *Br J Clin Pharmacol* 1994; 38: 317–322.

Cohen G. Enzymatic/nonenzymatic sources of oxyradicals and regulation of antioxidant defenses. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 738: 8-14 .

Connors BW, Malenka RC, Silva LR. Two inhibitory postsynaptic potentials, and GABAA and GABAB receptor-mediated responses in neocortex of rat and cat. *J Physiol* 1988;68:406:443.

Costigan M, Scholz J, Woolf CJ. Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. *Annu Rev Neurosci* 2009;32:1–32.

Coull JM, Beggs M, Boudreau D, Boivin D, Tsuda M, Inoue K, Gravel C, Salter M, De Konink Y. BDNF from microglia causes the shift in neuronal anion gradient underlying neuropathic pain. *Nature* 2005; 438:1017–1021.

Coutaux A, Adam F, Willer JC, Le Bars D: Hyperalgesia and allodynia: peripheral mechanisms. *Joint Bone Spine* 2005, 72:359-371.

Couto C, de Souza IC, Torres IL, Fregni F, Caumo W. Paraspinal Stimulation Combined With Trigger Point Needling and Needle Rotation for the Treatment of Myofascial Pain: A Randomized Sham-controlled Clinical Trial. *Clin J Pain* 2014;30(3):214-23.

Craig A, Dostrovsky JO. Medulla to thalamus. In “*Textbook of Pain*” (P. Wall and R. Melzack, eds.), 1999;pp 183–214. Churchill, Edinburgh.

Cruccu G, Aziz T, Garcia-Larrea L, Hansson P, Jensen TS, Lefaucheur JP, Simpson BA, Taylor RS. EFNS guidelines on neurostimulation therapy for neuropathic pain. *Eur J Neurol* 2007; 14:952–970.

Cummings TM, White AR. Needling therapies in the management of myofascial trigger point pain: a systematic review. *Arch Phys Med Rehabil* 2001; 82:986-92.

Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi D, Milzani A. Protein carbonylation in human diseases. *Trends in Molecular Medicine* 2003; 9(4): 169-76.

Dantzer R. Cytokine-induced sickness behaviour: a neuroimmune response to activation of innate immunity. *Eur J Pharmacol* 2004; 1;500(1-3):399-411.

Deitos, 2013. Desenvolviemnto de um índice par avaliar marcadores periféricos na dor crônica musculoesquelética e inflamatória.

DeMarco GJ, Pascoe PJ. Anatomy, Physiology, and Effects of Pain. IN: Fish RE, Brown MJ, Danneman PJ, Karas AZ. *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals*. San Diego: Elsevier, 2008, p.3-25.

Deverman BE, Patterson PH. Cytokines and CNS development. *Neuron* 2009; 64:61–78.

D'Mello R, Dickenson AH. Spinal cord mechanisms of pain. *Br J Anaesth* 2008; 101, 8-16.

Di Giovine FS, Malawista SE, Thornton E, Duff GW. Urate crystals stimulate production of tumor necrosis factor alpha from human blood monocytes and synovial cells. Cytokine mRNA and protein kinetics, and cellular distribution. *J Clin Invest* 1991; 87: 1375-1381.

Di Lazzaro V, Oliviero A, Mazzone P, Pilato F, Saturno E, Insola A, Visocchi M, Colosimo C, Tonali PA, Rothwell JC. *Clin Neurophysiol* 2002; 113:1673.

Di Lazzaro V, Pilato F, Dileone M, Ranieri F, Ricci V, Profice P, Bria P, Tonali PA, Ziemann U. GABAA receptor subtype specific enhancement of inhibition in human motor cortex. *J Physiol* 2006;575:721–726.

Di Lazzaro V, Pilato F, Dileone M, Profice P, Ranieri F, Ricci V, Bria P, Tonali PA, Ziemann U. Segregating two inhibitory circuits in human motor cortex at the level of GABAA receptor subtypes: a TMS study. *Clin Neurophysiol* 2007;118:2207–2214.

Dina OA, Green PG, Levine JD. Role of interleukin-6 in chronic muscle hyperalgesic priming. *Neuroscience* 2008; 152: 521–525.

Diplock AT, Charleux JL, Crozier-Willi G, Kok FJ, Rice-Evans C, Roberfroid M, Stahl W, Viña-Ribes J. Functional food science and defense against reactive oxidative species. *British Journal of Nutrition* 1998; 80: 77S-112S.

Dix TA, Aikens J. Mechanisms and biological relevance of lipid peroxidation initiation. *Chemical Research in Toxicology* 1993; 6(1): 2–18.

Donato R, Sorci G, Riuzzi F, et al. S100B's double life: intracellular regulator and extracellular signal. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793:1008–22

Drabkin DL, Austin JR. Spectrophotometric studies. II. Preparations from washed blood cells; nitric oxide hemoglobin and suifliemoglobin. *J Biol Chem* 1935;112:51-65.

Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82(1): 47-95, 2002.

Dupler D. Acupuncture. The Gale Encyclopedia of Medicine. Michigan: J. L. Longe 2001.

Feoli AM, Leite MC, Tramontina AC. et al., Developmental changes in content of glial marker proteins in rats exposed to protein malnutrition. *Brain Research* 2008; 1187(1): 33–41.

Ferreira MBC. Dor crônica. In: Kapczinski FP, Quevedo JL, Izquierdo IA. Bases biológicas dos transtornos psiquiátricos. Porto Alegre: Artmed, 2004, p. 181-200.

Fierro B, Tommaso M, Giglia F, Giglia G, Palermo A, Brighina F. Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) of the dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) during capsaicin-induced pain: modulatory effects on motor cortex excitability. *Exp Brain Res* 2010;203:31–38.

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; 381:706–709.

Filligim RB, King CD, Ribeiro-Dasilva MC, Rahim-Williams B, Riley JL. Sex, gender, and pain: a review of recent clinical and experimental findings. *J Pain* 2009;10:447-85.

Fischer AA. Pressure Threshold Meter: Its use for quantification of tender spots. *Arch Phys Med Rehabil* 1986;67: 836-8.

Fischer AA. Pressure threshold measurement for diagnosis of myofascial pain and evaluation of treatment results. *Clin J Pain* 1987;2:207-214, 1987.

Fischer AA. Treatment of myofascial pain. *J Musculoskel Pain* 1999; 7:131–142.

Flohé L, Günzler WA. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol* 1984;105:114-21.

Fregni F, Freedman S, Pascual-Leone A. Recent advances in the treatment of chronic pain with non- invasive brain stimulation techniques. *Lancet Neurol* 2007;6:188–191.191

Fregni F, Pascual-Leone A. Technology insight: noninvasive brain stimulation in neurology-perspectives on the therapeutic potential of rTMS and tDCS. *Nat Clin Pract Neurol* 2007; 3(7):383-393.

Fricton JR. Myofascial pain. *Baillière’s Clin Rheum* 1994; 8(4):857–880.

Forsgren S, Grimsholm O, Dalén T, Rantapää-Dahlqvist S. Measurements in the blood of BDNF for RA patients and in response to anti-TNF treatment help us to clarify the magnitude of centrally related pain and to explain the relief of this pain upon treatment. *Int J Inflamm* 2011:650685.

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* 2007;13:617–24.

Gao YJ, Ji RR. Targeting astrocyte signaling for chronic pain. *Neurotherapeutics*. 2010 Oct;7(4):482-93.

Garcia-Larrea L, Peyron R, Mertens P, Gregoire MC, Lavenne F, Le Bars D, Convers P, Mauguière F, Sindou M, Laurent B. Electrical stimulation of motor cortex for pain control: a combined PET-scan and electrophysiological study. *Pain* 1999;83:259–73.

Garcia-Larrea L, Peyron R. Motor cortex stimulation for neuropathic pain: from phenomenology to mechanisms. *Neuroimage* 2007;37:S71–9.

Ge HY, Madeleine P, Arendt-Nielsen L. Sex differences in temporal characteristics of descending inhibitory control: an evaluation using repeated bilateral experimental induction of muscle pain. *Pain* 2004; 110:72–8.

Gedge LI, Beaudoin A, Lazowski L, du Toit R, Jokic R, Milev R. Effects of electroconvulsive therapy and repetitive transcranial magnetic stimulation on serum brain-derived neurotrophic factor levels in patients with depression. *Front Psychiatry* 2012; 24;3:12

Gerwin RD. A study of 96 subjects examined for both fibromyalgia and myofascial pain. *J Musculoskeletal Pain* 1995; 13(Suppl 1):121-5.

Gerwin RD. Classification, epidemiology, and natural history of myofascial pain syndrome. *Current Pain and Headache Reports* 2001; 5: 412–420.

Goldberg DS, McGee SJ. Pain as a global public health priority. *BMC Public Health* 2011; 6, 11:770.

Gould E, Westlind-Danielsson A, Frankfurt M, McEwen BS. Sex differences and thyroid hormone sensitivity of hippocampal pyramidal cells. *J Neurosci* 1990; 10: 996–1003.

Graven-Nielsen T, Babenko V, Svensson P, Arendt-Nielsen L. Experimentally induced muscle pain induces hypoalgesia in heterotopic deep tissues, but not in homotopic deep tissues. *Brain Research* 1998; 787:203–10.

Greenspan JD, Craft RM, LeResche L, Arendt-Nielsen L, Berkley KJ, Fillingim RB, Gold MS, Holdcroft A, Lautenbacher S, Mayer EA, Mogil JS, Murphy AZ, Traub RJ; Consensus Working Group of the Sex, Gender, and Pain SIG of the IASP. Studying sex and gender differences in pain and analgesia: a consensus report. *Pain* 2007;132: S26-S45.

Greif R, Laciny S, Mokhtarani M, Doufas AG, Bakhshandeh M, Dorfer L, Sessler DI. Transcutaneous electrical stimulation of an auricular acupuncture point decreases anesthetic requirement. *Anesthesiology* 2002; 96:306–12.

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* 2002; 100:171–181.

Gorenstein C, Andrade L. Validation of a Portuguese version of the Beck Depression Inventory and the State-Trait Anxiety Inventory in Brazilian subjects. *Braz J Med Biol Res* 1996;29:453–457.

Guedes RP, Araújo AS, Janner D, Belló-Klein A, Ribeiro MF, Partata WA. Increase in reactive oxygen species and activation of Akt signaling pathway in neuropathic pain. *Cell Mol Neurobiol* 2008;28:1049-56.

Guo W, Wang H, Watanabe M, Shimizu K, Zou S, LaGraize SC, Wei F, Dubner R, Ren K. Glial-cytokine-neuronal interactions underlying the mechanisms of persistent pain. *J Neurosci* 2007;27:6006–6018.

Gur A, Karakoc M, Erdogan S, Nas K, Cevik R, Sarac AJ. Regional cerebral blood flow and cytokines in young females with fibromyalgia. *Clinical and Experimental Rheumatology* 2002; 20: 753-760.

Gunn CC. Treatment of Chronic Pain. Intramuscular Stimulation for Myofascial Pain of Radiculopathic Origin. London: Churchill Livingstone; 1996a.

Gunn CC. The Gunn approach to the treatment of chronic pain- intramuscular stimulation (IMS) for myofascial pain syndromes of radiculopathic origin. New York: Churchill-Livingstone; 1996b.

Gupta SK. Intention-to-treat concept: A review. *Perspect Clin Res*. 2011 Jul-Sep; 2(3): 109–112.

Halliwell S, Chirico. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* May 1993; 57: 715S-724S.

Han J. Acupuncture: neuropeptide release produced by electrical stimulation of different frequencies. *Trends Neurosci* 2003; 26 (1):17-22.

Han J. Acupuncture and endorphins. *Neurosci Lett* 2004; 361(1-3):258-61.

Hanisch UK, Kettenmann H. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci* 2007;10:1387–1394.

Harden RN, Bruehl SP, Gass S, Niemiec C, Barbick B. Signs and symptoms of the myofascial pain syndrome: a national survey of pain management providers. *Clin J Pain* 2000;16:64-72.

Harman SM, Metter EJ, Tobin JD, Pearson J, Blackman MR; Baltimore Longitudinal Study of Aging. Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men. Baltimore Longitudinal Study of Aging. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(2):724-31.



