



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS GRADUAÇÃO E PESQUISA
DOUTORADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

CAMILLA AGUIAR DALAN GUILHERME

**EFEITO DE ESTERÓIDES GONADAIS NA FIBROMIALGIA EXPERIMENTAL
(ENSAIO PRÉ-CLÍNICO) E TERAPIA HORMONAL PARA MULHERES COM
FIBROMIALGIA (REVISÃO SISTEMÁTICA)**

**ARACAJU
2022**

CAMILLA AGUIAR DALAN GUILHERME

**EFEITO DE ESTERÓIDES GONADAIS NA FIBROMIALGIA EXPERIMENTAL
(ENSAIO PRÉ-CLÍNICO) E TERAPIA HORMONAL PARA MULHERES COM
FIBROMIALGIA (REVISÃO SISTEMÁTICA)**

Tese apresentada à banca de defesa do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador (a): Profa. Dra. Josimari Melo de Santana.

Co-orientadora (a): Profa. Dra. Patrícia Rodrigues Marques de Souza.

**ARACAJU
2022**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA SAÚDE–BISAU
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

G956p Guilherme, Camilla Aguiar Dalan
 Efeito de esteróides gonadais na fibromialgia experimental
 (ensaio pré clínico) e terapia hormonal para mulheres com
 fibromialgia (revisão sistemática) / Camilla Aguiar Dalan
 Guilherme ; orientadora Josimari Melo de Santana ; coorientadora
 Patrícia Rodrigues Marques de Souza. – Aracaju, 2022.
 69 f.

 Tese (doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade
 Federal de Sergipe, 2022.

 1. Ciências da saúde. 2. Fibromialgia. 3. Reposição hormonal.
 4. Modelo animal. 5. Hiperalgisia. 6. Mulheres. I. Santana,
 Josimari Melo de, orient. II. Souza, Patrícia Rodrigues Marques
 de, coorient. III. Título.

CDU 616.74-009.7

CAMILLA AGUIAR DALAN GUILHERME

**EFEITO DE ESTERÓIDES GONADAIS NA FIBROMIALGIA EXPERIMENTAL
(ENSAIO PRÉ-CLÍNICO) E TERAPIA HORMONAL PARA MULHERES COM
FIBROMIALGIA (REVISÃO SISTEMÁTICA)**

Tese apresentada à banca de defesa do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde.

Aprovada em: ____/____/____

Profa. Dra. Josimari Melo de Santana

Profa. Dra. Evelyn de Oliveira

Prof. Dr. Thiago Abner

Profa. Dra. Larissa Resende

Profa. Dra. Larissa Resende

PARECER

AGRADECIMENTOS

A parte de agradecimentos na versão final da tese/dissertação tem qual a importância?

O decorrer desde agradecimento não tem um perfil crescente de quem deveria ser mais agradecido ou menos agradecido, por que na verdade, o sentimento é só um! Pode ser potencializado com um “muito”, mas não deixa de ser o que é, um sentimento por receber algo de alguém. Os que aqui são representados estão certamente estão no meu coração e não precisam ser nomeados, classificados e nem titulados. São apenas seres que me ajudaram a chegar até aqui. E estes seres já receberam isso pessoalmente. Nada mais válido que “um obrigado” verdadeiro!

E este obrigada verdadeiro, com o mais puro sentimento de gratidão deve ser dita desde o início da caminhada do doutorado/mestrado. E assim fiz, desde jovem distribuo meu agradecimento aos que cederam seu tempo pra me ensinar o básico, desde o cotidiano do laboratório até as complexidades das disciplinas do doutorado. Também recebu meu obrigada as pessoas que me esclareceram situações embasadas no cotidiano do laboratório, aos pedidos de silêncio quando o barulho externo estressava e assustava as ratas em experimento comportamental, as pessoas que cederam suas ratas fêmeas jovens e seus machos mais velhos para que pudesse estimular a ciclagem das fêmeas. Estes já tiveram meu obrigada

As pessoas também perceberam meu sentimento de gratidão quando precisei abrir mão do tempo com elas, para debruçar nesta tese que daqui a pouco você vai ler. Essas pessoas são as que nos amam independente, e mesmo sem poder me dedicar mais um tempinho continuaram me amando, apoiando e dizendo que “meu cheiro não tava bom”. Junto destes, também já agradei e agradeço diariamente, as pessoas que mais nos amam e os quais mais amamos, a família, minha base. Na família que escolhi também agradeço diariamente a presença, o amor e dedicação em momentos tão delicados. Aos grandes amigos, obrigada por estarem disponíveis quando nem eu mesmo sabia que precisaria de vocês.

Mais uma leva de obrigadas foi dita para as pessoas que trilharam este caminho junto que são as pessoas representados pela contração e de forma mais carinhosa possível Profa, divididas nas pessoas com a função de orientadora, co-orientadora, e ainda o co-co-orientador. Pessoas com quem aprendi procedimentos importantíssimos para a execução deste projeto. Dentro desta leva de agradecimento não podem deixar de passar registrados os membros da banca de qualificação e da defesa, com grandes contribuições. Os docentes tão especiais do programa de pós graduação em ciências da saúde (PPGCS), assim como meus amigos de “classe”, como foram e são importantes até hoje. Agradeço também a oportunidade de ser

bolsista CAPES, diante de tantas incertezas e desvalorizações é preciso honrar o que foi deposita em minha formação.

Continuando no lote de “obrigadas”, os integrantes do grupo de pesquisa que permitiu que essa tese chegasse até aqui! Chefiados pela ori, cada um deste grupo já teve meu obrigada em situações diversas, desde o simples fato de dividir carona logo cedinho todos os dias de experimento; até emprestar o carro para buscar os animais dentro da universidade; ou dividir comida com você porque simplesmente eu havia esquecido de almoçar; até comparar com dados pregressos e pensamentos para enriquecer a vivência. Estes já tiveram seu agradecimento no momento oportuno, mas os demais de grupo também têm o meu agradecimento, afinal foram anos de que pudemos conviver juntos.

Nos tempos finais, mais não na linha final dos agradecimentos, meus dias e angustias eram divididas com pessoas que caíram do céu. O grupinho ficou formado por quatro pessoas que tinham muito em comum. Tinha a que parece comigo fisicamente, uma honra porque ela é linda e mega inteligente; a que tem a mesma dedicação, entusiasmo e respeito pela pesquisa; e a que é agoniada para terminar seus experimentos e que tenta de tudo para que dê certo. Estas três tinham meu obrigada junto com meu bom dia pelos simples fatos de ajudarem com coisas simples e até agora estarem ao meu lado.

Pessoas que apareceram nos anos finais, e fora do ambiente acadêmico foram meus psicólogos. Um profissional em especial que em cada sessão de dedicava e debruçava sobre meus conflitos e com o olhar atencioso, mas sempre muito verdadeiro, despertava em mim uma força que por tempos foram adormecidas. Por agora, outra profissional, que em fase tão delicada me lembra o quanto é importante estar viva, levando a força vital para quem precisa.

Agora sim... nas linhas finais deste agradecimento, eu expresso minha total gratidão aos meus amigos espirituais, sejam eles chamados como anjo da guarda, Deus, Deusa, Nossa Senhora do Experimento, São Francisco de Assis... Todos estes que já foram chamados em momentos de alegria, de dúvida e principalmente nos momentos de eutanásia. Sim, cada um dos animais que foram eutanasiados tiveram meu “Obrigada, São Francisco receba este ser!” e se lá, naquele momento, tiveram minha gratidão, aqui não poderia ser diferente!

Por fim, agradeço a você que por algum motivo ficou até aqui! No fundo acredito que é por vocês que a ciência é feita! E por vocês que devemos agradecer: Obrigada!

RESUMO

Efeito de esteróides gonadais na fibromialgia experimental (ensaio pré clínico) e terapia hormonal para mulheres com fibromialgia (revisão sistemática). Camilla Aguiar Dalan Guilherme, Aracaju, 2022.

Introdução: A fibromialgia (FM) é uma doença caracterizada por dor generalizada e prolongada além de outros sintomas associados, prejudicando a qualidade de vida do paciente, que em grande maioria dos casos são mulheres adultas com alterações hormonais devido a menopausa (35 a 60 anos). Neste cenário, buscamos compreender a relação hormonal com os sintomas da FM. **Objetivos:** 1-Avaliar as alterações comportamentais derivadas da administração hormonal (profilático) em fêmeas *Wistar* submetidas a modelo animal que mimetiza a fibromialgia; 2-Avaliar a literatura atual quanto aos efeitos do tratamento hormonal na qualidade de vida de mulheres com fibromialgia. **Método:** 1-Estudo experimental com ratas adultas *Wistar* (n=42) submetidos ao modelo experimental de hiperalgesia muscular crônica difusa (HMCD) com dupla injeção de salina ácida, juntamente com a remoção bilateral ovariana e reposição hormonal controlada. Os animais foram divididos em sete grupos: i) CTRL- – receberam salina neutra e sem alteração hormonal (n=6); ii) CTRL+ – recebeu salina ácida e sem alteração hormonal (n=6); iii) OVX – salina ácida e animais ovariectomizadas (n=6); deste grupo em diante todos os animais foram ovariectomizadas e com indução do modelo de HMCD, alterando apenas o protocolo de profilaxia iv) Veic. – Receberam os veículos usadas na diluição hormonal (n=6); v) P4 – reposição de progesterona (n=6); vi) E2 – reposição de estrógeno (n=6); vii) P4+E2 - receberam progesterona e estrógeno (n=6). Foram avaliadas latência térmica (placa quente), latência sensitivo cutâneo (von Frey eletrônico) e distância percorrida (monitor de atividades) no momento basal e final. 2- Busca sistemática de estudos em sete bases de dados (PubMed, Medline, Embase, Cochrane, SPORTDiscus, Psycinfo e Pedro) realizada por dois investigadores independentes através dos descritores “Fibromyalgia”, “Hormone replacement therapy”, “Hormone”, “Drug therapy” e “Treatment outcome”. Atualizada em julho de 2022. Em busca de indicativos de diminuição da dor, de pontos sensíveis e consequente melhora do bem estar das pacientes. Para a avaliação de risco de viés desses estudos, foi utilizado o software Revman® e Cochrane. **Resultados:** 1-Houve uma diminuição do limiar sensitivo cutâneo nos grupos que receberam salina ácida independente da profilaxia administrada. Nos grupos com alterações hormonais apresentaram uma diminuição na distância percorrida e um aumento na latência térmica quando comparados ao momento basal. 2-Quatro estudos do tipo ECR’s foram incluídos para análise. Detectou-se variação do tipo de hormônios prescritos (hormônio do crescimento - GH, melatonina e estradiol), via de administração (oral, transdérmica ou subcutânea) e duração do período de acompanhamento (de 6 semanas a 12 meses), proporcionando melhor desfecho os hormônios do crescimento (GH) e a melatonina. **Conclusão:** No estudo experimental indicou que a reposição hormonal proposta juntamente com o modelo de HMCD influencia comportamentos de atividade locomotora e latência sensitivo térmico, não sendo suficiente para prevenir o aumento do limiar sensitivo cutâneo. Enquanto que na revisão sistemática, a reposição hormonal com melatonina e GH podem indicar bons resultados na melhoria da qualidade de vida, como a diminuição da dor. Por isso recomenda-se a realização de novos estudos experimentais para melhor esclarecer os efeitos da reposição hormonal e suas repercussões a longo prazo.