Hausmann A, Weis C, Marksteiner J, Hinterhuber H, Humpel C. Chronic repetitive transcranial magnetic stimulation enhances c-fos in the parietal cortex and hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res* 2000; 76: 355–62.

Henriksson KG, Mense S. Pain and nociception in fibromyalgia: clinical and neurobiological considerations on etiology and pathogenesis. *Pain Rev* 1994; 1:245–260.

Hong CZ. Consideration and recommendation of myofascial trigger point injection. *J Musculoskel Pain* 1994a, 2:29–59.

Hong CZ. Lidocaine injection versus dry needling to myofascial trigger point. The importance of the local twitch response. *Am J Phys Med Rehabil* 1994b;73(4):256-63.

Hong CZ. Myofascial trigger points: pathophysiology and correlation with acupuncture points. *Acupunct Med* 2000, 18:41–47.

Hong CZ. Myofascial pain therapy. *J Musculoskel Pain* 2004; 12:37–43.

Hsieh CY, Hong CZ. Effect of chiropractic manipulation on the pain threshold of myofascial trigger point. In Proceedings of the 1990 International Conference of Spinal Manipulation. Los Angeles: Los Angeles College of Chiropractic 1990; 359–363.

Hsueh TC, Cheng PT, Kuan TS, Hong CZ. The immediate effectiveness of electrical nerve stimulation on myofascial trigger points. *Am J Phys Med Rehabil* 1997; 76:471–476.

Huguenin L, Brukner PD, McCrory P, Smith P, Wajswelner H, Bennell K. Effect of dry needling of gluteal muscles on straight leg raise: a randomised, placebo controlled, double blind trial. *Br J Sports Med* 2005; 39:84–90.

Hurley RW, Adams MCB. Sex, gender, and pain: an overview of a complex field. *Anesthesia and analgesia* 2008; 107 (1): 309–17.

Ingebrigtsen T, Waterloo K, Jacobsen EA, Langbakk B, Romner B. Traumatic brain damage in minor head injury: relation of serum S-100 protein measurements to magnetic resonance imaging and neurobehavioral outcome. *Neurosurgery* 1999; 45(3):468-75; discussion 475-6.

Inoue K. The function of microglia through purinergic receptors: Neuropathic pain and cytokine release. *Pharmac Therap* 2006;109(12):210–226.

Jajte J, Grzegorzcyk J, Zmysacuta M, Rajkowska E. Effect of 7 mT static magnetic field and iron ions on rat lymphocytes: apoptosis, necrosis and free radical processes. *Bioelectrochemistry* 2002; 57(2): 107–111.

Jarvis CR, Xiong ZG, Plant JR, Churchill D, Lu WY, MacVicar BA, MacDonald JF. Neurotrophin modulation of NMDA receptors in cultured murine and isolated rat neurons. *J Neurophysiol* 1997;78:2363-2371.

Ji RR, Kohno T, Moore KA, Woolf CJ. Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms? *Trends Neurosci* 2003; 26, 696–705.

Jones DP. Disruption of mitochondrial redox circuitry in oxidative stress. *Chem Biol Interact* 2006; 163(1-2): 38-53.

Jovanovic P, Zoric L, Stefanovic I, Dzunic B, Djordjevic-Jocic J, Radenkovic M, Jovanovic M. Lactate dehydrogenase and oxidative stress activity in primary open-angle glaucoma aqueous humour. *Bosn J Basic Med Sci* 2010; 10: 83- 88.

Julius D, Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 2001; 413:203-210.

Juraska JM. Sex differences in cognitive regions of the rat brain. *Psychoneuroendocrinology* 1991; 16: 105–109.

Juttler E, Tarabin V, Schwaninger M. Interleukin-6 (IL-6): a possible neuromodulator induced by neuronal activity. *Neuroscientist* 2002;8:268–275.

Kaelin-Lang A, Luft AR, Sawaki L, Burstein AH, Sohn YH, Cohen LG. Modulation of human corticomotor excitability by somatosensory input. *J Physiol* 2002; 15,540(Pt 2):623-33.

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. *J Psychosom Res* 2010;68(3):223-33.

Kaptchuk TJ. The web that has no weaver. New York: Contemporary Books 2000.

Karabucak B, Walsch H, Jou YT, Simchon S, Kim S. The role of endothelial nitric oxide in the Substance P induced vasodilation in bovine dental pulp. *J Endod* 2005;31(10):733-6.

Karavis M. The neurophysiology of acupuncture: A viewpoint. *Acupunct Med* 1997;15(1):33-42.

Karege F, Schwald M, Cisse M. Postnatal developmental profile of brain-derived neurotrophic factor in rat brain and platelets. *Neurosci Lett* 2002a; 328:261–264.

Karege F, Perret G, Bondolfi G, Schwald M, Bertschy G, Aubry JM. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Res* 2002b; 109:143–148.

Katz MH. Performing the analysis. In: Multivariate analysis. Eds. Katz MH. 1999; 84-117. Cambridge University press; UK.

Kawasaki Y, Zhang L, Cheng JK, Ji RR. Cytokine mechanisms of central sensitization: distinct and overlapping role of interleukin-1beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in regulating synaptic and neuronal activity in the superficial spinal cord. *J Neurosci* 2008;28:5189-5194.

Kerr BJ, Bradbury EJ, Bennett DL, Trivedi PM, Dassan P, French J, Shelton DB, McMahon SB, Thompson SW. Brain-derived neurotrophic factor modulates nociceptive sensory inputs and NMDA evoked responses in the rat spinal cord. *J Neurosci* 1999; 19:5138–5148.

Keck ME, Sillaber I, Ebner K, Welt T, Toschi N, Kaehler ST, Singewald N, Philippu A, Elbel GK, Wotjak CT, Holsboer F, Landgraf R, Engelmann M. Acute transcranial magnetic stimulation of frontal brain regions selectively modulates the release of vasopressin, biogenic amines and amino acids in the rat brain. *Eur J Neurosci* 2000; 12: 3713–20.

Kerr BJ, Bradbury EJ, Bennett DL, Trivedi PM, Dassan P, French J, Shelton DB, McMahon SB, Thompson SW. Brain derived neurotrophic factor modulates nociceptive sensory inputs and NMDA-evoked responses in the rat spinal cord. *J Neurosci* 1999;19:5138-5148.

Khedr EM, Kotb H, Kamel NF, Ahmed MA, Sadek R, Rothwell JC. Longlasting antalgic effects of daily sessions of repetitive transcranial magnetic stimulation in central and peripheral neuropathic pain. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76(6):833-8.

Kim W, Kim SK, Min BI. Mechanisms of Electroacupuncture-Induced Analgesia on Neuropathic Pain in Animal Model. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 436913.

Klein T, Stahn S, Magerl W, Treede RD. The role of heterosynaptic facilitation in long-term potentiation (LTP) of human pain sensation. *Pain* 2008; 139(3):507-19.

Klein AB, Williamson R, Santini MA, Clemmensen C, Ettrup A, Rios M, Knudsen GM, Aznar S. Blood BDNF concentrations reflect brain-tissue BDNF levels across species. *Int J Neuropsychopharmacol* 2010; 14(3):347-53.

Kobayashi M, Pascual-Leone A. Transcranial magnetic stimulation in neurology. *Lancet Neurol* 2003;2(3):145-56.

Kole MH, Fuchs E, Ziemann U, Paulus W, Ebert U. Changes in 5-HT<sub>1A</sub> and NMDA binding sites by a single rapid transcranial magnetic stimulation procedure in rats. *Brain Res* 1999; 826(2):309-12.

Korn T, Magnus T, Jung S. Autoantigen specific T cells inhibit glutamate uptake in astrocytes by decreasing expression of astrocytic glutamate transporter GLAST: a mechanism mediated by tumor necrosis factor- $\alpha$ . *FASEB J* 2005; 19: 1878–1880.

Kosek E, Hansson P. Modulatory influence on somatosensory perception from vibration and heterotopic noxious conditioning stimulation (HNCS) in fibromyalgia patients and healthy subjects. *Pain* 1997; 70:41–51.

Kostopoulos D, Rizopoulos K. *The Manual of Trigger Point and Myofascial Therapy*. Thorofare, NJ: SLACK Inc.; 2001.

Kovalchuk Y, Hanse E, Kafitz KW, Konnerth A. Postsynaptic induction of bdnf-mediated long-term potentiation. *Science* 2002; 295:1729–1734.

Kruse RA Jr, Christiansen JA. Thermographic imaging of myofascial trigger points: a follow-up study. *Arch Phys Med Rehabil* 1992; 73: 819-23.

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* 2006;9:580-586.

Ji RR, Kohno T, Moore KA, Woolf CJ. Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms? *Trends Neurosci* 2003; 26, 696–705.

Lang N, Harms J, Weyh T, Lemon RN, Paulus W, Rothwell JC, Siebner HR. Stimulus intensity and coil characteristics influence the efficacy of rTMS to suppress cortical excitability. *Clin Neurophysiol* 2006;117:2292–2301.

Lang UE, Hellweg R, Gallinat J, Bajbouj M. Acute prefrontal cortex transcranial magnetic stimulation in healthy volunteers: no effects on brain-derived neurotrophic factor (BDNF) concentrations in serum. *J Affect Disord* 2008; 107(1-3):255-8.

Lao L. Acupuncture techniques and devices. *J Alternative Complementary Med* 1996; 2:23–5.

Lara DR, Gama CS, Belmonte-De-Abreu P, Portela LV, Goncalves CA, Fonseca M, Hauck S, Souza DO. Increased Serum S100B Protein in Schizophrenia: A Study in Medication Free Patients. *J Psychiatr Res* 2001; 35: 11-4.

Latremoliere A, Woolf CJ. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *J Pain* 2009; 10:895– 926.

LeBel CP, Ischiropoulos H, Bondy SC. Evaluation of the probe 2',7'-dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. *Chem Res Toxicol* 1992; 5, 227–231.

Lee YS, Sindhu RK, Lin CY, Ehdaie A, Lin VW, Vaziri ND. Effects of nerve graft on nitric oxide synthase, NAD(P)H oxidase, and antioxidant enzymes in chronic spinal cord injury. *Free Radic Biol Med* 2004;36:330-9.

Lee SJ, Lyu YS, Kang HW, et al. Antinociception of heterotopic electro-acupuncture mediated by the dorsolateral funiculus. *American Journal of Chinese Medicine* 2007;35(2):251–264.

Lee SH, CC Chen, CS Lee, TC Lin & RC Chan. Effects of needle intramuscular stimulation on shoulder and cervical myofascial pain syndrome and microcirculation. *J Chin Med Assoc* 2008;71(4):200-6.

Lefaucheur JP, Drouot X, Keravel Y, Nguyen JP. Pain relief induced by repetitive transcranial magnetic stimulation of precentral cortex. *Neuroreport* 2001; 12: 2963–5.

Lefaucheur JP. The use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in chronic neuropathic pain. *Neurophysiologie Clinique* 2006a; 36(3): 117-124.

Lefaucheur JP, Drouot X, Menard-Lefaucheur I, Keravel Y, Nguyen JP. Motor cortex rTMS restores defective intracortical inhibition in chronic neuropathic pain. *Neurology* 2006b; 67: 1568–1574.

Lefaucheur JP, Wasserman EA, Epstein CM, Ziemann U, et al. TMS and pain. The

Oxford Handbook of Transcranial Stimulation 2008. New York Oxford University Press Inc.:717–736.736.

Lefaucheur JP. Use of repetitive transcranial magnetic stimulation in pain relief. *Expert Rev Neurother* 2008;8:799–808.

Leo RJ, Latif T. Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in experimentally induced and chronic neuropathic pain: a review. *J Pain* 2007;8:453–459.

Le Pera D, Graven-Nielsen T, Valeriani M, Oliviero A, Di Lazzaro V, Tonali PA, Arendt-Nielsen L. Inhibition of motor system excitability at cortical and spinal level by tonic muscle pain. *Clin Neurophysiol* 2001; 112(9):1633-41.

Levine ES, Corzior RA, Black IB, Plummer M. BDNF modulates hippocampal synaptic transmission by increasing N- methyl-D-aspartic acid receptor activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95:10235–10239.

Lewit K. The needle effect in the relief of myofascial pain. *Pain* 1979; 6(1):83-90.

Li J, Simone DA, Larson AA. Windup leads to characteristics of central sensitization. *Pain* 1999a;79:75-82.

Li WP, Xian C, Rush RA, Zhou XF. Upregulation of brain-derived neurotrophic factor and neuropeptide Y in the dorsal ascending sensory pathway following sciatic nerve injury in rat. *Neurosci Lett* 1999b; 260:49–52.

Lima MC, Fregni F. Motor cortex stimulation for chronic pain: systematic review and meta-analysis of the literature. *Neurology* 2008;70:2329–2337.2337

Lin SY, Wu K, Levine ES, Mount HT, Suen PC, Black IB. BDNF acutely increases tyrosine phosphorylation of the NMDA receptor subunit 2B in cortical and hippocampal postsynaptic densities. *Brain Res Mol Brain Res* 1998;55:20-27.

Lin TY, Kaziyama HHS, Teixeira MJ. Síndrome dolorosa miofascial. *Rev Medicina* 2001; 80:94 -110.

Linton SJ, Skevington SM. Psychological factors. In: Crombie IK, Croft PR, Linton SJ, Leresche L, Korff MV (eds). *Epidemiology of Pain*. New York: IASP press, 1999. p. 25-42.

- Li Voti P, Conte A, Suppa A, Iezzi E, Bologna M, Aniello MS, Defazio G, Rothwell JC, Berardelli A. Correlation between cortical plasticity, motor learning and BDNF genotype in healthy subjects. *Exp Brain Res* 2011; 212(1):91-9.
- Lo YL, Cui SL, Fook-Chong JS. The effect of acupuncture on motor cortex excitability and plasticity. *Physiol* 2005; 540: 623–633.
- Loeser JD, Butler SH, Chapman CR, Turk DC (eds). *Bonica's Management of Pain*. 3ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Long SP, Kephart W. Myofascial pain syndrome. In *The Management of Pain*. Edited by Ashburn MA, Rice LJ. Philadelphia: Churchill Livingstone 1998; 299–321.
- Loo CK, McFarquhar TF, Mitchell PB. A review of the safety of repetitive transcranial magnetic stimulation as a clinical treatment for depression. *Int J Neuropsychopharmacol* 2008;11:131-147.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1):265-275.
- Lucas KR. The impact of latent trigger points on regional muscle function. *Curr Pain Headache Rep* 2008; 12:344–349.
- Machado-Vieira R, Lara DR, Portela LVC, Goncalves CA, Soares JC, Kapzinski F, Souza DO. Increased Serum S100B Protein in Drug-free Bipolar Patients During the First Manic Episode: a Pilot Study. *European Neuropsychopharmacol* 2002; 12(3): 269-72.
- Machii K, Cohen D, Ramos-Estebanez C, Pascual-Leone A. Safety of rTMS to non-motor cortical areas in healthy participants and patients. *Clin Neurophysiol* 2006;117:455-471.
- Macdonald AJ, Macrae KD, Master BR, Rubin AP. Superficial acupuncture in the relief of chronic low back pain. *Ann R Coll Surg Engl* 1983; 65(1):44-6. 25.
- MacEwan DJ. TNF receptor subtype signalling: differences and cellular consequences. *Cell Signal* 2002; 14: 477–492.
- McMahon SB, Cafferty WB, Marchand F. Immune and glial cell factors as pain mediators and modulators. *Exp Neurol* 2005;192(2):444–462.
- McMahon SB, Malcangio M. Current challenges in glia-pain biology. *Neuron* 2009; 64:46–54.

MacPherson H, Asghar A. Acupuncture needle sensations associated with De Qi: a classification based on experts' ratings. *J Altern Complement Med* 2006; 12(7):633-7.

Maeda F, Keenan JP, Tormos JM, Topka H, Pascual-Leone A. Interindividual variability of the modulatory effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on cortical excitability. *Exp Brain Res* 2000; 133: 425–30.

Maekawa K, Clark GT, Kuboki T. Intramuscular hypoperfusion, adrenergic receptors, and chronic muscle pain. *Journal of Pain* 2002; 3: 251–260.

Maes M, Libbrecht I, Van Hunsel F, Lin AH, De Clerck L, Stevens W, Kenis G, de Jongh R, Bosmans E, Neels H. The immune-inflammatory pathophysiology of fibromyalgia: Increased serum soluble gp130, the common signal transducer protein of various neurotrophic cytokines. *Psychoneuroendocrinology* 1999; 24: 371-383.

Malcangio M, Lessmann V. A common thread for pain and memory synapses? Brain-derived neurotrophic factor and trkB receptors. *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24:116–121.

Malenka RC, Bear MF. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 2004;44:5–21.

Marklund SL. Superoxide dismutase isoenzymes in tissues and plasma from New Zealand black mice, nude mice and normal BALB/c mice. *Mutat Res* 1985; 148(1-2):129-134.

Martinowich K, Manji H, Lu B. New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nat Neurosci* 2007;10:1089-1093.

Marz P, Otten U, Rose-John S. Neural activities of IL-6-type cytokines often depend on soluble cytokine receptors. *Eur J Neurosci* 1999; 11: 2995–3004.

Matayoshi S, Jiang N, Katafuchi T, Koga K, Furue H, Yasaka T, Nakatsuka T, Zhou XF, Kawasaki Y, Tanaka N, Yoshimura M. Actions of brain-derived neurotrophic factor on spinal nociceptive transmission during inflammation in the rat. *J Physiol* 2005; 569:685–695.

Merighi A, Carmignoto G, Gobbo S, Lossi L, Salio C, Vergnano AM, Zonta M. Neurotrophins in spinal cord nociceptive pathways. *Prog Brain Res* 2004; 46:291–321.

Merighi A, Salio C, Ghirri A, Lossi L, Ferrini F, Betelli C, Bardoni R. BDNF as a pain modulator. *Prog Neurobiol* 2008; 85:297–317.

Merskey, H., & Bogduk, N. Part III: Pain Terms, A Current List with Definitions and Notes on Usage. In H. Merskey & N. Bogduk (Eds.), *Classification of chronic pain, IASP task force on taxonomy* 1994 (2nd ed., pp. 209-214). Seattle, WA: IASP Press.



Mhalla A, de Andrade DC, Baudic S, Perrot S, Bouhassira D. Alteration of cortical excitability in patients with fibromyalgia. *Pain* 2010; 149(3):495-500.

Mense S. Descending antinociception and fibromyalgia. *Z Rheumatol* 1998; 57(suppl 2):23–26.

Mense S, Simons DG. *Muscle Pain*. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2001.

Mense S. The pathogenesis of muscle pain. *Current Pain and Headache Reports* 2003; 7: 419–425.

Michael GJ, Averill S, Nitkunan A, Rattray M, Bennett DL, Yan Q, Priestley JV. Nerve growth factor treatment increases brain-derived neurotrophic factor selectively in TrkA-expressing dorsal root ganglion cells and in their central terminations within the spinal cord. *J Neurosci* 1997; 17: 8476–8490.

Mickey RM, Greenland S. The impact of confounder selection criteria on effect estimation. *Am J Epidemiol* 1989;129:125–137.

Miki K, Fukuoka T, Tokunaga A, Kondo E, Dai Y, Noguchi K. Differential effect of brain-derived neurotrophic factor on high-threshold mechanosensitivity in a rat neuropathic pain model. *Neurosci Lett* 2000; 278, 85–88.

Millan MJ. The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol* 1999; 57:1–164.

Miyoshi K, Obata K, Kondo T, Okamura H, Noguchi K. Interleukin-18-mediated microglia/astrocyte interaction in the spinal cord enhances neuropathic pain processing after nerve injury. *J Neurosci* 2008;28:12775–12787.

Moore KW, de Waal MR, Coffman RL, O’Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001;19: 683–765.

Morgan GE, Mikhail MS. Pain Management. In: Morgan GE, Mikhail MS (eds). *Clinical Anesthesiology*. 2ed. Stamford: Appleton & Lange, 1996. p. 274-316.

Mosser DM, Zhang X. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunol Rev* 2008; 226: 205–218.

Myburgh CC, Lauridsen HH, Larsen AH, Hartvigsen J. Standardized manual palpation of myofascial trigger points in relation to neck/shoulder pain; the influence of clinical experience on inter-examiner reproducibility. *Manual Therapy* 2011;16:136-140.

Muellbacher W, Ziemann U, Boroojerdi B, Hallett M. Effects of low-frequency transcranial magnetic stimulation on motor excitability and basic motor behavior. *Clin Neurophysiol* 2000; 111:1002–1007.

Muellbacher W, Ziemann U, Wissel J, Dang N, Kofler M, Facchini S, Boroojerdi B, Poewe W, Hallett M. Early consolidation in human primary motor cortex. *Nature* 2002; 415:640– 644.

Murphy PG, Borthwick LA, Altares M, Gauldie J, Kaplan D, Richardson PM. Reciprocal actions of interleukin-6 and brain-derived neurotrophic factor on rat and mouse primary sensory neurons. *Eur J Neurosci* 2000; 12:1891–1899.

Naik AK, Tandan SK, Dudhgaonkar SP, Jadhav SH, Kataria M, Prakash VR, et al. Role of oxidative stress in pathophysiology of peripheral neuropathy and modulation by N-acetyl-L-cysteine in rats. *Eur J Pain* 2006;10:573-9.

Nakamura H, Kitagawa H, Kawaguchi Y, Tsuji H. Intracortical facilitation and inhibition after transcranial magnetic stimulation in conscious humans. *J Physiol* 1997; 498:817-23.

Naliboff BD, Berman S, Chang L, Derbyshire SW, Suyenobu B, Vogt BA, Mandelkern M, Mayer EA. Sex-related differences in IBS patients: central processing of visceral stimuli. *Gastroenterology* 2003; 124: 1738–1747.

Neugebauer V, Lücke T, Schaible HG. N-methyl-D-aspartate (NMDA) and non-NMDA receptor antagonists block the hyperexcitability of dorsal horn neurons during development of acute arthritis in rat's knee joint. *J Neurophysiol* 1993; 70:1365–1377.

Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science* 2005;308:1314–1318.

O'Banion MK. Cyclooxygenase-2: molecular biology, pharmacology, and neurobiology. *Crit Rev Neurobiol* 1999;13:45-82.

Obreja O, Schmelz M, Poole S, Kress M. Interleukin-6 in combination with its soluble IL-6 receptor sensitises rat skin nociceptors to heat, in vivo. *Pain* 2002;96:57-62.

Obreja O, Biasio W, Andratsch M, Lips KS, Rathee PK, Ludwig A, Rose-John S, Kress M. Fast modulation of heat-activated ionic current by proinflammatory interleukin 6 in rat sensory neurons. *Brain* 2005; 128:1634-1641.

Okeson JP. Management of temporomandibular disorders and occlusion. 4th ed. St. Louis: Mosby; 1998.

On AY, Uludağ B, Taşkıran E, Ertekin C. Differential corticomotor control of a muscle adjacent to a painful joint. *Neurorehabil Neural Repair* 2004; 18(3):127-33.

Onda A, Murata Y, Rydevik B, Larsson K, Kikuchi S, Olmarker K. Infliximab attenuates immunoreactivity of brain-derived neurotrophic factor in a rat model of herniated nucleus pulposus. *Spine* 2004; 29 (17):1857–1861.

Oprée A, Kress M. Involvement of the Proinflammatory Cytokines Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 But Not IL-8 in the Development of Heat Hyperalgesia: Effects on Heat-Evoked Calcitonin Gene-Related Peptide Release from Rat Skin. *The Journal of Neuroscience* 2000; 20:6289-6293.

O'reardon JP, Solvason HB, Janicak PG, Sampson S, Isenberg KE, Nahas Z, McDonald WM, Avery D, Fitzgerald PB, Loo C, Demitrack MA, George MS, Sackeim HA. Efficacy and safety of transcranial magnetic stimulation in the acute treatment of major depression: a multisite randomized controlled trial. *Biol Psychiatry* 2007; 62(11): 1208-16.

Ozgoçmen S, Ozyurt H, Sogut S, Akyol O, Ardicoglu O, Yildizhan H. Antioxidant status, lipid peroxidation and nitric oxide in fibromyalgia: etiologic and therapeutic concerns. *Rheumatol Int* 2006;26:598-603.