Descritores: Modelo animal; hiperalgesia; terapia de reposição hormonal; fibromialgia; mulheres.

ABSTRACT

Effect of gonadal steroids on experimental fibromyalgia (preclinical trial) and hormone therapy for women with fibromyalgia (systematic review). Camilla Aguiar Dalan Guilherme, Aracaju, 2022.

Introduction: Fibromyalgia (FM) is pathology that causes widespread pain and other associated symptoms, damaging the quality of life of the patient, as in more cases are adult women with hormonal changes due to menopause (35 to 60 years old). In this scene, we Search to understand the hormonal relationship with FM symptoms. **Objectives:** 1-Evaluate the behavioral changes derived from hormonal administration (prophylactic) in *Wistar* females rats submitted to the fibromyalgia model; 2- Evaluate the effects of hormonal treatment on quality of life for women with fibromyalgia. **Method:** 1- Experimental study with *Wistar* females rats (n = 42) submitted to experimental model of diffuse chronic muscle hyperalgesia (DCMH), together with bilateral surgical removal of ovaries and controlled hormonal replacement. The animals were divided into seven groups: i) CTRL- - received neutral saline + no hormonal changes (n = 6); ii) CTRL+ - received acidic saline solution + no hormonal changes (n = 6); iii) OVX - ovariectomized animals + acid saline solution (n = 6); all groups forward, the animals were ovariectomized and with induction of the DCMH model, changing only the prophylaxis protocol. iv) Vehicle - received the vehicles used in the hormonal dilution (n = 6); v) P4 - replacement of progesterone (n = 6); vi) E2 - estrogen replacement (n = 6); vii) P4 + E2 - received progesterone and estrogen (n = 6). Thermal latency (hot plate), cutaneous sensory threshold (electronic von Frey) and distance covered (activity monitor) at the beginning and at the end of experiment were evaluated. 2- Systematic search of studies in seven databases (PubMed, Medline, Embase, Cochrane, SPORTDiscus, Psycinfo and Pedro) performed by two independent researchers using the descriptors “Fibromyalgia”, “Hormone replacement therapy”, “Hormone”, “Drug therapy” and “Treatment outcome”. Updated July 2022. In investigation of indicators of improvement in the patients' quality of life. To assess the risk of bias in these studies, the Revman® software was used. **Results:** 1) There was a decrease in the cutaneous sensory threshold in the groups that received acid saline independent of the administered prophylaxis. In the groups with hormonal alteration, they presented a decrease in the distance walked and an increase in the thermal threshold when compared to baseline. 2- At the end of the systematic searches and exclusion by duplicates, analysis by titles and selection according to the inclusion criteria, four articles were included in the systematic review. Differences in the type of hormones administered (growth hormone - GH, melatonin and estradiol), via administration (oral, transdermal or subcutaneous) and duration of the follow-up period (from 6 weeks to 12 months). **Conclusion:** In the experimental study, indicated that the hormone replacement proposed together with the DCMH model influences locomotor activity behavior and thermal sensory threshold, not being enough to increase the cutaneous sensory threshold. While in the systematic review, hormone replacement with melatonin and GH may indicate low risk of bias and results in improving quality of life, such as decreasing pain. Therefore, further experimental studies are recommended to better clarify the effects of hormone replacement and its long-term repercussions.

Descriptors: Animal model; hyperalgesia; hormonal replacement therapy; fibromyalgia; women.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Tabela 1: Divisão dos animais segundo a série experimental e os grupos referentes	25
Tabela 2: Divisão dos animais segundo o grupo e breve presença ou ausência de determinada etapa da série experimental	26
Figura 1: Aparato de mensuração, von Frey eletrônico	28
Figura 2: Monitor de atividades	28
Figura 3: Placa quente	29
Figura 4: Delineamento experimental do modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa (HMCD)	30
Figura 5: Delineamento experimental do protocolo de profilaxia hormonal em ratas OVX submetidas ao HMCD	32
Tabela 3: Valores da latência cutânea (mN) nos grupos controle positivo e controle negativo	35
Figura 6: Representação gráfica dos valores individuais dos animais e da média pertencentes ao grupo controle negativo e do controle salina ácida no momento de avaliação basal e final do limiar sensitivo cutâneo	36
Tabela 4: Média do limiar sensitivo cutâneo (mN) na avaliação basal e na avaliação final nos grupos experimentais	37
Figura 7: Representação gráfica da média pertencentes ao experimentais no momento de avaliação basal e final	37
Tabela 5: Média da atividade locomotora na avaliação basal e na avaliação final nos grupos controles e experimentais	38
Figura 8: Representação gráfica da média pertencentes ao experimentais no momento de avaliação basal e final	38
Tabela 6: Média da latência térmica nas avaliações basal e final nos grupos controles e experimentais	39
Figura 9: Representação gráfica da latência térmica dos grupos experimentais	39
Figura 10: Representação gráfica da diferença entre as médias dos testes comportamentais latência sensitivo cutâneo, distância percorrida e latência térmica nos grupos controles e experimentais	41

Figura 11: Fluxograma de seleção de artigos (ensaaios clínicos) sobre o uso de terapia de reposição hormonal em pacientes com fibromialgia	43
Tabela 7: Resumo dos estudos com terapia de reposição hormonal em pacientes com fibromialgia	47
Figura 12: Resumo do julgamento dos autores sobre cada item de risco de viés apresentado como porcentagens em todos os estudos incluídos	50
Figura 13: Resumo do risco de viés: analise os julgamentos dos autores sobre cada item de risco de viés para cada estudo incluído	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μL – micro litro

μN – micro Newton

ACTH – hormônio adrenocorticotrófico

AINES – anti-inflamatórios não esteroidais

CENTRAL - *Cochrane Central Register of Controlled Trials*

CEPA – Comitê de Ética em Pesquisa Animal

COBEA – Colégio Brasileiro em Experimentação Animal

CRH – hormônio liberador de corticotrofina

CTRL- – controle negativo

CTRL+ – controle salina ácida

E2 – estrógeno

ECRs – ensaio clínico randomizado

EMBASE – *Excerpta Medica Database* (em português “artigos do banco de dados de medicamentos”)

EUA – Estados Unidos da América

FIQ – *Fibromyalgia Impact Questionary* (em português “questionário de impacto da fibromialgia”)

FSH – hormônio folículo estimulante

g – Gramas

GH – *growth hormone* (em tradução livre “hormônio do crescimento”)

GnRH – hormônio liberador de gonadotrofina

HMCD – hiperalgesia muscular crônica difusa

HPA – hipotálamo-hipófise-adrenal

HPG – hipotálamo-hipófise-gônadas

HPT – hipotálamo-hipófise-tireoide

IASP – *International Association for the Study of Pain* (em português “Associação Internacional para o Estudo da Dor

IGF-1 – *insuline growth factor like-1* (em português “Fator de crescimento insulina-símile 1”)

im – intra muscular

ip – intraperitoneal

Lapene – laboratório de pesquisa em neurociência

LH – hormônio luteinizante

MAP-quinase – *mitogen activated protein kinases* (em português “Proteína-quinases ativadas por mitógenos”)

MEDLINE – *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (em português “Sistema Online de Análise e Recuperação de Literatura Médica”)

NGF – *nerve growth factor* (em tradução livre “Fator de crescimento nervoso”)

OVX – ovariectomia

P4 – progesterona

PRISMA – *Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (em português “Relatórios de itens para revisões sistemáticas e meta-análises”)

PROSPERO – *International Prospective Register of Systematic Reviews* (em português “registro internacional de revisões sistemáticas”)

s – segundos

SBCAL – Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório

TRH – terapia de reposição hormonal

SSS – *Symptom Severity Scale* (em tradução livre “escala de severidade dos sintomas”)

T3 – hormônio triiodotironina

T4 – hormônio tiroxina

TSH – hormônio tireoestimulante

UFS – Universidade Federal de Sergipe

VAS – *visual analog scale* (em tradução “escala visual”)