Paller CJ, Campbell CM, Edwards RR, Dobs AS. Sex-based differences in pain perception and treatment. *Pain Med* 2009; 10: 289–299.

Pagano RL, Assis DV, Clara JA, Alves AS, Dale CS, Teixeira MJ, Fonoff ET, Britto LR. Transdural motor cortex stimulation reverses neuropathic pain in rats: a profile of neuronal activation. *Eur J Pain* 2011;15: 268.e1–14.

Pagano RL, Fonoff ET, Dale CS, Ballester G, Teixeira MJ, Britto LR. Motor cortex stimulation inhibits thalamic sensory neurons and enhances activity of PAG neurons: possible pathways for antinociception. *Pain* 2012;153(12):2359-69.

Pan W, Kastin AJ. TNF $\alpha$  transport across the blood-brain barrier is abolished in receptor knockout mice. *Exp Neurol* 2002;174:193-200.

Pascual-Leone A, Valls-Sole J, Wassermann EM, Hallett M. Responses to rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex. *Brain* 1994; 117:847–858.

Passard A, Attal N, Benadhira R, Brasseur L, Saba G, Sichere P, Perrot S, Januel D, Bouhassira D. Effects of unilateral repetitive transcranial magnetic stimulation of the motor cortex on chronic widespread pain in fibromyalgia. *Brain* 2007;130:2661–70.

Peinemann A, Reimer B, Loer C, Quartarone A, Munchau A, Conrad B, Siebner HR. Long-lasting increase in corticospinal excitability after 1800 pulses of subthreshold 5 Hz repetitive TMS to the primary motor cortex. *Clin Neurophysiol* 2004;115:1519-1526.

Perini F, D'Andrea G, Galloni E, Pignatelli F, Billo G, Alba S, Bussone G, Toso V. Plasma cytokine levels in migraineurs and controls. *Headache* 2005; 45:926–931.

Peskind ER, Griffin WS, Akama KT, Raskind MA, Van Eldik LJ. Cerebrospinal fluid S100B is elevated in the earlier stages of Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 2001; 39, 409–413.

Peters ML, Schmidt AJ, Van den Hout MA, Koopmans R, Sluijter ME. Chronic back pain, acute postoperative pain and the activation of diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). *Pain* 1992; 50:177–87.

Pezet S, Malcangio M, McMahon SB. BDNF: a neuromodulator in nociceptive pathways? *Brain Res Rev* 2002a; 40:240–9.

Pezet S, Cunningham J, Patel J, Grist J, Gavazzi I, Lever IJ, Malcangio M. BDNF modulates sensory neuron synaptic activity by a facilitation of GABA transmission in the dorsal horn. *Mol Cell Neurosci* 2002b; 21:51–62.

Pezet S, McMahon S. Neurotrophins: mediators and modulators of pain. *Annu Rev Neurosci* 2006; 29:507–538.

Pillai A, Kale A, Joshi S, Naphade N, Raju MS, Nasrallah H, Mahadik SP. Decreased BDNF levels in CSF of drug-naive first-episode psychotic subjects: correlation with plasma BDNF and psychopathology. *Int J Neuropsychopharmacol* 2010; 13(4):535-9.

Planells-Cases R, Garcia-Sanz N, Morenilla-Palao C, Ferrer-Montiel A. Functional aspects and mechanisms of TRPV1 involvement in neurogenic inflammation that leads to thermal hyperalgesia. *Pflugers Arch* 2005, 451:151-159.

Pleger B, Janssen F, Schwenkreis P, Volker B, Maier C, Tegenthoff M. Repetitive transcranial magnetic stimulation of the motor cortex attenuates pain perception in complex regional pain syndrome type I. *Neurosci Lett* 2004; 356:687–90.

Price DD, McGrath PA, Rafii A, Buckingham B. The validation of visual analogue scales as ratio scale measures for chronic and experimental pain. *Pain* 1983;1:45-56.

Quartarone A, Bagnato S, Rizzo V, Morgante F, Sant'angelo A, Battaglia F, Messina C, Siebner HR, Girlanda P. Distinct changes in cortical and spinal excitability following high-frequency repetitive TMS to the human motor cortex. *Exp Brain Res* 2005;161:114–124.

Raabe A, Kopetsch O, Woszczyk A, Lang J, Gerlach R, Zimmermann M, Seifert V. S-100B protein as a serum marker of secondary neurological complications in neurocritical care patients. *Neurol Res* 2004; 26(4):440–444.

Randic M, Jiang MC, Cerne R. Long-term potentiation and long term depression of primary afferent neurotransmission in the rat spinal cord. *J Neurosci* 1993;13:5228-5241.

Rasmussen P, Brassard P, Adser H, Pedersen MV, Leick L, Hart E, Secher NH, Pedersen BK, Pilegaard H. Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise. *Exp Physiol* 2009; 94 (10): 1062–1069.

Ravaud P, Auleley GR, Amor B, Dougados M. Radiographic assessment of progression in knee osteoarthritis. *Rheumatol Eur* 1995;2:129–131.

Reeve AJ, Patel S, Fox A, Walker K, Urban L. Intrathecally administered endotoxin or cytokines produce allodynia, hyperalgesia and changes in spinal cord neuronal responses to nociceptive stimuli in the rat. *Eur J Pain* 2000; 4: 247–257.

Reinohl J, Hoheisel U, Unger T, Mense S. Adenosine triphosphate as a stimulant for nociceptive and non-nociceptive muscle group IV receptors in the rat. *Neuroscience Letters* 2003; 338: 25–28.

Ren K, Torres R. Role of interleukin-1beta during pain and inflammation. *Brain Res Rev* 2009; 60:57–64.

Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol* 1994; 233: 357-363.

Riley JL, Robinson ME, Wise EA, Myers CD, Fillingim RB. Sex differences in the perception of noxious experimental stimuli: a meta- analysis. *Pain* 1998;74:181-7.

Rocha APC; Kraychete DC; Lemonica L; Carvalho LR; Barros GAM, TSA; Garcia JBS, TSAVI; Sakata RK, TSA Dor: aspectos atuais da sensibilização periférica e central. *Rev Bras Anestesiol* 2007; vol 57 no.1 Campinas Jan./Feb.

Rokyta R, Holecek V, Pekárkova I, Krejcová J, Racek J, Trefil L, Yamamotová A. Free radical after painful stimulation are influenced by antioxidants and analgesics. *Neuroendocrinol Lett* 2003;24: 304-9.

Romero N, Radi R, Linares E, Augusto O, Detweiler CD, Mason RP, Denicola A. Reaction of human hemoglobin with peroxynitrite: Isomerization to nitrate and secondary formation of protein radicals. *J Biol Chem* 2003;278:44049-57.

Roof R.L. The dentate gyrus is sexually dimorphic in prepubescent rats: testosterone plays a significant role. *Brain Res* 1993; 610: 148–151.

Rossi DJ, Brady JD, Mohr C. Astrocyte metabolism and signaling during brain ischemia. *Nat Neurosci* 2007;10:1377–1386.

Rossi S, Hallett M, Rossini PM, Pascual-Leone A. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clin Neurophysiol* 2009; 120(12):2008–2039.

Rozen T, Swidan SZ. Elevation of CSF tumor necrosis factor alpha levels in new daily persistent headache and treatment refractory chronic migraine. *Headache* 2007; 47:1050–1055.

Sagara Y, Dargush R, Chambers D, Davis J, Schubert D, Aher P. Cellular mechanisms of resistance to chronic oxidative stress. *Free Radical Biology Medicine* 1998; 24:1375-89.

Sah R, Galeffi F, Ahrens R, Jordan G, Schwartz-Blomm RD. Modulation of the GABA(A)-gated chloride channel by reactive oxygen species. *J Neurochem* 2002;80:383-91.

Salio C, Lossi L, Ferrini F, Merighi A. Ultrastructural evidence for a pre- and postsynaptic localization of full-length trkB receptors in substantia gelatinosa (lamina II) of rat and mouse spinal cord. *Eur J Neurosci* 2005, 22:1951-1966.

Sandkühler J, Liu X. Induction of long-term potentiation at spinal synapses by noxious stimulation or nerve injury. *Eur J Neurosci* 1998; 10:2476–2480.

Sandrini G, Rossi P, Milanov I, Serrao M, Cecchini AP, Nappi G. Abnormal modulatory influence of diffuse noxious inhibitory controls in migraine and chronic tension-type headache patients. *Cephalalgia* 2006; 26:782–9.

Sarni RS, Leite H.P. Radicais livres, antioxidantes e nutrição. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica* 2003; 18(2): 87-94.

Schaf DV, Tort AB, Fricke D, Schestatsky P, Portela LV, Souza DO, Rieder CR. S100B and NSE serum levels in patients with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2005; 11, 39–43.

Schäfers M, Sorkin LS, Sommer C. Intramuscular injection of tumor necrosis factor-alpha induces muscle hyperalgesia in rats. *Pain* 2003; 104:579–88.

Schäfers M, Sorkin L. Effect of cytokines on neuronal excitability. *Neurosci Lett* 2008; 437:188–193.

Schaller G, Sperling W, Richter-Schmidinger T, Mühle C, Heberlein A, Maihöfner C, Kornhuber J, Lenz B. Serial repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) decreases BDNF serum levels in healthy male volunteers. *J Neural Transm* 2014; 121(3):307-13.

Schinder AF, Poo M. The neurotrophin hypothesis for synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 23:639–645.

Schabrun SM, Hodges PW. Muscle pain differentially modulates short interval intracortical inhibition and intracortical facilitation in primary motor cortex. *J Pain* 2012;13(2): 187-94.

Schwenkreis P, Scherens A, Rönnau AK, Höffken O, Tegenthoff M, Maier C. Cortical disinhibition occurs in chronic neuropathic, but not in chronic nociceptive pain. *BMC Neurosci* 2010; 11;11:73.

Seki K, Perlmutter L, Fetz E. Sensory input to primate spinal cord is presynaptically inhibited during voluntary movement. *Nat. Neurosci* 2003;6:1309–1316.

Sehn F, Chachamovich E, Vidor LP, Dall-Agnol L, de Souza IC, Torres IL, Fregni F, Caumo W. Cross-cultural adaptation and validation of the Brazilian Portuguese version of the pain catastrophizing scale. *Pain Med* 2012; 13(11):1425-35.

Sherman SM, Guillery RW. Functional organization of thalamocortical relays. *J Neurophysiol* 1996; 76, 1367–1395.

Sherman SM, Guillery RW. The role of the thalamus in the flow of information to the cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2002; 357,1695–1708.

Shah JP, Phillips TM, Danoff JV, Gerber LH. An in vivo microanalytical technique for measuring the local biochemical milieu of human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 2005; 99: 1977–1984.

Sheeran P, Hall GM. Cytokines in anaesthesia. *Br J Anaesth* 1997; 78: 201 – 19

Short EB, Borckardt JJ, Anderson BS, Frohman H, Beam W, Reeves ST, George MS. Ten sessions of adjunctive left prefrontal rTMS significantly reduces fibromyalgia pain: a randomized, controlled pilot study. *Pain* 2011;152(11):2477-84.

Shu XQ, Llinas A, Mendell LM. Effects of trkB and trkC neurotrophin receptor agonists on thermal nociception: a behavioral and electro physiological study. *Pain* 1999; 80, 463–470.

Skootsky SA, Jaeger B, Oye RK. Prevalence of myofascial pain in general internal medicine practice. *The Western Journal of Medicine* 1989; 151: 157–160.

Silva JRT, Silva ML, Prado WA. Analgesia induced by 2- or 100-Hz electroacupuncture in the rat tail-flick test depends on the activation of different descending pain inhibitory mechanisms. *Journal of Pain* 2011; 12(1):51–60.

Simkó M. Cell type specific redox status is responsible for diverse electromagnetic field effects. *Current Medicinal Chemistry* 2007; 14(10):1141–1152.

de Simons DG, Travell JG. Myofascial Pain and Dysfunction: The Trigger Point Manual. vol. 1; 2nd ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 1998).

Simons DG, Travell JG, Simons LS. Travell and Simons' myofascial pain and dysfunction: the trigger point manual. Vol 1. Upper half of body. Baltimore: Williams & Wilkins; 1999.

Simons DG. Understanding effective treatments of myofascial trigger points. *J Bodywork Movement Ther* 2002; 6:81–88.