WPI – *Widespread Pain Index* (em tradução livre “índice de dor generalizada”)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 Fibromialgia	18
2.2 Ação hormonal na modulação nociceptiva	19
3 OBJETIVOS	23
3.1 Objetivo Geral	23
3.2 Objetivos específicos	23
4 MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1 Material e métodos do estudo de profilaxia hormonal em ratas ovariectomizadas submetidas ao modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa	24
4.1.1 Animais	24
4.1.1.1 Divisão dos grupos experimentais	25
4.1.2 Testes comportamentais	27
4.1.2.1 Mensuração da latência mecânica de retirada da pata	27
4.1.2.2 Mensuração da latência térmica	28
4.1.2.3 Mensuração da atividade locomotora	28
4.1.3 Indução do modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa (HMCD)	29
4.1.4 Ovariectomia	30
4.1.4.1 Reposição hormonal	31
4.1.5 Delineamento experimental	31
4.1.5.1 Profilaxia hormonal em ratas ovariectomizadas submetidas ao modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa (HMCD).	31
4.1.6. Análise estatística	32
4.2 Métodos do estudo - Efeito de diferentes tratamentos hormonais na dor e qualidade de vida de mulheres com fibromialgia: revisão sistemática	33
4.2.1 Critério de inclusão	33
4.2.2 Seleção de estudos e extração de dados	33
4.2.3 Avaliação de qualidade e viés de risco	34
5 RESULTADOS	35
5.1 Resultados do estudo profilaxia hormonal em ratas ovariectomizadas submetidas ao modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa	35
5.1.1 Validação do modelo de HMCD em ratas fêmeas	35

5.1.2 <i>Profilaxia hormonal em ratas ovariectomizadas submetidas ao modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa</i>	36
5.1.2.1 Latência sensitiva cutâneo	36
5.1.2.2 Atividade locomotora	37
5.1.2.3 Latência térmica	38
5.1.3. <i>Comparação entre as médias das avaliações comportamentais</i>	40
5.2 Resultados de - Efeito de diferentes terapias hormonais na dor e qualidade de vida de mulheres com fibromialgia: revisão sistemática	42
5.2.1 <i>Descrição dos estudos</i>	42
5.2.2 <i>Características dos estudos incluídos</i>	43
5.2.3 <i>Risco de viés nos estudos incluídos</i>	50
5.2.4 <i>Descrição detalhada da metodologia e os principais efeitos das intervenções dos ensaios clínicos incluídos</i>	51
6 DISCUSSÃO	54
6.1 <i>Discussão do estudo - Profilaxia hormonal em ratas ovariectomizadas submetidas ao modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa</i>	54
6.2 <i>Discussão do estudo- Efeito de diferentes terapias hormonais na dor e qualidade de vida de mulheres com fibromialgia: revisão sistemática</i>	57
7 CONCLUSÃO GERAL	61
8 REFERÊNCIA	62

1 INTRODUÇÃO

A fibromialgia (FM) é uma das doenças reumáticas que podem ser caracterizadas por um conjunto de sinais e sintomas observáveis com ausência de causa específica (Uceyler et al., 2011). Entre os sintomas mais comuns da FM estão a dor músculo esquelética generalizada crônica, hiperalgesia muscular, rigidez corporal, fadiga muscular, distúrbios do sono, distúrbios circadianos, ansiedade e depressão. Apesar da quantidade de sinais e sintomas decorrentes da cronicidade, a etiologia e fisiopatologia ainda não são esclarecidas completamente (Wolfe et al., 2010).

Em 1990 a *American College of Rheumatology* (ACR) publicou critérios para diagnóstico da FM sendo atualizado em 2010 (Wolfe et al., 1990, 2010). Esta última atualização dos critérios para o diagnóstico validou os sintomas associados decorrentes (*Severity Symptom Scale* – SSS) da dor muscular generalizada (*Widespread Pain Index* – WPI) como sendo parte importante na evolução da doença em questão (Wolfe et al., 1990, 2010).

A FM ocupa o segundo lugar dentre a razão mais comum de busca por atendimento reumatológico clínico, representando cerca de 10% a 20% dos casos que buscam atendimento reumatológico (Queiroz, 2013; Wolfe et al., 1990) variando de acordo com o país (Neumann & Buskila, 2003). Na população geral com FM é evidente a maior prevalência em mulheres com taxa de 4,2%, sendo proporcional a três mulheres para um homem, variando segundo a cultura e país, como exemplo o Canadá onde apresenta taxa de 4,9% e na Suécia é de 2,4% de mulheres, enquanto, 1,6% e 0% são homens, respectivamente (Neumann & Buskila, 2003; Queiroz, 2013). Ao se tratar da faixa etária, a mais acometida é de 35 a 60 anos (Brooks et al., 2015; Neumann & Buskila, 2003; Queiroz, 2013).

Como mencionado anteriormente, a FM apresenta alterações em diferentes sistemas do organismo, o que a classifica como uma síndrome (Uceyler et al., 2011). Sendo assim, além de observarmos uma série de sintomas físicos como dor generalizada, síndrome do intestino irritável, enxaqueca, dor pélvica, distúrbio temporomandibular e artrite reumatoide os pacientes apresentam também sintomas psicológicos e emocionais associados tais como distúrbio de atenção, concentração, ansiedade e depressão. Todos esses sintomas físicos e psicológicos, afetam a qualidade de vida dessas pessoas, nos níveis profissional, social e pessoal (Brooks et al., 2015; Kreling et al., 2006; Neumann & Buskila, 2003).

A dificuldade com relação a FM começa desde o diagnóstico, pois os sintomas são inespecíficos e não concludentes, sendo o diagnóstico baseado na prática clínica. As dores físicas incapacitantes e o abalo psicológico são alguns dos sintomas que são tratados. Com o

maior objetivo de melhorar a qualidade de vida de pessoas com FM, são oferecidas diferentes abordagens, desde tratamentos medicamentosos (antidepressivos, anticonvulsivantes, analgésicos, relaxantes musculares e anti-inflamatório não esteroidais -AINEs-); a terapias não medicamentosas, como exercícios físicos e terapias cognitivas (Brederson et al., 2011; Clauw & Crofford, 2003; Sluka et al., 2013). Uma das opções para o tratamento são as reposições hormonais, pela relação que os eixos hormonais podem exacerbar ou modular os mecanismos de percepção da dor, seguindo as alterações que a produção hormonal sofre em condições crônicas, como a FM.

Um dos sistemas fisiológicos que sofrem alteração nos pacientes com FM é o endócrino, embora não haja evidências contundentes sobre ser ele um precursor ou uma consequência da FM. Algumas mulheres com FM apresentam diversas alterações hormonais, como exemplo o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), que resulta em aumento dos níveis de cortisol e do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) (Riedel et al., 1998).

Essa hiperatividade do eixo HPA pode exercer influência direta sobre o eixo hipotálamo-hipófise-tireoide (HPT), alterando a produção dos hormônios da tireoide. A possível interação entre estes dois eixos, HPA e HPT, em pacientes com FM, foi observada através da avaliação dos níveis do hormônio estimulador da tireoide (TSH), triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), os quais estavam com níveis reduzidos. Possivelmente por conta dessa interação, uma vez que o cortisol tem ação inibitória sobre a produção de TSH, sugerindo um envolvimento de outros sintomas da FM e o desenvolvimento de hipotireoidismo, através da influência de uma hiperatividade do eixo HPA (Zavallia & Frizzo, 2011) contribuindo também no desenvolvimento de sintomas depressivos e dolorosos (Gur et al., 2002, 2004).

Uma das características do sistema endócrino é a relação de interação que possui com outros sistemas e com órgãos dentro do mesmo sistema, como exemplo, a alteração que o eixo HPT pode alterar também o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (HPG) (Aires, 2008). A interferência dos diferentes hormônios, como testosterona, corticosterona, cortisol dentre outros, nas vias de processamento nociceptivo é bem descrita em diversos estudos (Gur et al., 2004; Racine et al., 2012; Riedel et al., 1998; Smith et al., 2002).

Levando em consideração o foco do nosso trabalho que são as mulheres, devido à grande prevalência em relação a população com FM, as mesmas passam por diversas variações hormonais, desde o início dos ciclos menstruais até a menopausa, incluindo as variações dentro do ciclo menstrual. Essas variações interferem nos processos emocionais e também fisiológicos (Fillingim, 2000; Hiller et al., 2019; Puga-olguín et al., 2019). Os esteróides (estradiol e progesterona principalmente) são produzidos nos ovários e no córtex das glândulas suprarrenais

a partir do precursor, o colesterol. Ao final dos processos de hidroxilação, desidrogenação, oxirredução e aromatização, tem-se como resultado final progesterona e estradiol. Sendo que essa produção é dependente do aporte de colesterol disponível e da expressão e atividade de enzimas disponível nas células das glândulas responsáveis (Aires, 2008; Halbe, 1965).

Estes achados da literatura sugerem que tais hormônios podem exacerbar ou inibir mecanismos que estão intimamente ligados às variações de intensidade dos sintomas da FM (Brooks et al., 2015; Fillingim, 2000). Para corroborar ainda mais esta possível interação entre hormônios sexuais e modulação de mecanismos nociceptivos, estudos têm mostrado que mulheres com FM apresentam baixos níveis de progesterona e estrógeno (Fillingim & Ness, 2000). A progesterona age juntamente com o estrógeno, estando também envolvido no mecanismo de nocicepção, nos comportamentos resultantes da dor crônica, como a ansiedade e depressão (Frye & Walf, 2004; Kuba et al., 2006). Finalmente, além do estrógeno e da progesterona, a testosterona também pode apresentar efeito protetor no desenvolvimento de dores crônicas, como na FM (Brooks et al., 2015; Clauw & Crofford, 2003; Fillingim & Ness, 2000; Martin, 2009; Smith et al., 2002). Vale salientar que estudos clínicos indicam que mulheres com FM apresentam baixos níveis de progesterona e estrógeno (Fillingim & Ness, 2000; Martin, 2009).