Simons DG, Dommerholt J. Myofascial pain syndromes: Trigger points. *J. Musculoskeletal Pain* 2005;13:39-48.

Simons DG, Travell JG, Simons LS. Dor e disfunção miofascial. Manual dos pontos gatilhos. Volume I – Parte superior do corpo. 2. ed. São Paulo: Artes Medicas 2005; p. 800.

Slack SE, Thompson SW. Brain-derived neurotrophic factor induces NMDA receptor 1 phosphorylation in rat spinal cord. *Neuroreport* 2002; 13: 1967– 1970.

Slack SE, Pezet S, McMahon SB, Thompson SW, Malcangio M. Brain-derived neurotrophic factor induces NMDA receptor subunit one phosphorylation via ERK and PKC in the rat spinal cord. *Eur J Neurosci* 2004; 20, 1769–1778.

Sluka KA, Kalra A, Moore SA. Unilateral intramuscular injections of acidic saline produce a bilateral, long-lasting hyperalgesia. *Muscle Nerve* 2001; 24:37-46.



Smith CA, Hay PPJ. Acupuncture for depression. Cochrane Database of Systematic Reviews 2004, Issue 3. Art. No.: CD004046. DOI: 10.1002/14651858.CD004046.pub2.

Smith P, Mossdrop D, Davies S, Sloan P, Al-Ani Z. The efficacy of acupuncture in the treatment of temporomandibular joint myofascial pain: A randomised controlled trial. *J Dent* 2007; 35(3):259-67.

Snyder-Mackler L, Bork C, Bourbon B, Trumbore D. Effect of helium-neon laser on musculoskeletal trigger points. *Phys Ther* 1986; 66:1087–1090.

Sommer C, Lindenlaub T, Teuteberg P, Schafers M, Hartung T, Toyka KV: Anti-TNF-neutralizing antibodies reduce pain-related behavior in two different mouse models of painful mononeuropathy. *Brain Res* 2001, 913:86-89.

Sommer C, Kress M. Recent findings on how proinflammatory cytokines cause pain: peripheral mechanisms in inflammatory and neuropathic hyperalgesia. *Neurosci Lett* 2004; 361:184–187.

Soper DS. Post-hoc Statistical Power Calculator for Hierarchical Multiple Regression 2013. [Software]. Available from <http://www.danielsoper.com/statcalc>

Stefani LC, Torres IL, de Souza IC, Rozisky JR, Fregni F, Caumo W. BDNF as an effect modifier for gender effects on pain thresholds in healthy subjects. *Neurosci Lett* 2012; 11;514(1):62-6.

Stux G, Berman B, Pomeranz B. Basics of acupuncture. 5<sup>th</sup> Edition. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2003.

Taves S, Berta T, Chen G, Ji RR. Microglia and spinal cord synaptic plasticity in persistent pain. *Neural Plasti.* 2013;2013:753656.

Tian WN, Braunstein LD, Apse K, Pang J, Rose M, Tian X, Stanton RC. Importance of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in cell death. *Am J Physiol* 1999; 276: C1121-1131.

Tobinick EL. Targeted etanercept for discogenic neck pain: uncontrolled, open-label results in two adults. *Clin Ther* 2003;25(4):1211-8.

Tobinick E, Davoodifar S. Efficacy of etanercept delivered by perispinal administration for chronic back and/or neck disc-related pain: A study of clinical observations in 143 patients. *Curr Med Res Opin* 2004;20(7):1075-1085.

- Tokumine J, Kakinohana O, Cizkova D, Smith DW, Marsala M. Changes in spinal GDNF, BDNF, and NT-3 expression after transient spinal cord ischemia in the rat. *J Neurosci Res* 2003; 74:552–561.
- Turgut N, Altun BU. Cortical disinhibition in diabetic patients with neuropathic pain. *Acta Neurol Scand* 2009;120(6):383-8.
- Tsuda M, Shigemoto-Mogami Y, Koizumi S, Mizokoshi A, Kohsaka S, Salter MW, Inoue K. P2X4 receptors induced in spinal microglia gate tactile allodynia after nerve injury. *Nature* 2003;424(6950): 778–783.
- Uçeyler N, Valenza R, Stock M, Schedel R, Sprötte G, & Sommer C. Reduced levels of antiinflammatory cytokines in patients with chronic widespread pain. *Arthritis & Rheumatism* 2006; 54: 2656-2664.
- Uçeyler N, Schäfers M, Sommer C. Mode of action of cytokines on nociceptive neurons. *Exp Brain Res* 2009; 196(1):67-78.
- Valério DA, Georgetti SR, Magro DA, Casagrande R, Cunha TM, Vicentini FT, Vieira SM, Fonseca MJ, Ferreira SH, Cunha FQ, Verri WA Jr. Quercetin reduces inflammatory pain: inhibition of oxidative stress and cytokine production. *J Nat Prod* 2009; 72(11):1975-9.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39:44-84.
- Veldhuis JD, Anderson SM, Kok P, Iranmanesh A, Frystyk J, Ørskov H, Keenan DM. Estradiol supplementation modulates growth hormone (GH) secretory-burst waveform and recombinant human insulin-like growth factor-I-enforced suppression of endogenously driven GH release in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(3): 1312-8.
- Verhaak PF, Kerssens JJ, Dekker J, Sorbi MJ, Bensing JM. Prevalence of chronic benign pain disorder among adults: A review of the literature. *Pain* 1998; 77(3):231–9.
- Victora CG, Huttly SH, Fuchs SC, Olinto MTA. The role of conceptual frameworks in epidemiological analysis: a hierarchical approach. *Int J Epidemiol* 1997;26:224–227.
- Viisanen H, Pertovaara A. Roles of the rostroventromedial medulla and the spinal 5-HT1A receptor in descending antinociception induced by motor cortex stimulation in the neuropathic rat. *Neurosci Lett* 2010;476:133–7.

Vilcek J, Lee TH. Tumor necrosis factor. New insights into the molecular mechanisms of its multiple actions. *J Biol Chem* 1991; 266: 7313- 7316.

Vollmer-Conna U1, Fazou C, Cameron B, Li H, Brennan C, Luck L, Davenport T, Wakefield D, Hickie I, Lloyd A. Production of pro-inflammatory cytokines correlates with the symptoms of acute sickness behaviour in humans. *Psychol Med* 2004;34(7):1289-97.

Vos PE, Lamers KJ, Hendriks JC, van Haaren M, Beems T, Zimmerman C, van Geel W, de Reus H, Biert J, Verbeek MM. Glial and neuronal proteins in serum predict outcome after severe traumatic brain injury. *Neurology* 2004;62(8):1303–1310

Wallace DJ, Linker-Israeli M, Hallegua D, Silverman S, Silver D, Weisman MH. Cytokines play an aetiopathogenetic role in fibromyalgia: A hypothesis and pilot study. *Rheumatology* (Oxford, England) 2001; 40: 743-749.

Wang H, Wang X, Scheich H. LTD and LTP induced by transcranial magnetic stimulation in auditory cortex. *Neuroreport* 1996; 7:521–525.

Watkins LR, Milligan ED, Maier SF. Spinal cord glia: new players in pain. *Pain* 2001;93(3):201–205.

Wei F, Guo W, Zou S, Ren K, Dubner R. Supraspinal glial-neuronal interactions contribute to descending pain facilitation. *J Neurosci* 2008;28:10482–10495.

White PF, Li S, Chiu JW. Electroanalgesia: its role in acute and chronic pain management. *Anesth Analg* 2001; 92:505–13.

Wildish, P. The book of chi. Boston: MA: Tuttle Publishing 2000.

Williams LM, Ricchetti G, Sarma U, Smallie T, Foxwell BM. Interleukin-10 suppression of myeloid cell activation – a continuing puzzle. *Immunology* 2004;113:281–292.

Witt CM, Pach D, Brinkhaus B, Wruck K, Tag B, Mank S, Willich SN. Safety of acupuncture: results of a prospective observational study with patients and introduction of a medical information and consent form. *Forsch Komplementmed* 2009;16:91–7.

Woo NH, Lu B. Regulation of cortical interneurons by neurotrophins: From development to cognitive disorders. *Neuroscientist* 2006;12:43–56.

Woolf CJ. Recent advances in the pathophysiology of acute pain. *Br J Anaesth* 1989;63:139-146.

Woolf CJ, Chong MS. Preemptive analgesia – treating postoperative pain by prevention the establishment of central sensitization. *Anesth Analg* 1993;77:362-379.

Woolf CJ, Allchorne A, Safieh-Garabedian B, Poole S. Cytokines, nerve growth factor and inflammatory hyperalgesia: the contribution of tumour necrosis factor  $\alpha$ . *Br J Pharmacol* 1997;121: 417–24.

Woolf CJ, Salter MW. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science* 2000; 288:1765-9.

Woolf CJ. Pain: Moving from symptom control toward mechanism specific pharmacologic management. *Ann. Intern. Med* 2004; 140, 441–451.

Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee. *Arthritis Rheum* 1990; 33(2):160–72.

Yarnitsky D. Conditioned pain modulation (the diffuse noxious inhibitory control-like effect): its relevance for acute and chronic pain states. *Curr Opin Anaesthesiol* 2010; 23(5):611-5.

Yowtak J, Lee KY, Kim HY, Wang J, Kim HK, Chung K, Chung JM. Reactive oxygen species contribute to neuropathic pain by reducing spinal GABA release. *Pain* 2011;152:844-52.

Yukimasa T, Yoshimura R, Tamagawa A, Uozumi T, Shinkai K, Ueda N, Tsuji S, Nakamura J. High-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation improves refractory depression by influencing catecholamine and brain-derived neurotrophic factors. *Pharmacopsychiatry* 2006; 39(2):52-9.

Zanardini R, Gazzoli A, Ventriglia M, Perez J, Bignotti S, Rossini PM, Gennarelli M, Bocchio-Chiavetto L. Effect of repetitive transcranial magnetic stimulation on serum brain derived neurotrophic factor in drug resistant depressed patients. *J Affect Disord* 2006;91(1):83-6.

Zangen A, Roth Y, Voller B, Hallett M. Transcranial magnetic stimulation of deep brain regions: evidence for efficacy of the H-Coil. *Clin Neurophysiol* 2005; 116(4):775-9.

Zhang Y, Ramos BF, Jakschik B, Baganoff MP, Deppeler CL, Meyer DM, Widomski DL, Fretland DJ, Bolanowski MA. Interleukin 8 and mast cell-generated tumor necrosis factor-alpha in neutrophil recruitment. *Inflammation* 1995; 19: 119 - 132.

Zhang RX, Liu B, Wang L, Ren K, Qiao JT, Berman BM, Lao L. Spinal glial activation in a new rat model of bone cancer pain produced by prostate cancer cell inoculation of the tibia. *Pain* 2005;118:125–136.

Zhang JH, Huang YG. The immune system: a new look at pain. *Chin Med J (Engl)* 2006; 119:930-938.

Zhang JM, An J. Cytokines, Inflammation and Pain. *Int Anesthesiol Clin* 2007; 45(2): 27–37.

Zhao ZQ. Neural mechanism underlying acupuncture analgesia. *Prog Neurobiol* 2008;85(4):355-75.

Zhou, X.F., Rush, R.A.. Endogenous brain-derived neurotrophic factor is anterogradely transported in primary sensory neurons. *Neuroscience* 1996; 74, 945–953.

Zieglgänsberger W, Berthele A, Tölle TR. Understanding neuropathic pain. *CNS Spectrums* 2005;10:298-308.

---

**IX. ANEXOS**

## IX.1– Aprovação do Comitê de Ética



### HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

#### COMISSÃO CIENTÍFICA E COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

A Comissão Científica e o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (CEP/HCPA), que é reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB00000921) analisaram o projeto:

**Projeto:** 100196

**Data da Versão do Projeto:** 20/04/2011

**Data da Versão do TCLE:** 16/08/2011

**Pesquisadores:**

WOLNEI CAUMO

PEDRO SCHESTATSKY

IRACI LUCENA DA SILVA TORRES

IZABEL CRISTINA CUSTODIO DE SOUZA

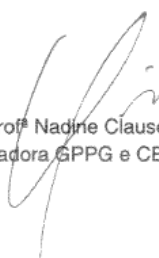
LETIZZIA DALLAGNOL

**Título:** Efeito da estimulação magnética transcraniana na reabilitação de pacientes com dor crônica miofascial

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos, bem como o respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as diretrizes e normas nacionais e internacionais de pesquisa clínica, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

- Os membros da Comissão Científica e do Comitê de Ética em Pesquisa não participaram do processo de avaliação dos projetos nos quais constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente ao CEP/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEP/HCPA.
- Somente poderá ser utilizado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido no qual conste o carimbo de aprovação do CEP/HCPA.