Mulheres em período de menopausa apresentam redução dos níveis de progesterona e estrógeno. Como resultado, a intensidade dos sintomas da FM fica exacerbada, ou até o desenvolvimento de outras síndromes dolorosas como o distúrbio temporomandibular, por exemplo (Brooks et al., 2015). A menopausa o evento que indica o fim do período reprodutivo da mulher, sendo marcada pela diminuição dos hormônios sexuais femininos, pode ser mimetizada em animais através da ovariectomia bilateral (ovx) (Baeza et al., 2010; Moiety et al., 2015).

A relação entre a ausência hormonal abrupta, promovida pela ovariectomia, e o desenvolvimento da nocicepção, tem sido descrita na literatura. Variados trabalhos mostraram que ratas ovariectomizadas apresentam uma resposta mais acentuada à injeção de formalina, estímulos térmicos e estímulos mecânicos, quando comparadas aos animais que não passaram pelo referido procedimento (Ceccarelli et al., 2003; Sanoja & Cervero, 2008; Stoffel et al., 2005). Além disso, as ratas ovx apresentaram aumento do latência nociceptivo, após a realização de testes comportamentais para avaliação da nocicepção como avaliação nos testes de latências de placas quentes e *tail flick* (Craft et al., 2008; Stoffel et al., 2005).

Por outro lado, o procedimento de reposição hormonal controlada com estrógeno, realizado após a ovariectomia, demonstra atenuar a resposta acentuada à nocicepção, observada

em outros trabalhos com animais (Kuba & Quinones-Jenab, 2005; Stoffel et al., 2005). Esses trabalhos esclarecem a ação hormonal durante a dor aguda. Porém a interferência dos hormônios sexuais femininos na sintomatologia das dores crônicas, como a FM ainda permanece contraditório, desde ação em um ciclo hormonal completo, assim como na menopausa.

A hiperalgesia muscular crônica difusa (HMCD) em modelo animal pode ser desenvolvida por diferentes protocolos, fadiga muscular, depleção de amina biogênica, estresse térmico, estresse sonoro, injeção de salina ácida seguido de fadiga muscular e dupla injeção de salina ácida (DeSantana et al., 2013). Sendo a dupla injeção de salina ácida no músculo gastrocnêmio esquerdo ainda é a mais adequada por apresentar alterações a níveis de mecanismos centrais e periféricos, principalmente provocar hiperalgesia visceral, cutânea e muscular em ambas as patas sem lesão tecidual, por até 04 semanas (DeSantana et al., 2013; DeSantana & Sluka, 2008). Em estudo de Gregory et al (2013) evidenciou que as fêmeas permaneciam por 6 semanas com a hiperalgesia muscular crônica enquanto que os machos, apresentavam comportamentos referentes à HMCD por 4 semanas (Gregory et al., 2013b; Lesnak et al., 2020) além de apresentarem um aumento na magnitude do processo de cronificação e consequente atraso na alodinia (Tajerian et al., 2015).

As evoluções de estudos sobre a influência hormonal no processo de cronificação da dor têm crescido, porém ainda não há esclarecimentos do papel dos hormônios estrógeno e progesterona, como profilaxia, nas alterações comportamentais de fêmeas *Wistar* submetidas ao modelo de FM de dupla injeção de salina ácida. Sendo este modelo o responsável por mimetizar alguns dos sintomas presentes nos pacientes com FM, como a hiperalgesia generalizada, o aumento da sensibilidade ao toque, distúrbios comportamentais além de outros sintomas como distúrbios do sono e fadiga.

Assim, o objetivo deste estudo foi verificar os efeitos de diferentes estratégias de terapia de reposição hormonal para diminuição da intensidade de dor, na tolerância à dor e na sensibilidade ao toque nos pontos dolorosos, como opção de tratamento para mulheres adultas com diagnóstico clínico de FM.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fibromialgia

A dor é classificada como crônica, quando tem duração superior a 3 meses, além de ser considerada como uma resposta anormal e não-protetora. Dentre as síndromes de dor crônica, a FM se destaca como uma condição debilitante que afeta milhões de pessoas em todo o mundo, independente de classe social ou etnia (Brooks et al., 2015; Queiroz, 2013).

Apenas em 1990 o ACR definiu os critérios de diagnósticos para a FM, sendo atualizados em 2010. No momento de atualização, além dos sintomas físicos como a dor persistente, foram adicionados ao critério de diagnóstico os sintomas associados e decorrentes desta condição patológica, como fadiga, depressão, rigidez matinal, distúrbio do sono (Wolfe et al., 2010). Dessa forma, a FM é classificada como síndrome devido a presença do conjunto de sintomas e sinais observados e ausência de causa específica (Uceyler et al., 2011).

A etiologia da FM não é totalmente definida, além de apresentar sintomatologia não específica e abrangente. Entre os sintomas mais comuns estão a dor musculoesquelética generalizada simultaneamente à presença de pontos mais sensíveis ao toque (*tender points*) (DeSantana & Sluka, 2008; Wolfe et al., 2010) dentre outros que reduzem a qualidade de vida de indivíduos afetados, sendo de 1% a 4% da população mundial (Brooks et al., 2015; Neumann & Buskila, 2003; Queiroz, 2013) segundo o perfil de levantamento epidemiológico.

Esta parcela da população mundial, tem maior prevalência em mulheres que representam cerca de 4,2% dentre as pessoas com FM (Neumann & Buskila, 2003; Queiroz, 2013) além de ser mais nitidamente encontrada em mulheres na faixa etária de 40 a 60 anos (Brooks et al., 2015; Queiroz, 2013; Wolfe et al., 1995), indicando relação de variações das taxas hormonais (Brooks et al., 2015).

O sistema endócrino é afetado também pela presença constante da dor além dos sintomas associados a FM, sendo muitas vezes confundida no momento do diagnóstico com doenças de caráter de hormonal, como é o caso do hipotireoidismo, que possui sintomas similares (Bote et al., 2012; Riedel et al., 1998; Wallace et al., 2001). A relação dos hormônios serem considerados como precursor ou consequência desta patologia não estão esclarecidos, apenas evidências de desequilíbrio e associações de possíveis formas de tratamento (Aloisi & Bonifazi, 2006; Kuba & Quinones-Jenab, 2005; Martin, 2009; Riedel et al., 1998).

Estudos clínicos indicam que as mulheres possuem uma percepção maior da dor crônica quando comparado aos homens (Tajerian et al., 2015), devido às variações hormonais que estão presentes desde a regulação do ciclo menstrual até a menopausa, incluindo também o momento

da gravidez (Amandusson & Blomqvist, 2013; Craft et al., 2004; Defrin et al., 2009). Esta percepção é mais sensível desde os estímulos físicos, térmicos e até na estimulação com força mecânica (Aloisi & Bonifazi, 2006; Bartley & Fillingim, 2013; Brooks et al., 2015; Cairns & Gazerani, 2009; Ceccarelli et al., 2003; Sanoja & Cervero, 2008).

As alternativas de tratamento para proporcionar uma melhor qualidade de vida a estas pacientes são as combinações medicamentosas, com relaxantes musculares e antidepressivos (Rivera & Vallejo, 2016) com as terapias não farmacológicas, como o exercício aeróbico, meditação e práticas de yoga (Brederson et al., 2011; Clauw & Crofford, 2003; Gregory et al., 2013b). Dentre as opções farmacológicas, tem-se surgido as terapias hormonais. A ampla variedade da administração dos hormônios que proporcionam um equilíbrio na homeostase com resultado na melhora na qualidade de vida está crescendo e com diferentes resultados (Jones et al., 2003; Malemud, 2012).

Como alternativa para o desenvolvimento de terapias, farmacológicas ou não farmacológicas, conta-se com modelos animais da patologia em questão. Tais modelos buscam, de maneira controlada e ética, mimetizar a sintomatologia ou um sintoma específico (Menezes, 2013). Um dos modelos comumente utilizados mimetiza a HMCD, sendo baseado no pressuposto de que a redução do pH aumenta a atividade dos nociceptores e produz uma resposta dolorosa em humanos. Deste modo, utiliza-se uma dupla injeção de solução salina ácida (pH 4.0) no músculo gastrocnêmio esquerdo com intervalo de 05 dias entre as injeções. Esse modelo produz hiperalgesia no local ou próximo da região da infusão, assim como em regiões mais distantes. Essa hiperalgesia mantém-se por um período de até 4 semanas (longo período) após a segunda injeção de salina ácida (Sluka et al., 2001).

2.2 Ação hormonal na modulação nociceptiva

A razão para a predominância feminina nas síndromes de dores crônicas, assim como a FM, ainda não é totalmente esclarecida (Aloisi & Bonifazi, 2006; Brooks et al., 2015; Fillingim & Ness, 2000; Macfarlane, 2002; Sanoja & Cervero, 2008), havendo controvérsias sobre a relação hormonal nesta condição crônica, podendo ser considerada precursora ou ainda se a alteração hormonal acontece como sintoma (Aloisi & Bonifazi, 2006; Kuba & Quinones-Jenab, 2005; Martin, 2009). Estudos indicam que essa diferença do quantitativo de mulheres comparado aos homens com dores crônicas pode estar relacionada com a resposta diante do estresse vivido pela presença constante da dor (Aloisi & Bonifazi, 2006), assim como também pelo dimorfismo sexual na função cerebral frente aos esteróides circulantes, como também na

sensibilidade maior ao hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) do córtex feminino, principalmente das pacientes pré menopausa (Aloisi & Bonifazi, 2006).

As alterações hormonais podem influenciar no comportamento das fêmeas, sejam da espécie humana ou de outras espécies de animais, como ratos, camundongos e macacos (Craft et al., 2004; Fillingim, 2000; Kuba & Quinones-Jenab, 2005; Mora et al., 1996a; Pillemer et al., 1997). Enquanto que no momento de transição hormonal da menopausa é considerado a fase mais crítica, desde sintomas clássicos deste período como também no desenvolvimento de patologias crônicas (Aloisi & Bonifazi, 2006).

Os fatores estressores podem influenciar o equilíbrio dos hormônios, como sua produção e ação. Entre estes fatores, podemos citar, doenças psicológicas, exposição a toxinas, exercício extremo, estresse relacionado a situações crônicas como a FM (Bote et al., 2012). Os mecanismos de ação hormonal ou até mesmo a produção dos hormônios, seja dos eixos hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) como o hormônio liberador de corticotrofina (CRH), hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), ou hipotálamo-hipófise-tireoide (HPT), como o hormônio tireoestimulante (TSH); ou hipotálamo-hipófise-gonadal (HPG), tais como hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), hormônio folículo estimulante (FSH), hormônio luteinizante (LH), andrógenos, estrógenos e progestógenos ficam desequilibradas, alterando o funcionamento de mais hormônios (Aloisi & Bonifazi, 2006; Bote et al., 2012).

Os hormônios sexuais (testosterona e estrogênio) podem apresentar funções antinociceptivas ou pro-nociceptivas (Craft et al., 2008; Sanoja & Cervero, 2008) e a variação na quantidade produzida desses hormônios oscila diretamente essas funções. Como ocorre em mulheres na fase de menopausa, onde a produção de seus hormônios sexuais decaem (Cairns & Gazerani, 2009). As diferenças sexuais na nocicepção e na analgesia podem ser vistas com frequência, visto que as mulheres são mais sensíveis à dor, mais propensas à cronificação da dor e menos sensível à alodinia (Tajerian et al., 2015).

Pesquisas neste campo apontam também para as diferenças no processamento e modulação nociceptiva por mecanismos neuronais genéticos e neuroquímicos em cada sexo. Esses sistemas parecem ser afetados pelos hormônios gonadais circulantes. Existem estudos que indicam que a diferença parece estar ligada aos receptores de estrógeno presentes no circuito neural que interagem com receptores de glutamato, alterando a sinalização intracelular que é de extrema importância para a nocicepção (Craft et al., 2004; Tajerian et al., 2015).

O comportamento que indica hiperalgesia muscular em ratas fêmeas com ciclo estral regular não é alterado em função da variação hormonal (Sanoja & Cervero, 2008), pois as fases de seus ciclos estrais possuem curta duração, compreendendo de dias a horas (Marcondes et al.,

2002). Porém, em animais submetidos à ovariectomia, o estado de hiperalgesia (e sua prevenção e até reversão) apresentam alterações com os níveis de estrógeno circulante, onde a presença do hormônio pode reverter a hiperalgesia mecânica e térmica (Sanoja & Cervero, 2008).

Fêmeas apresentam variação dos hormônios durante o ciclo estral em comparação aos machos. As fêmeas em fase de diestro (com estrógeno e progesterona começando a aumentar) apresentam sinais que indicam hiperalgesia e inflamação. Na mesma comparação, porém durante a fase de proestro (os níveis de estrógeno continuam a aumentar, porém a progesterona já atingiu o pico) os níveis de hiperalgesia e inflamação são próximos aos comportamentos dos machos. Essas interações entre hormônios e comportamentos referentes a nocicepção são indicativos da relação hormonal sob o sistema nociceptivo (Fillingim & Ness, 2000; Sanoja & Cervero, 2008).

Há estudos que indicam que mulheres ovariectomizadas apresentam mais chances de desenvolver a FM (Brooks et al., 2015). Porém, ainda não é claro como acontece a relação de nocicepção em ratas ovx, por não ter certeza de seu completo mecanismo, mas pode criar a hipótese de que o estradiol modula o receptor μ -opioide em regiões diferentes no cérebro de machos e fêmeas, visto que em situações com baixa de estradiol e progesterona estão relacionados à redução da função do sistema opioide endógeno (Craft et al., 2004; Sanoja & Cervero, 2008). Além do estrógeno potencializar as ações do glutamato em vários locais no sistema nervoso com ação pro-nociceptiva, visto que os receptores de estradiol são expressos nos neurônios da raiz dorsal e interagem com receptores de glutamato, interferindo a sinalização intracelular da via nociceptiva (Sanoja & Cervero, 2008; Tajerian et al., 2015).

Em experimento com animais, a injeção de estradiol no cérebro de machos induziu após dois dias, o aumento da quantidade de lambadura da pata após injeção de formalina, indicando comportamento referente à hiperalgesia neste teste comportamental. Além disso, ao administrar estrógeno e progesterona em ratas ovariectomizadas, estas apresentam um aumento do latência da hiperalgesia (Aloisi & Bonifazi, 2006), indicando diminuição ou estabilização do nível de sensibilidade.

O ciclo estral das ratas não pode ser comparado na sua totalidade com o ciclo menstrual, mas há semelhanças que podem facilitar a compreensão da relação entre os hormônios e na interferência da nocicepção. Nos humanos, já se sabe que os hormônios gonadais podem interferir em múltiplos sistemas no sistema nervoso central, como a via de sinalização da dor. Por exemplo, esteróides sexuais alteram os níveis de neurotransmissores envolvidos no mecanismo nociceptivo, como GABA, glutamato, dopamina, serotonina e norepinefrina (Aloisi & Bonifazi, 2006). Além da interferência recíproca, estrógeno e progesterona promovem um controle nos

níveis de LH e peptídeos opióides, inibindo a secreção pituitária de LH. O LH, por sua vez, desestabiliza os receptores opióides no cérebro, causando as dores do período pré menstrual, característico da fase lútea (Aloisi & Bonifazi, 2006; Fillingim & Ness, 2000).

Além dessas relações dos hormônios com os mecanismos da dor, como a colocação de receptores μ -opióides e para estrógeno em núcleos hipotalâmicos (Aloisi & Bonifazi, 2006), essas interações entre os hormônios gonadais e o sistema neuro modulador central podem influenciar a sensibilidade do latência da dor, devido a eficácia da inibição da dor endógena e resposta aos agentes farmacológicos decorrente da alteração na densidade do receptor de sensibilidade (Aloisi & Bonifazi, 2006; Craft et al., 2004; Fillingim & Ness, 2000).

O estrógeno aumenta o conteúdo do fator de crescimento neuronal (NGF) no corno dorsal, induz a expressão de c-Fos no hipocampo e ativa a MAP-quinase (Craft et al., 2004), além disso, o estrógeno aumenta o número de espinhos dendríticos e sinapses excitatórias nos neurônios do hipocampo, e rapidamente excita os neurônios do córtex cerebral, cerebelo e hipocampo. Tais fatores podem aumentar a suscetibilidade para a dor (Aloisi & Bonifazi, 2006).

Apesar da existência de estudos, clínicos e experimentais, sobre a interferência dos hormônios no desenvolvimento nociceptivo, ainda permanece inconclusivo como ocorre o funcionamento após a interrupção da produção de hormônios, como na menopausa, no desenvolvimento de dores crônicas como a fibromialgia, patologia que afeta majoritariamente mulheres em situações de menopausa. Entre os objetivos deste trabalho, buscamos compreender a relação dos hormônios sexuais femininos (estrógeno e/ou progesterona) no desenvolvimento da FM. Assim como destacar a terapia hormonal com melhor efetividade para as mulheres com FM.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar as alterações comportamentais derivadas da administração hormonal de estrógeno e progesterona em ratas *Wistar* submetidas ao modelo de fibromialgia como papel profilático e; os efeitos do tratamento hormonal, nos índices de dor das mulheres com fibromialgia.

3.2 Objetivos específicos

- Comparar o efeito resultante da profilaxia hormonal (estrógeno e/ou progesterona) em animais com ciclo estral regular (grupos controle negativo – CTRL- e controle positivo – CTRL+) nos testes comportamentais referentes à motricidade e nocicepção em modelo experimental de hiperalgesia muscular crônica difusa;
- Verificar a influência específica do estradiol (E2), progesterona (P4) e de ambos, por meio do protocolo de reposição hormonal de forma profilática e contínua nos testes comportamentais dos animais submetidos ao modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa;
- Realizar síntese e análise dos dados existentes na literatura (revisão sistemática) a respeito dos efeitos dos diferentes protocolos hormonais no tratamento da sintomatologia da fibromialgia.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram desenvolvidos dois estudos independentes. O primeiro estudo foi desenvolvido em modelo animal, e o estudo seguinte foi uma revisão sistemática. Ambos estudos avaliaram a interferência dos hormônios sobre a sintomatologia da FM, tais como, nível da dor, falta de motivação, sensibilidade cutânea. Sendo o primeiro estudo voltado para a ação de prevenção dos sintomas da FM, em modelo animal; e as opções de tratamento hormonal foram abordadas no estudo subsequente.

4.1 Material e métodos do estudo de profilaxia hormonal em ratas ovariectomizadas submetidas ao modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa

4.1.1 Animais

Após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Sergipe (CEPA/UFS) sob o número de protocolo 03/2017, foram utilizadas 42 ratas *Wistar* pesando cerca de 200 g, com idade de dois meses, provenientes do Biotério Setorial da Universidade Federal de Sergipe e mantidas no Biotério do Laboratório de Pesquisa em Neurociências (LAPENE) da Universidade Federal de Sergipe (UFS). O estudo seguiu as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), da Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório (SBCAL) e da *International Association for the Study of Pain* (IASP). Os animais foram mantidos em ambiente climatizado, com exaustor, temperatura de 23°C a 25°C, e em ciclo claro-escuro de 12 horas, com alimentação (ração Nuvilab® de acordo com a média de peso dos animais) e água disponíveis *ad libitum*.