Porto Alegre, 22 de agosto de 2011.

  
Prof. Nadrie Clausell  
Coordenadora GPPG e CEP/HCPA

## IX.2 - Aprovação do Comitê de Ética



**HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE**  
**Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação**  
COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE

A Comissão Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB00000921) analisaram o projeto:

**Projeto:** 100276

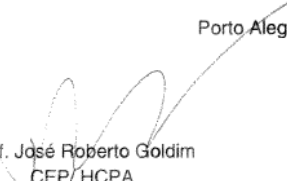
<b>Pesquisador Responsável:</b> IRACI LUCENA DA SILVA TORRES
---

**Título:** Busca de marcadores bioquímicos periféricos do efeito da estimulação magnética transcraniana na terapêutica da dor crônica musculoesquelética

<b>NOVA VERSÃO DE PROJETO</b>	<b>Data da Versão:</b> 04/12/2011
-------------------------------	--------------------------------------

Este documento referente ao projeto acima foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, 26 de dezembro de 2011.

  
Prof. José Roberto Goldim  
CEP/HCPA



### IX.3 – Parecer do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)



CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE  
COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA

#### PARECER N° 487/2011

**Registro CONEP 16335** (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)

**CAAE:** 0139.0.001.000-10

**Processo nº** 25000.008981/2011-25

**Projeto de Pesquisa:** “Efeito da estimulação magnética transcraniana na reabilitação de pacientes com dor crônica miofascial”.

**Pesquisador Responsável:** Wolnei Calmo

**Instituição:** Hospital de Clínicas de Porto Alegre (**CENTRO ÚNICO**)

**CEP de origem:** Hospital de Clínicas de Porto Alegre

**Área Temática Especial:** Novos procedimentos; Pesquisa com cooperação estrangeira

**Patrocinador:** Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos – FIPE

#### Sumário geral do protocolo

O sistema de saúde brasileiro, seja público ou privado, ainda está despreparado para atender à principal demanda do sistema, a dor crônica, que acarreta ausências frequentes ao trabalho, e um prejuízo anual de 550 milhões de dias perdidos ao ano, somente nos Estados Unidos da América. É considerada doença debilitante, de natureza multifatorial, com consequências nefastas à condição física, psicológica e comportamental. Dentre estas, a dor crônica musculoesquelética causa enorme sofrimento *per se*, e seus portadores frequentemente perdem a qualidade de vida e a capacidade funcional para atividades da vida diária, além de apresentarem maior incidência de sintomas depressivos, ansiosos e pensamentos catastróficos sobre a vida.

Os quadros de dores crônicas são associados a estresse crônico, que induz alterações duradouras no sistema neural envolvido na modulação nociceptiva. Dada a importância do estresse na vida moderna, bem como na psicopatologia, esforços têm sido feitos para identificar estruturas anatômicas, celulares e moleculares que desencadeiam e ou sustentam este processo. Estas estruturas apresentam vias de comunicação bidirecional entre cérebro, sistemas - endócrino e imune. Dentre as citocinas inflamatórias, relacionadas ao estresse, citam-se a interleucina (IL-1), TNF-alfa e IL-6. A IL-1 é particularmente associada à modulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), ativando-o frente situações estressoras.

O sistema nervoso autônomo simpático (SNS) governa o processo adaptativo às diferentes demandas do meio. Este sistema tem sido implicado na geração e perpetuação de vários processos patológicos, incluindo a dor crônica musculoesquelética. Dentre as vias conhecidas, que expressam a participação do SNS nos quadros algícos, constam o acoplamento das fibras C polimodais e C autonômicas que sensibilizam o sistema nociceptivo (ativam núcleos do tronco cerebral que regulam a função autonômica simpática) e pela vias noradrenérgicas descendentes inibidoras da dor. Outra via que envolve a ação do SNS na manutenção da dor é a do sistema imunológico, porque a ativação de receptores  $\alpha 1$

Cont. Parecer CONEP nº. 487/2011

induz a liberação de citocinas pró-inflamatórias, as quais ativam nociceptores. Além disto, a noradrenalina estimula a liberação de fatores de crescimento (NGF) de células musculares lisas de vasos sanguíneos, que também ativa e sensibiliza os nociceptores periféricos via receptores trkA. Adicionalmente, o SNS pode alterar a liberação da acetilcolina na placa motora, fator que mantém a contração muscular de modo sustentado e patológico nas dores miofasciais. Como as ações mediadas pelo SNS são difusas, seu efeito pode ser observado em múltiplos sistemas, incluindo o da termorregulação, por meio da sudorese e fluxo sanguíneo cutâneo. Fato que explica porque a atividade autonômica simpática pode ser mensurada pelo registro eletrofisiológico das fibras cutâneas.

A partir destas evidências, é razoável hipotetizar que o eixo imune-pineal, que integra a função dos sistemas adrenérgico, imune e da glândula pineal, represente uma das principais vias implicadas na fisiopatologia das dores crônicas musculoesqueléticas.

Dentre estas opções terapêuticas alternativas, são de interesse particular as técnicas de estimulação periférica e central. Apesar de haver discrepâncias entre os resultados de estudos clínicos que tenham utilizado a estimulação periférica como possibilidade terapêutica para dor miofascial, em ensaio clínico randomizado, em paralelo, cego, controlado com placebo *sham* se evidenciou que a utilização da estimulação intramuscular foi superior ao placebo e equivalente à infiltração com lidocaína no alívio da dor.

Dentre as possibilidades de interesse constam as técnicas neuromodulatórias para estimulação cerebral não invasiva, como a estimulação magnética transcraniana (TMS) e as técnicas de neuromodulação minimamente invasivas, como a eletro-estimulação periférica. Evidências recentes sugerem que a TMS pode reduzir a dor e modificar correlatos neurofisiológicos da experiência de dor. Uma abordagem usual para o tratamento da dor crônica com TMS é direcioná-la para o córtex motor.

Os objetivos do presente projeto são de verificar a relação entre a estimulação magnética transcraniana (TMS), dor, regulação do eixo imune-pineal, função autonômica e pensamento catastrófico. O objetivo específico é comparar o efeito de técnicas de TMS e periférica nos seguintes desfechos (1) níveis de dor no curso do tratamento; (2) qualidade de sono no curso do tratamento; (3) capacidade funcional para atividades da vida diária; (4) qualidade de vida e estado de saúde física e mental; (5) nível de pensamento catastrófico; (6) limiar de dor ao teste de pressão mecânica e ao estímulo termo-algésico; (7) níveis de marcadores da atividade neurotrófica (BDNF).

Os grupos serão randomizados segundo um programa de computador (Randomlog ou similar). Serão realizadas as seguintes intervenções: (1) Eletroneuroestimulação periférica (estimulação elétrica percutânea) – Grupo dispõe de estimulador periférico; (2) Estimulação central ativa; (3) *Método Sham* periférico; (4) *Método Sham* (tDCS) central.

Os instrumentos de avaliação a serem usados são: (1) para dor Escala Análogo-Visual; (2) saúde física e mental será avaliada pela versão reduzida do SF-12 c; (3) Escala de Depressão de Hamilton, que aborda sintomas neurovegetativos da depressão; (4) A qualidade de vida e o estado de saúde serão avaliados por meio do WHOCOHL, forma reduzida, adaptada para o português do Brasil; (5) O nível de pensamento catastrófico será avaliado por meio da escala de pensamentos catastróficos.

Para aferição de desfechos por parâmetros laboratoriais será usada dosagem do *brain neurotrophic fator*. Para aferição dos desfechos por parâmetros de limiar de dor serão usadas: (1) Limiar de dor ao estímulo térmico; (2) Nível de

Cont. Parecer CONEP nº. 487/2011

Tolerância ao Estímulo Térmico; (3) Limiar de Tolerância ao teste da Algometria de Pressão; (4) Teste de quantificação sensitiva.

#### Local de realização

Trata-se de um estudo nacional e de centro único. Está prevista a participação de 120 sujeitos de pesquisa, todos no centro em tela.

Haverá colaboração intelectual do Laboratório de Neuromodulação da Harvard Medical School, através do Prof. Dr. Felipe Fregni.

#### Apresentação do protocolo

Constam no protocolo: orçamento financeiro (página 08, numeração do CEP); cronograma (página 020, numeração do CEP); Termo de aditivo de convênio entre a UFRGS e a Harvard Medical School (páginas 027-031, numeração do CEP).

O TCLE está presente nas páginas 07 e 25 (numeração do CEP).

#### Considerações sobre a análise das respostas ao Parecer CONEP Nº 219/2010, relativo ao projeto de pesquisa em questão:

1. Na Folha de Rosto não consta identificação do cargo de quem assina pela instituição. Solicita-se adequação.

**Resposta:** A Folha de Rosto foi devidamente assinada e encaminhada via CEP-HCPA.

**Análise: Pendência atendida.**

2. No cronograma consta que a coleta de dados iniciou-se em novembro de 2010, e que a análise ética deveria ter ocorrido em junho de 2010. No entanto, o protocolo ainda está sob análise do Sistema CEP/CONEP. Solicita-se readequação do cronograma.

**Resposta:** O cronograma foi adaptado para período após possível aprovação do projeto.

**Análise: Pendência atendida.**

3. Na Folha de Rosto é informado que haverá formação de banco de materiais biológicos, no entanto, não foi apresentado nenhum regulamento, tão pouco foi apresentada declaração de que será cumprida a Resolução CNS 347/05. Solicita-se adequação.

**Resposta:** Não haverá formação de banco de materiais biológicos. Este item foi modificado na folha de rosto e explicado no TCLE.

**Análise: Pendência atendida.**

4. Quanto à metodologia:

- a. Não consta declaração de infra-estrutura e detalhamento das instalações dos serviços e centros a serem utilizados, solicita-se adequação conforme item VI.2.h e VI.2.i da Resolução CNS 196/96;

**Resposta:** A infra-estrutura a ser utilizada são diferentes áreas do HCPA, sendo que para aprovação no CEP local é necessário que haja aprovação das chefias das áreas, que é realizado on-line, ao submeter o projeto. Reforça-se que o projeto só é aprovado pelo CEP após concordância das devidas chefias de áreas de apoio. Foi acrescentado no projeto maior detalhamento das áreas conforme segue:

Logística: Os estudos serão realizados no Serviço de Dor e Medicina Paliativa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), no Serviço de Neurologia do HCPA e no Serviço de Psiquiatria do HCPA.

Serão utilizadas as áreas de pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre como:

Cont. Parecer CONEP nº. 487/2011

- (1) Centro de Pesquisa Experimental (CPE): Unidade de Análise Molecular e Proteínas (UAMP), Localizado no 1º andar, (Chefe do Serviço: Profª Patricia Ashton Prolla - fone: 51 3359-7473 [pprolla@hcpa.ufrgs.br](mailto:pprolla@hcpa.ufrgs.br) ). O Centro de Pesquisa Experimental promove a integração entre os diferentes grupos de pesquisadores e a racionalização de recursos de pesquisa. Disponibiliza infraestrutura completa para as atividades em seis laboratórios multiusuários e área física para o desenvolvimento de projetos específicos em vinte laboratórios temáticos;
- (2) Centro de Pesquisa Clínica do HCPA(CPC), onde serão utilizados os consultórios e realizadas as coletas de sangue. O CPC disponibiliza infra estrutura para pesquisa clínica em seres humanos, respeitando as normas de CGP, (Hospital de Clínicas de Porto Alegre, R.Ramiro Barcelos, 2.350, Bairro Santa Cecília, Porto Alegre / RS, CEP 90035-903, PABX (51) 3359.8000, FAX (51) 3359.8001);
- (3) Centro de Atenção Psicossocial (CAPS), prédio anexo ao HCPA, sob responsabilidade do Serviço de Psiquiatria do HCPA, onde se realizarão as sessões de rTMS, em sala apropriada para tal.
- (4) Serviço de Emergência será utilizado em caso de reações que seja necessária observação e/ou internação e a Unidade de Tratamento Intensivo do HCPA que dará o suporte necessário em caso de eventos adversos graves. Este atendimento já é rotina nos locais de circulação de pacientes no hospital.