Após a recepção dos animais no laboratório, os mesmos foram divididos para a locação nos mini-isoladores em grupos com 03 fêmeas e 01 macho. Cada grupo foi mantido em mini isoladores de polisulfona com medidas 48,3 x 33,7 x 21,4 cm, em rack ventilado, com uma divisória de polisulfona que permitia a troca gasosa entre os lados da caixa, porém não havia contato físico ou visual entre as fêmeas e o macho. Permitindo que houvesse a maturação sexual das fêmeas pela circulação do feromônio do macho disponível ao lado, sem o estresse dos machos e fêmeas (Menezes, 2013). Quando as fêmeas completavam cerca de 1 mês de vida, os ciclos estrais eram colhidos diariamente entre às 07h00 e às 09h00 e apenas as fêmeas que apresentassem três ou mais ciclos estrais regulares (Marcondes et al., 2002) participavam das fases do experimento, pois indicava ciclo estral regular.

4.1.1.1 Divisão dos grupos experimentais

De acordo com as séries experimentais, os animais foram separados em grupos de 06 animais. Sendo alocados em grupos denominados como controle negativo, controle salina ácida, ovariectomizadas, veículo, progesterona, estrógeno, e por fim, progesterona e estrógeno como mostra a tabela a seguir (Tabela 1), sendo descritos com maiores detalhes a seguir.

Tabela 1: Divisão dos animais segundo a série experimental e os grupos referentes. Sigla dos grupos Grupo progesterona e estrógeno (P4+E2), estrógeno (E2) progesterona (P4), veículo (Veic.), ovariectomizadas (OVX), controle salina ácida (CTRL+) e controle negativo (CTRL-).

DIVISÃO DOS GRUPOS DE ANIMAIS	NÚMERO DE ANIMAIS
GRUPO PROGESTERONA E ESTRÓGENO P4+E2	06
GRUPO ESTRÓGENO E2	06
GRUPO PROGESTERONA P4	06
GRUPO VEÍCULO VEIC.	06
GRUPO OVARIECTOMIZADAS OVX	06
GRUPO SALINA ÁCIDA CTRL+	06
CONTROLE CTRL-	06
TOTAL DE ANIMAIS	42

A divisão e descrição das etapas que o grupo de animais foram submetidos segundo o grupo correspondente foi a seguinte:

- Grupo E2+P4: passaram pela remoção bilateral do ovário, receberam solução salina ácida no protocolo de indução de HMCD, receberam reposição hormonal de progesterona e estrógeno diluídos em seus veículos correspondentes, que eram administrados em momentos diferentes e em vias de administração também diferentes;

- Grupo E2: passaram pela remoção bilateral do ovário, receberam solução salina ácida no protocolo de indução de HMCD, recebeu o veículo aquoso correspondente à diluição da progesterona e reposição hormonal de estrógeno em concentração diluída em veículo oleoso, que eram administrados em momentos diferentes e em vias de administração também diferentes;

- Grupo P4: passaram pela remoção bilateral do ovário, receberam solução salina ácida no protocolo de indução de HMCD, recebeu reposição hormonal do hormônio

progesterona em concentração diluída no veículo aquoso e o veículo oleoso correspondente à diluição do estrógeno, que eram administrados em momentos diferentes e em vias de administração também diferentes;

- Grupo veic.: passaram pela remoção bilateral do ovário, receberam solução salina ácida no protocolo de indução de HMCD, não recebeu reposição hormonal, porém recebeu os veículos correspondentes ao tratamento hormonal;

- Grupo OVX: passaram pela remoção bilateral do ovário, receberam solução salina ácida no protocolo de indução de HMCD, não recebeu reposição hormonal e não receberam o veículo correspondente ao tratamento hormonal;

- Grupo CTRL+: não passaram pela remoção bilateral do ovário, receberam solução salina ácida no protocolo de indução de HMCD e;

- Grupo CTRL-: não passaram pela remoção bilateral do ovário, e receberam solução salina neutra no protocolo de indução de HMCD.

Os animais do grupo CTRL- possuíam função de controle negativo do modelo de HMCD, enquanto o grupo CTRL+ era o controle negativo da interferência da cirurgia de remoção ovariana no modelo de HMCD. O grupo OVX é o controle negativo do processo de injeção intraperitoneal e subcutânea, e o grupo Veic, controle negativo dos veículos adotadas na diluição hormonal. Os demais grupos P4, E2 e P4+E2 receberam duas injeções, subcutânea ou intraperitoneal, com o hormônio correspondente ou veículo, segundo o grupo pertencente. De forma mais sucinta, vide tabela 2.

Tabela 2: Divisão dos animais segundo o grupo e presença ou ausência de determinada etapa da série experimental. Sigla: Grupo progesterona e estrógeno (P4+E2), estrógeno (E2) progesterona (P4), veículo (Veic.), ovariectomizadas (OVX), controle salina ácida (CTRL+) e controle negativo (CTRL-).

GRUPO	CIRURGIA	INDUÇÃO DO MODELO DE HMCD	TRATAMENTO HORMONAL
P4+E2	Ovariectomia	Sim	P4+E2
E2	Ovariectomia	Sim	E2 e veículo aquoso
P4	Ovariectomia	Sim	P4 e veículo oleoso
VEIC	Ovariectomia	Sim	Veículo aquoso e veículo oleoso
OVX	Ovariectomia	Sim	Não
CTRL+	Não	Sim	Não
CTRL-	Não	Não	Não

4.1.2 Testes comportamentais

O processo de aclimação foi realizado para habituar os animais ao ambiente, ao manuseio dos avaliadores e aos aparelhos para avaliação comportamental. A princípio, os animais foram aclimatados para o manuseio experimental que era realizado durante a coleta do lavado vaginal e posterior avaliação do ciclo estral. Essa aclimação foi realizada durante 1 semana, sempre respeitando a faixa de horário pré-determinado (07h00 às 09h00).

Após a seleção somente de ratas identificadas com maturação sexual e peso adequado (200 a 250 g) e presença de ciclo estral regular, os animais foram aclimatados nos aparelhos que foram utilizados para a avaliação comportamental. Os animais eram mantidos em suas caixas na sala de comportamento por 20 minutos. Passado esse tempo, os mesmos foram aclimatados para o teste de sensibilidade mecânica cutânea e latência térmica, os quais necessitam aclimatização. Para o teste de sensibilidade mecânica, os animais eram deixados no equipamento por 30 minutos, enquanto eram realizadas estimulações na superfície plantar das patas traseiras a cada 15 minutos (Vivancos et al., 2004). Para a aclimação no equipamento para a avaliação da latência térmica (placa quente ou *hot plate*), o mesmo era mantido desligado e os animais permaneciam 05 minutos na plataforma por 3 vezes intercalados com intervalos de 10 minutos para o monitor de atividades não é necessário aclimatização prévia. Esse processo foi realizado durante os dois dias consecutivos, que antecedem o dia 0 do experimento.

4.1.2.1 Mensuração do limiar mecânico de retirada da pata

O limiar mecânica de retirada da pata foi avaliada por meio do *von Frey* eletrônico (modelo EFF 301, Insight®, Ribeirão Preto, SP, Brasil). O aparato é composto por uma caixa de amplificadores e um transdutor, o qual apresenta a capacidade de aferir valores entre 0 g a 1000 g sendo convertidos em *micro* Newton (0 mN a 10000 mN sob escala) ao multiplicar por 10. Para a realização do teste, os animais permaneceram no interior de um cubículo de acrílico sob uma superfície gradeada de acordo com a Figura 1.

Um estímulo foi aplicado nas patas traseiras, de forma contínua, com o transdutor até que o animal apresentasse o comportamento de retirada da pata. O estímulo foi repetido por cinco vezes e a média das três repetições mais próximas era registrada. Esse valor foi convertido para mN e determinado como latência mecânica de retirada da pata. A redução do valor foi interpretada como hiperalgesia mecânica (Vivancos et al., 2004).

Sendo excluídos os animais que apresentassem redução da latência de alguma das patas traseiras na avaliação basal ou na avaliação pós cirúrgica das séries experimentais que continham este procedimento.



Figura 1: Aparato de mensuração, von Frey eletrônico. Fonte: Arquivo do Laboratório de pesquisa em neurociências – UFS.

4.1.2.2 Mensuração da latência térmica

Para avaliação da latência térmica, foi utilizado o teste da placa quente (*hot plate*) (modelo EFF-361, Insight®, Ribeirão Preto, SP, Brasil) (Figura 2). Nesse teste, consideramos como latência de resposta, o tempo (em segundos) em que os animais permaneceram sobre uma chapa metálica aquecida ($55 \pm 0,5^\circ\text{C}$) até expressar uma resposta ao estímulo térmico. Essa reação foi caracterizada pelo comportamento de salto/pulo, levantar ou lambe as patas traseiras (Malmberg & Bannon, 1999). Como forma de preservação em evitar danos teciduais no animal, foi determinado um tempo de corte utilizado de 20 segundos.



Figura 2: Placa quente. Fonte: Arquivo do laboratório de pesquisa em neurociências - UFS

4.1.2.3 Mensuração da atividade locomotora

Para avaliação da função motora, foi utilizado o software “Monitor de Atividades IR” (modelo EP 149, Insight®, Ribeirão Preto, SP, Brasil). O aparelho é composto pelo software

juntamente com a caixa de atividades, com as dimensões de comprimento: 50 cm, altura: 48 cm, profundidade: 50 cm (Figura 3). Juntamente com a caixa de atividade é acoplado 6 barras com sensores infravermelhos, que são capazes de detectar a posição do animal na caixa durante a realização desse teste comportamental. Por meio desse equipamento foi captada a distância percorrida. Cada animal foi colocado individualmente na caixa de atividades, onde este permanecia durante 5 minutos iniciais sem a captação de movimentos, sendo que os 10 minutos seguintes foram registrados e arquivados como teste comportamental, a fim de descartar os movimentos referentes ao estresse quanto à mudança de ambiente e não há necessidade anterior de aclimação, pois o teste avalia a atividade locomotora livre. Neste teste comportamental, foi avaliado a atividade locomotora, sendo esta desempenhada por estruturas envolvidas em mecanismos supraespinhais e/ou cerebrais, diferentes das respostas relacionadas na modulação de respostas reflexivas, que estão no corno dorsal da medula (Le Bars et al., 2001).



Figura 3: Monitor de atividades. Fonte: Arquivo do Laboratório de Pesquisa em Neurociências - UFS.

4.1.3 Indução do modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa (HMCD)

Após o período de aclimação e seleção dos animais pela ausência de algia anterior pela avaliação das latências de retirada mecânica das patas, os animais passaram pela indução de hiperalgesia não inflamatória. O modelo proposto causa hiperalgesia crônica (com um platô de hiperalgesia por até 04 semanas) sem a indução de processos inflamatórios diretos e de maneira bilateral, similar ao processo de hiperalgesia muscular da fibromialgia em humanos. Esse modelo foi proposto por Sluka, onde os animais foram anestesiados com isoflurano inalatório (2-5%; Biochimico, Itatiaí – Rio de Janeiro, Brasil) e um volume de 100 μ L de salina estéril com pH 4,0 (ácida) calibrada em PHmetro, foi injetada no músculo gastrocnêmio

esquerdo no dia 0 (injeção 1) e, após o intervalo de 05 dias, os animais recebem novamente, o mesmo volume da solução salina ácida (injeção 2) (Figura 4). Este procedimento produz hiperalgesia mecânica bilateral persistente no músculo e na pata 24h após a aplicação de segunda injeção e persiste por um período de até 4 semanas (Sluka et al., 2001). Como comparativo, animais do grupo controle negativo receberam injeções de salina neutra (pH 6,8 - 7,0).

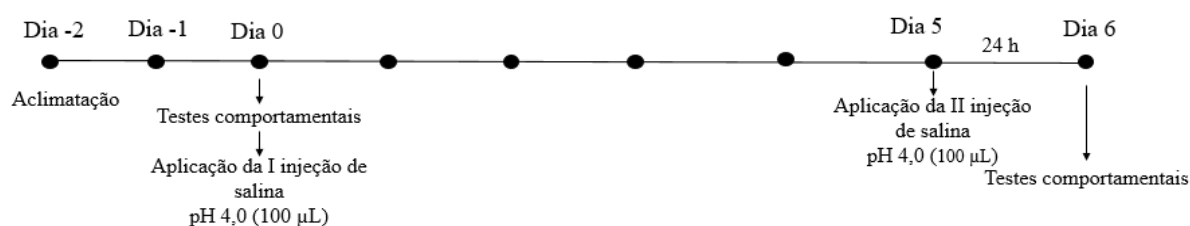


Figura 4: Delineamento experimental do modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa (HMCD).

4.1.4 Ovariectomia

Para a realização da cirurgia de remoção bilateral dos ovários, foram utilizadas somente as ratas que apresentaram ciclo estral regular. Antes do procedimento cirúrgico os animais receberam uma injeção intraperitoneal (ip) (1 mL/100 g de massa corporal) de ketamina (80 mg/kg) e xilasina (20 mg/kg) diluídas em salina isotônica. Após a comprovação do estado de anestesia do animal, o local da incisão foi tricotomizado e submetido a assepsia com álcool iodado. Com o animal em decúbito lateral, foi realizada uma pequena incisão através da pele e da musculatura abdominal entre o bordo superior da coxa e a última costela. Através desse orifício, era possível identificar o ovário que se encontra envolto de uma vasta camada de gordura. Realizava-se um ponto de ligadura entre a tuba uterina e as artérias ováricas a fim de evitar sangramentos excessivos, para então ser realizada a remoção dos ovários com uma tesoura cirúrgica. As tubas uterinas são reposicionadas dentro do abdômen e realizada a sutura local. Esse procedimento era realizado em ambos os lados de cada animal. Após o procedimento cirúrgico, os animais receberam uma dose profilática intramuscular de antibiótico (Pentabiótico Veterinário, Fort Dodge, Campinas, Brasil; 0,1 mL/animal), analgésico flunixinina meglumina via intramuscular (im) (2,5 mg/kg; Banamine; Schering-Plough, Rio de Janeiro, Brasil) além de receberem recuperação hídrica intradérmica com 1 mL de ringer lactato durante os 03 dias de isolamento em gaiolas individuais, até observação dos pontos cirúrgicos e ausência de hiperalgesia em decorrido da cirurgia.

4.1.4.1 Reposição hormonal

Os animais receberam reposição hormonal como forma de garantia que o hormônio aplicado era o prevalente na circulação sanguínea durante o decorrer do protocolo experimental. Esses animais pertenciam aos grupos progesterona (“P4”), grupo estrógeno (“E2”) e grupo progesterona e estrógeno (“P4+E2”) recebendo os hormônios equivalentes; enquanto que o grupo “veic” recebeu apenas o veículo onde os hormônios eram diluídos (Aquino et al., 2017; Franci et al., 2010; Markowska & Savonenko, 2002).

A divisão de reposição hormonal foi realizada da seguinte forma:

1) Grupo P4+E2: cipionato de 17 beta estradiol sc. (200µg/ml óleo de algodão; Pfizer, São Paulo, Brasil) e acetato de medroxiprogesterona ip (1mg/kg/mL de água; Pfizer, São Paulo, Brasil);

2) Grupo E2: cipionato de 17 beta estradiol sc. (200 µg/ml óleo de algodão; Pfizer, São Paulo, Brasil);

3) Grupo P4: acetato de medroxiprogesterona ip. (1mg/kg/mL de água destilada; Pfizer, São Paulo, Brasil) e

Grupo veic. (veículo): (animais controles) receberam injeção de solução salina com o pH 7,2 e o veículo (oleoso) para simular o protocolo de reposição hormonal.

O resultado do esfregaço vaginal foi acompanhado após três dias do início da reposição hormonal a fim de verificar a eficácia da reposição hormonal. Desta forma, a presença de células epiteliais cornificadas na citologia vaginal, indicava a eficácia da reposição hormonal. Por outro lado, a presença de uma predominância de leucócitos no esfregaço vaginal similar àquela encontrada na citologia de ratas que não recebiam a reposição hormonal indicava a retirada desses animais do procedimento experimental.

4.1.5 Delineamento experimental

4.1.5.1 Profilaxia hormonal em ratas ovariectomizadas submetidas ao modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa (HMCD).

Para a execução deste protocolo experimental os animais adultos que apresentavam três ciclos estrais regulares, passaram pelo período de aclimação (02 dias) dos instrumentos de avaliação comportamental, para que a aclimação não fosse um fator estressor na determinação do ciclo estral. Após selecionadas e aclimatadas, as fêmeas seguiam para a avaliação comportamental basal: nos testes de latência sensitivo cutâneo em ambas as patas (analgesímetro digital), sensibilidade térmica (*hot plate*) e livre locomoção (distância percorrida – monitor de atividades). No dia posterior (dia -6) foi realizado o procedimento de remoção

bilateral dos ovários (OVX), com recuperação de 05 dias. Neste período (05 dias) os animais eram mantidos em caixas individuais e observadas diariamente quanto à cicatrização, locomoção dentro das caixas, comportamento de observação para verificar a existência de estresse posterior à cirurgia, presença de hemorragias e controle de alimentação e ingestão de água. As fêmeas destinadas ao grupo CTRL- e CTRL+, não passaram pelo procedimento de OVX, sendo escolhidas de maneira aleatória.

Ao final deste período de acompanhamento (05 dias) os animais que passaram pela cirurgia foram avaliados quanto à latência sensitiva cutâneo e caso apresentassem uma diminuição na média comparado à latência basal, o animal era excluído por motivos éticos. No dia seguinte (dia 0) iniciava-se o protocolo de dupla injeção de salina ácida (dia 0 e posterior dia 05) no músculo gastrocnêmio esquerdo causando um pico de hiperalgesia ipsilateral e contralateral no dia da avaliação final (dia 06) perdurando por até 04 semanas.

O protocolo de reposição hormonal foi iniciado após o período de recuperação total da cirurgia de remoção dos ovários (05 dias) no dia -1 e se estendendo até o final do protocolo, como representado na figura 5. Acontecendo diariamente entre o intervalo de 07h00 às 09h00.

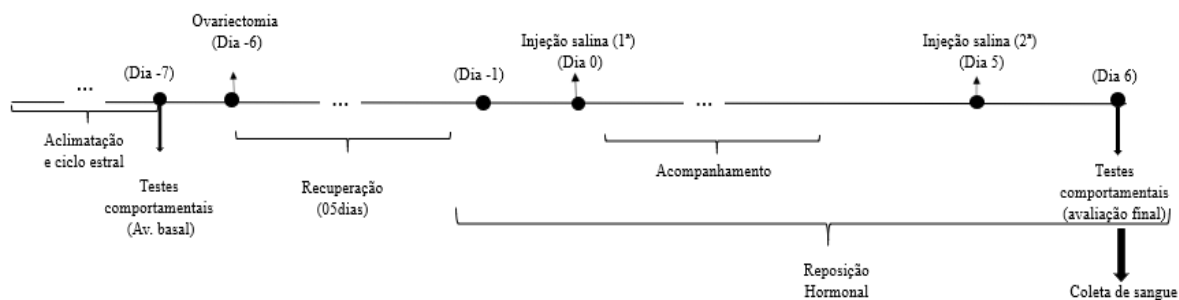


Figura 5: Delineamento experimental do protocolo de profilaxia hormonal em ratas ovariectomizadas submetidas ao modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa (HMCD).