**Análise: Pendência atendida.**

- b. Na página 17 (numeração do CEP), consta que serão realizados exercícios fisioterapêuticos, no entanto não consta na descrição do grupo de trabalho um profissional com esta habilitação, solicita-se adequação deste item uma vez que não há profissional habilitado para tal prescrição;

**Resposta:** Será incluído um fisioterapeuta na equipe conforme solicitado.

**Análise: Pendência atendida.**

5. Quanto ao TCLE:

- a. Solicita-se esclarecer no TCLE, em linguagem clara e acessível, o termo "algum nível" utilizado para referenciar aos possíveis eventos de tontura e enjôo. É necessário especificar melhor o que tal termo significa, detalhando os possíveis sintomas para os sujeitos do estudo.

**Resposta:** O segundo parágrafo do item 3 foi alterado para:

**3. POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS**

Durante o tratamento com EMTr, o desconforto relatado por pacientes de outros estudos foi o som de um "click" durante a aplicação. Para evitar este desconforto, o Sr (a) receberá um protetor de ouvidos para usar durante a aplicação. Você também poderá apresentar leve dor de cabeça, sono, enjôo, tontura leve ou dor na nuca após o procedimento.

**Análise: Pendência atendida.**

- b. Solicita-se incluir informações de como e por quanto tempo as amostras serão armazenadas ou se serão descartadas após o estudo (Resolução CNS 347/05).

**Resposta:** Foi incluído o item 11:

Cont. Parecer CONEP nº. 487/2011

#### 11. ARMAZENAMENTO DE MATERIAIS BIOLÓGICOS

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

Caso o senhor (a) tenha interesse em saber informação como, por exemplo, resultados de exames para acompanhamento clínico estes lhes serão fornecidos.

**Análise:** Pendência atendida.

- c. Solicita-se incluir uma breve explicação da função do CEP e suas formas de contato.

**Resposta:** Foi alterado o item 8 para melhor compreensão do sujeito de pesquisa para:

#### 8. CONTATO DOS PESQUISADORES

Caso o senhor (a) tenha alguma dúvida durante a pesquisa poderá entrar em contato com os pesquisadores através dos telefones: Profº Wolnei 9981-3977 (2º andar do HCPA Laboratório de Cronobiologia - sala 2201E – telefone 3359-8083) e Dr. Cláudio (51) 99869651ou ainda com o Comitê de Ética do Hospital de Clínicas este é um órgão composto por profissionais de diferentes áreas de conhecimento e por representantes da comunidade, são responsáveis pela avaliação ética e metodológica dos projetos de pesquisa que envolvam seres humanos - telefone 3359-8304.

**Análise:** Pendência atendida.

- d. Solicita-se informar que o documento será elaborado em duas vias, sendo uma retida pelo sujeito de pesquisa e uma arquivada pelo pesquisador, sendo as duas vias assinadas (Resolução CNS 196/96 item IV.2 “d”).

**Resposta:** Acrescentado o item 12:

#### 12. CONSENTIMENTO

Este termo de Consentimento Livre e Esclarecido será fornecido uma via para o Sr(a) e uma via será arquivada pelo pesquisador, sendo as duas vias assinadas por ambos.

**Análise:** Pendência atendida.

- e. O TCLE deve ser redigido em forma de convite, solicita-se adequação à Resolução CNS 196/96;

**Resposta:** A introdução foi alterada conforme segue:

Você está sendo convidado (a) a participar do estudo: “Efeito da estimulação magnética transcraniana na reabilitação de pacientes com dor crônica miofascial”. Este estudo pretende avaliar o alívio de sua dor, comparando dois tratamentos. Um deles é realizado através de uma estimulação aplicada no crânio e o outro através da estimulação feita por agulhas de acupuntura.

**Análise:** Pendência atendida.

- f. Não consta no TCLE a garantia de esclarecimentos em qualquer momento da pesquisa, solicita-se adequação ao item IV.1.e da Resolução CNS 196/96;

**Resposta:** Incluído no item 8 conforme segue:

#### 8. CONTATO DOS PESQUISADORES

Caso o senhor (a) tenha alguma dúvida durante a pesquisa poderá entrar em contato com os pesquisadores através dos telefones: Profº Wolnei 9981-3977 (2º andar do HCPA Laboratório de Cronobiologia - sala 2201E – telefone 3359-8083) e Dr. Cláudio (51) 99869651ou

Cont. Parecer CONEP nº. 487/2011

ainda com o Comitê de Ética do Hospital de Clínicas este é um órgão composto por profissionais de diferentes áreas de conhecimento e por representantes da comunidade, são responsáveis pela avaliação ética e metodológica dos projetos de pesquisa que envolvam seres humanos - telefone 3359-8304.

**Análise: Pendência atendida.**

- g. Não estão descritas no TCLE as formas de ressarcimento das despesas decorrentes da participação na pesquisa, solicita-se adequação conforme item IV.1.h da Resolução CNS 196/96.

**Resposta:** Foi incluído o item 9 conforme segue:

**9. RESSARCIMENTO DE DESPESAS**

O senhor(a) não terá despesas com a sua participação na pesquisa

**Análise:** Ainda que a afirmação acima tenha sido incluída no protocolo, poderão surgir despesas correntes ou imprevistas durante a participação do sujeito no estudo, em particular e como exemplo, despesas com alimentação, transporte e outras necessidades básicas que tenham que ser atendidas por parte dos sujeitos e que envolvam sua participação no estudo. A garantia de ressarcimento destas despesas é imperiosa e deve ser acrescentada ao TCLE. **Pendência não atendida.**

- h. De acordo com o preconizado pelos itens III.3."q", IV.1."d" e V.6 da Resolução CNS 196/96, os sujeitos de pesquisa têm o direito de assistência integral e indenização e exige-se que no TCLE constem as formas de acompanhamento e assistência, assim como seus responsáveis. Solicita-se adequação.

**Resposta:** Foi acrescentado o item 10 conforme segue:

**10. ASSISTÊNCIA INTEGRAL-** Será garantido ao Sr(a) assistência integral e indenização durante sua participação na pesquisa. Em caso de dúvidas ou necessidade o Sr (a) poderá telefonar para os responsáveis pela pesquisa. Os números e nomes se encontram no item 8. contato com os pesquisadores.

**Análise:** Pendência atendida.

**Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto, devendo o CEP verificar o cumprimento das questões acima, antes do início do estudo.**

Situação: **Protocolo aprovado com recomendação.**

Brasília, 29 de julho de 2011.

  
**Gyselle Saddi Tannous**  
 Coordenadora da CONEP/CNS/MS

## **IX.4–Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

### **NOME DO ESTUDO: Efeito da estimulação magnética transcraniana na reabilitação de pacientes com dor crônica miofascial**

Número do protocolo: \_\_\_\_\_

Instituição: Hospital de Clínicas de Porto Alegre- HCPA

Pesquisador Responsável: Dr. Wolnei Caumo – 9981-3977

Comitê de Ética e Pesquisa do HCPA: (51) 3359-8304

O Sr(a) está sendo convidado(a) a participar do estudo: **“Efeito da estimulação magnética transcraniana na reabilitação de pacientes com dor crônica miofascial”**. Este estudo pretende avaliar o alívio de sua dor, comparando dois tratamentos. Um é realizado através de uma estimulação aplicada no crânio e o outro através da estimulação feita por agulhas de acupuntura.

### **1. OBJETIVOS DO ESTUDO**

Os objetivos do presente estudo é comparar o efeito de um tipo de estímulo realizado na cabeça, que se chama estimulação magnética transcraniana (EMTr), comparado, com efeito da estimulação feita por agulhas de acupuntura colocadas nos pontos de dor. O estímulo feito nas agulhas será por meio de um aparelho que se chama eletroacupuntura. O efeito destes tratamentos será avaliado por exames de sangue, funções dos nervos avaliados por estímulos leves que produzem as sensações de calor e de pressão. Também a função do sistema nervoso será avaliada pela quantidade de suor na mão. Haverá perguntas sobre os seus sentimentos, nível de dor e os pensamentos que lhe aparecem na cabeça sobre a dor que vem sentindo.

### **2. EXPLICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS**

Para participar da pesquisa, será necessário que o Sr(a) responda várias perguntas antes do exame e durante o exame. Também existem perguntas que deverão ser respondidas em casa durante o período de tratamento.

Será necessário coletar duas amostra de sangue que avaliam a produção de hormônios e marcadores da função dos mecanismos de defesa do organismo para evitar que o Sr(a) sinta dor. O sangue será coletado sempre às 10hs. O volume de sangue será de 10 ml a cada coleta,

o equivalente a duas colheres de sopa. As amostras de sangue serão coletadas antes de iniciar o tratamento e ao final do mesmo.

### 3. TRATAMENTOS

Neste estudo o Sr(a) poderá ser sorteado para um grupo para receber um dos tratamentos para aliviar sua dor. conforme segue:

a) **Eletroacupuntura:** neste tratamento serão colocadas pequenas agulhas de acupuntura na área em que o Sr(a) sente dor ou próximas a ela e após é realizado um estímulo que produz vibração nas agulhas. Este tratamento levará o tempo de 20 minutos.

b) **Estimulação Magnética Transcraniana:**

A estimulação magnética transcraniana, abreviada como EMTr, é um método já utilizado em todo o Brasil no tratamento da dor crônica e tem o seu uso aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Este procedimento é realizado encostando-se na sua cabeça um aparelho em formato de oito, revestido de plástico, que é chamado de bobina magnética. Este aparelho produz “ondas magnéticas” (como um ímã), sem choques, cortes ou cirurgias. Estas “ondas magnéticas” causam uma vibração e ativam o cérebro, provocando alívio da dor. Durante o procedimento o Sr(a) não sentirá nenhuma dor. Quando o Sr(a) ouvir o som de um “click”, significa que uma corrente elétrica está passando pela bobina e gerando ondas magnéticas. O procedimento terá duração de 20 minutos. O tipo de estimulação magnética será de baixa frequência, de 10 Hertz. Para você entender melhor, Hertz é uma medida de frequência de ondas eletromagnéticas. São as mesmas ondas que fazem funcionar o seu aparelho celular, rádio, telefones e Internet sem fio.

Recentes estudos demonstraram que a EMTr aplicada em pacientes com dor crônica tem bons resultados, diminuindo a intensidade da dor. O procedimento será realizado em sala apropriada e tranqüila, onde o Sr(a) permanecerá acordado e sentado em uma poltrona confortável. O procedimento será realizado por um médico da equipe e o Sr(a) também será acompanhado por uma enfermeira.

c) **Grupo Placebo:** este grupo receberá um tratamento chamado placebo em que os equipamentos não emitirão nenhum estímulo.

O Sr(a) poderá ser sorteado para um dos 4 grupos:

Grupo 1: receberá Estimulação Magnética Transcraniana + Acupuntura

Grupo 2: receberá Placebo de acupuntura e placebo de EMTr



Grupo 3. Receberá EMTr e placebo de acupuntura

Grupo 4. Receberá Acupuntura e placebo de EMTr

Nem o Sr(a) nem a Enfermeira que lhe aplicará os questionários saberão qual tratamento o Sr(a) recebeu.

#### **4. POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS**

A coleta de sangue poderá causar uma mancha escura no local da picada da agulha em seu braço ou um dolorimento local, desaparecendo após alguns dias.

Durante o tratamento com acupuntura o Sr(a) poderá sentir leve dor ao introduzir a agulha.

Durante o tratamento com EMTr, o desconforto relatado por pacientes de outros estudos foi o som de um “click” durante a aplicação. Para evitar este desconforto, o Sr(a) receberá um protetor de ouvidos para usar durante a aplicação. Você também poderá apresentar leve dor de cabeça, sono, enjôo, tontura leve ou dor na nuca após o procedimento.

No caso de sentir estes sintomas, avise a enfermeira que está lhe acompanhando. No nosso estudo, utilizaremos a estimulação magnética de baixa frequência (10hz). Não há relatos de outras alterações no uso desta frequência, além das descritas acima. O risco de convulsões é muito baixo e raramente pode vir a ocorrer na frequência utilizada. É mais provável em altas frequências, acima de 20HZ, e o risco de ocorrer convulsões nesta frequência é um caso a cada mil pacientes.

#### **5. POSSÍVEIS BENEFÍCIOS DESTES ESTUDOS**

O tratamento que será avaliado visa diminuir a dor e melhorar a qualidade de vida. Sendo essa hipótese verdadeira, a EMTr poderá ser uma alternativa para o tratamento desse tipo de dor crônica miofascial. Com os resultados deste estudo poderemos obter informações importantes, sobre o quanto estes tratamentos poderão beneficiar outros pacientes com quadros de dor semelhantes ao seu.

#### **6. EXCLUSÃO DO ESTUDO**

O médico do estudo ou autoridades regulatórias têm o direito de interromper sua participação no estudo em qualquer ocasião, com ou sem seu consentimento, pelos motivos listados a seguir: se o Sr(a) tiver uma reação grave ao procedimento, se o Sr(a) não aceitar realizar mais algum procedimento do estudo, ou se as autoridades regulatórias cancelarem o estudo.

## **7. DIREITO DE DESISTÊNCIA**

O Sr(a) pode desistir de participar a qualquer momento da pesquisa. Sua decisão de não participar ou de deixar a pesquisa depois de iniciada não prejudicará o seu tratamento.

## **8. PRIVACIDADE**

O Sr(a) não será identificado. Todas as informações obtidas no estudo serão mantidas em sigilo e o seu anonimato será preservado. Os resultados deste estudo poderão ser publicados com finalidade científica de forma anônima.

## **9. CONTATO DOS PESQUISADORES**

Caso o Sr(a) tenha alguma dúvida poderá entrar em contato com os pesquisadores através dos telefones: Profº Dr. Wolnei Caumo 9981-3977 (2º andar do HCPA Laboratório de Cronobiologia - sala 2201E – telefone 3359-8083) e Dr. Cláudio Luiz Mendes Couto (51) 99869651 ou ainda com o Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas. Este é um órgão composto por profissionais de diferentes áreas de conhecimento e por representantes da comunidade, são responsáveis pela avaliação ética e metodológica dos projetos de pesquisa que envolvam seres humanos - telefone 3359-8304.

## **10. RESSARCIMENTO DE DESPESAS**

O Sr(a) não terá despesas com a sua participação na pesquisa. Caso surja despesas adicionais não previstas durante sua participação no estudo com alimentação, transporte e outras necessidades básicas não haverá nenhum custo de sua parte.

**11. ASSISTÊNCIA INTEGRAL-** Será garantido ao Sr(a) acompanhamento, tratamento ou orientação, assistência integral e indenização durante sua participação na pesquisa. Em caso de dúvidas ou necessidade o Sr(a) poderá telefonar para os responsáveis pela pesquisa. Os números e nomes se encontram no item 8. contato com os pesquisadores.

## **12. ARMAZENAMENTO DE MATERIAIS BIOLÓGICOS**

O sangue coletado será avaliado no Laboratório de Pesquisa Experimental do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Este material não será armazenado nem utilizado em pesquisas futuras. Caso o Sr(a) tenha interesse em saber informação como, por exemplo, resultados de exames para acompanhamento clínico estes lhes serão fornecidos.

### 13. CONSENTIMENTO

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

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

Telefones paracontato: \_\_\_\_\_

Nome do paciente: \_\_\_\_\_

Assinatura do paciente: \_\_\_\_\_

Local e Data: \_\_\_\_\_

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

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

Local eData: \_\_\_\_\_

## IX.5 - Divulgações

Vieira, J; Volz, M; Medeiros, LF.; Tarrago, MGL; Deitos, A.; Brietzke, A.; Rozisky, JR.; Torres, ILS; Vidor, LP.; Fregni F; Knijnik, LM.; Caumo, W. CATASTROFISMO NA DOR CRÔNICA MUSCULOESQUELÉTICA E SUA RELAÇÃO COM A EXCITABILIDADE CORTICAL. In: 33ª SEMANA CIENTÍFICA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE, 2013, Porto Alegre-RS. Anais da 33ª Semana Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2013. v. 33. p. 99-99.

Vidor, LP; Torres, ILS; Medeiros, LF.; Sarria, JAD; Dall-Agnol L; Deitos, A.; Brietzke, A. ; Laste, G.; Rozisky, JR.; Quevedo, A.; Fregni, F.; Caumo, W. ASSOCIAÇÃO DA ANSIEDADE COM INIBIÇÃO INTRACORTICAL E MODULAÇÃO DESCENDENTE DE DOR NA SÍNDROME DE DOR CRÔNICA MIOFASCIAL. In: V Simpósio Internacional em Neuromodulação, 2013, São Paulo/SP. Anais do V Simpósio Internacional em Neuromodulação, 2013. v. 1. p. 19-20.

Dall-Agnol, L; Vidor, LP; Rozisky JR; Medeiros, LF; Deitos, A; Brietzke, AP.; Vieira, J.; Razzolin, B.R.; Cioato, SG; Felipe F; Torres, I.L.S.; Caumo, W. Limiar da dor, tolerância máxima à dor e catastrofização na dor crônica miofascial. In: IV Simpósio Internacional em Neuromodulação, 2012, São Paulo. Anais do IV Simpósio Internacional em Neuromodulação. São Paulo: Instituto Scala, 2012. p. 18-19.

Deitos, A; Medeiros, LF; Tarragô, MG; Vidor, LP; Dall-Agnol, L; Brietzke, A.P. ; Rozisky, J.R.; Souza, A; Cioato, SG; Fregni, F; Torres, I.L.S.; Caumo, W. BDNF e excitabilidade cortical motora na dor músculo-esquelética crônica. In: IV Simpósio Internacional em Neuromodulação, 2012, São Paulo. Anais do IV Simpósio Internacional em Neuromodulação. São Paulo: Instituto Scala, 2012. p. 15-15.

Rozisky, JR; Dall-Agnol, L; Vidor, LP; Medeiros, LF; Deitos, A; Brietzke, A.P.; Razzolin, B. R.; Oliveira, C; Souza, I.C.C.; Fregni, F; Torres, I.L.S.; Caumo, W. Teste de tolerância à dor induzida pelo QST induz alterações em parâmetros de excitabilidade cortical que amplificam a percepção dolorosa. In: IV Simpósio Internacional em Neuromodulação, 2012, São Paulo. Anais do IV Simpósio Internacional em Neuromodulação. São Paulo: Instituto Scala, 2012. p. 16-16.

## **IX.6 - Produções**

### **a. Aatoria**

Neurobiological effects of transcranial direct current stimulation: a review. Medeiros LF, de Souza IC, Vidor LP, de Souza A, Deitos A, Volz MS, Fregni F, Caumo W, Torres IL. *Front Psychiatry*. 2012 Dec 28;3:110. doi: 10.3389/fpsy.2012.00110.

Fentanyl administration in infant rats produces long-term behavioral responses. Medeiros LF, de Souza AC, de Souza A, Cioato SG, Scarabelot VL, Caumo W, Fernandes LC, Torres IL. *Int J Dev Neurosci*. 2012 Feb;30(1):25-30. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2011.10.004.

### **b. Co-Autoria**

Obesity and chronic stress are able to desynchronize the temporal pattern of serum levels of leptin and triglycerides. de Oliveira C, Scarabelot VL, de Souza A, de Oliveira CM, Medeiros LF, de Macedo IC, Marques Filho PR, Cioato SG, Caumo W, Torres IL. *Peptides*. 2014 Jan;51:46-53. doi: 10.1016/j.peptides.2013.10.024.

Rozisky, J.R.; Laste, G.; Medeiros, LF.; Souza, VS ; Adachi, L; Macedo, I.C.; Caumo, W.; Torres, ILS. Morphine Treatment in Neonate Rats Increases Exploratory Activities: Reversal by Antagonist D2 Receptor. *British Journal of Medicine and Medical Research*, v. 4, p. 351-367, 2014.

Motor cortex-induced plasticity by noninvasive brain stimulation: a comparison between transcranial direct current stimulation and transcranial magnetic stimulation. Simis M, Adeyemo BO, Medeiros LF, Miraval F, Gagliardi RJ, Fregni F. *Neuroreport*. 2013 Dec 4;24(17):973-5. doi: 10.1097/WNR.000000000000021.

Melatonin treatment entrains the rest-activity circadian rhythm in rats with chronic inflammation. Laste G, Vidor L, de Macedo IC, Rozisky JR, Medeiros L, de Souza A, Meurer L, de Souza IC, Torres IL, Caumo W. *Chronobiol Int*. 2013 Nov;30(9):1077-88. doi: 10.3109/07420528.2013.800088.

The relationship between cortical excitability and pain catastrophizing in myofascial pain.

Volz MS, Medeiros LF, Tarragô Mda G, Vidor LP, Dall'Agnol L, Deitos A, Brietzke A, Rozisky JR, Rispolli B, Torres IL, Fregni F, Caumo W. *J Pain*. 2013 Oct;14(10):1140-7. doi: 10.1016/j.jpain.2013.04.013.

Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. Macedo IC, Medeiros LF, Oliveira C, Oliveira CM, Rozisky JR, Scarabelot VL, Souza A, Silva FR, Santos VS, Cioato SG, Caumo W, Torres IL. *Peptides*. 2012 Nov;38(1):189-96. doi: 10.1016/j.peptides.2012.08.007.

Reversal of chronic stress-induced pain by transcranial direct current stimulation (tDCS) in an animal model. Spezia Adachi LN, Caumo W, Laste G, Fernandes Medeiros L, Ripoll Rozisky J, de Souza A, Fregni F, Torres IL. *Brain Res*. 2012 Dec 13;1489:17-26. doi: 10.1016/j.brainres.2012.10.009.

## IX.7 – Comprovante de Submissão

### a. Journal of Physiology

JPHYSIOL/2014/274795 - The Journal of Physiology - Manuscript Submission



Entrada x



**journals@physoc.org**

23:18 (Há 39 minutos) ★



para mim, Jairo, Alicia, Aline, Gabriela, Cristina, Andressa, Vanessa, Ivan, Rafael, Felipe, Alexandre, Alex ▾



inglês ▾



português ▾

[Traduzir mensagem](#)

[Desativar para: inglês](#) x

JPHYSIOL/2014/274795

"Effect of deep intramuscular stimulation and transcranial magnetic stimulation on neurophysiological biomarkers in chronic myofascial pain syndrome"

by Liciane F Medeiros, Jairo Dussan-Sarria, Alicia Deitos, Aline Brietzke, Gabriela Laste, Cristina C Carraro, Andressa Souza, Vanessa L Scarabelot, Ivan C Gluz, Rafael Verzelino, Felipe Fregni, Alexandre L Castro, Alex Sander Araujo, Adriane Bello-Klein, Wolnei Caumo, and Iraci LS Torres

This is an automatic message acknowledging your online submission to The Journal of Physiology.

Please carefully check the title of the manuscript and the author list referenced above.

If this information is correct, there is no need for you to take any action. All future communication between The Journal of Physiology and the authors will be made via the Corresponding Author.

If you DO NOT recognise this submission, should not be listed as an author of this paper, have not approved the final submitted version, or have a concern regarding the author list, please contact The Journal of Physiology immediately, quoting the manuscript reference number above.

The Journal of Physiology

## b. Pain Practice

### Preview (PPR-2014-0077)

**From:** susan.hartrick@beaumont.edu

**To:** iracitorres@gmail.com

**CC:**

**Subject:** Pain Practice - Manuscript ID PPR-2014-0077

**Body:** 21-Mar-2014

Dear Prof. Torres:

Your manuscript entitled "Motor cortex excitability and BDNF as markers for chronic musculoskeletal pain: an exploratory study" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Pain Practice.

Your manuscript ID is PPR-2014-0077.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to Manuscript Central at <http://mc.manuscriptcentral.com/ppr> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <http://mc.manuscriptcentral.com/ppr>.

Thank you for submitting your manuscript to the Pain Practice.

Sincerely,  
Pain Practice Editorial Office

**Date Sent:** 21-Mar-2014