4.1.6. Análise estatística

Os resultados foram analisados através do software GrapahPad Prism 6.0 (GraphPad Software®, San Diego, CA, EUA) e expressos em intervalo interquartil e mediana. Primeiramente foi realizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para a análise estatística da interferência dos hormônios sexuais no modelo de hiperalgesia muscular crônica, foram analisados o momento final e o momento basal aos procedimentos descritos, usando o teste estatístico utilizado foi Teste *t*. Ambas análises foi adotado valor significativo de $p < 0,05$

4.2 Métodos do estudo - Efeito de diferentes tratamentos hormonais na dor e qualidade de vida de mulheres com fibromialgia: revisão sistemática

O protocolo desta revisão sistemática foi registrado no Registro Prospectivo Internacional de Revisões Sistemáticas (PROSPERO), sob o número CRD42016033836 ou pelo link: http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/display_record.asp?ID=CRD42016033836. Foi utilizado o conjunto de itens a serem avaliados sugerido no *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analysis* (PRISMA) para avaliar os estudos aleatorizados.

A questão norteadora e formadora da estratégia PICOT da revisão foi: “Qual é o efeito da terapia hormonal na dor de mulheres com fibromialgia?”

4.2.1 Critério de inclusão

Os critérios de inclusão estavam de acordo com a estratégia PICOT da seguinte forma:

Participantes: apenas pacientes do sexo feminino com diagnóstico de FM foram incluídos nesta revisão, com faixa etária referente a adulto (18 – 65 anos).

Intervenção: tratamento hormonal específico para mulheres com diagnóstico de FM.

Grupo de comparação: comparado com placebo ou outro tratamento farmacológico usual para sintomas e sinais de FM.

Medidas de desfecho: os desfechos primários analisados foram intensidade de dor, latência de tolerância à dor e sensibilidade ao toque nos pontos dolorosos. Como desfechos secundários, avaliamos a interferência na fadiga, a qualidade de vida, a qualidade de sono e a função cognitiva.

Tipo de estudo: apenas ensaios clínicos controlados ou do tipo *cross-over* foram incluídos no estudo, por serem considerados também um ensaio clínico.

4.2.2 Seleção de estudos e extração de dados

A pesquisa foi realizada de março de 2020 até setembro de 2020, com atualizações de busca a cada 06 meses, sendo a última atualização em julho de 2022. Um total de sete bancos de dados eletrônicos e internacionais foram usados para realizar as pesquisas: *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (MEDLINE), PubMed, *Excerpta Medica database* (EMBASE), *Cochrane Central Register of Controlled Trials* (CENTRAL), *SPORTDiscus*, PsycINFO e PEDro.

Os bancos de dados foram pesquisados usando os seguintes termos (termos Mesh) em inglês: “*fibromyalgia*”, “*hormone replacement therapy*”, “*hormone*”, “*treatment outcome*” e “*drug therapy*”. Esses termos foram combinados em cinco estratégias de busca: 1. “*fibromyalgia*” AND “*hormone replacement therapy*” AND “*Drug therapy*”; 2. “*fibromyalgia*” AND “*drug therapy*”; 3. “*fibromyalgia*” AND “*hormone replacement therapy*”; 4.

"fibromyalgia" AND "hormone" AND "treatment outcome"; 5. "fibromyalgia" AND "drug therapy" AND "hormone". Essas estratégias foram adaptadas para as bases de dados listadas sem filtros específicos. Não houve restrição para data de publicação ou idioma. Após a conclusão de todas as buscas nas bases de dados listadas, organização por ordem alfabética, exclusão das duplicatas, a seleção dos artigos foi feita de acordo com os critérios de inclusão. A seleção foi feita inicialmente pela leitura dos títulos, seguida pela leitura do resumo e, por fim, o texto na íntegra, sendo eliminados os textos que não se adequassem aos critérios pré-estabelecidos em cada fase de leitura (título, resumo e texto na íntegra).

4.2.3 Avaliação de qualidade e viés de risco

A qualidade metodológica de cada estudo foi avaliada de forma independente por dois avaliadores, com base na ferramenta da Colaboração Cochrane para avaliar o risco de viés. A avaliação seguiu sete domínios: viés de seleção (geração de sequência de aleatorização e ocultação de alocação), viés de desempenho (mascaramento dos participantes e profissionais), viés de detecção (mascaramento do avaliador de resultado), viés de atrito (dados de resultados incompletos ou a justificativa de perda), viés de relato (relato de desfecho seletivo) e a existência de financiamento privado. Em todos os estudos, cada item foi classificado de acordo com três categorias: baixo risco, alto risco e risco incerto nos estudos em que houve ausência de descrição clara desses domínios avaliados. Para a elucidação do risco de viés em alguns domínios, os autores foram consultados via contato (endereço eletrônico) informado no artigo em outubro de 2020, sendo novamente contactados em maio de 2022. Todas as análises foram realizadas usando *Revman 5.3®*.

5 RESULTADOS

5.1 Resultados do estudo profilaxia hormonal em ratas ovariectomizadas submetidas ao modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa

5.1.1 Validação do modelo de HMCD em ratas fêmeas

Os valores da hipersensibilidade ao estímulo de ambas as patas traseiras dos animais do grupo CTRL+ e CTRL- são indicativos da efetividade do modelo proposto e com eficácia também estabelecida no grupo de animais que foi o foco do nosso trabalho, as fêmeas.

Na tabela a seguir (tabela 3) estão apresentados os resultados da latência sensitiva cutâneo de ambas as patas traseiras dos grupos controles, nos dias 0 (latência registrado antes da primeira injeção de salina) e dia 6 (24 horas após a segunda injeção de salina). Sendo observado redução significativa da latência de retirada de ambas as patas em relação à avaliação anterior (dia 0) nas fêmeas do grupo CTRL+ (pata esquerda $p=0,004$ e pata direita $p=0,048$), indicando que o modelo proposto por Sluka (Sluka et al., 2001) causa hiperalgesia muscular crônica difusa também em ratas adultas. Na representação gráfica (figura 6), pode-se observar a diminuição da média do grupo CTRL+ na avaliação final em relação a avaliação basal.

Tabela 3 – Valores da média ($\pm$ erro padrão da média) latência sensitivo cutâneo (mN) no dia 0 (anterior a primeira injeção) e dia 6 (24 horas após a segunda injeção) nos grupos CTRL+ (salina ácida) e CTRL- (salina neutra).

GRUPOS	PATA ESQUERDA			PATA DIREITA		
	Dia 0	Dia 6	Valor de p	Dia 0	Dia 6	Valor de p
CTRL + (N=6)	645 $\pm$ 71	328 $\pm$ 47*	0,004	604 $\pm$ 76	358 $\pm$ 78*	0,048
CTRL- (N=6)	625 $\pm$ 53	538 $\pm$ 31	0,192	640 $\pm$ 91	504 $\pm$ 50	0,223

* $p<0,05$ quando comparado ao dia anterior (dia 0).

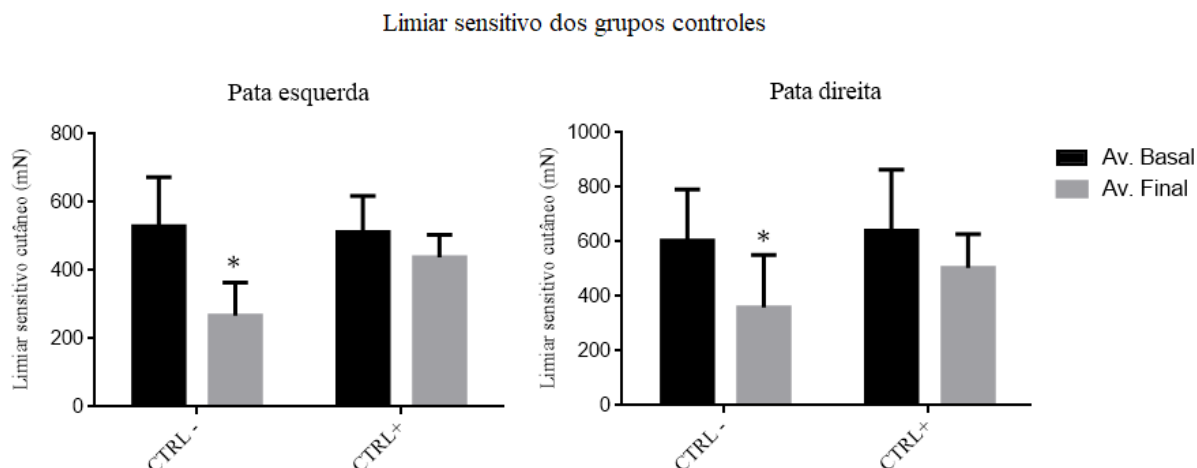


Figura 6: Representação gráfica da média e desvio padrão das latências sensitivas cutâneas pertencentes ao grupo controle salina ácida (CTRL+ salina ácida) e do controle negativo (CTRL- salina neutra) no momento de avaliação basal (dia 0) e final (dia 6). $P < 0,05$ teste T.

5.1.2 Profilaxia hormonal em ratas ovariectomizadas submetidas ao modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa

5.1.2.1 Limiar sensitivo cutâneo

As fêmeas dos grupos com reposição hormonal de ambos hormônios (P4+E2) (ipsilateral $p=0,55$; contralateral $p=0,97$), estrógeno (E2) (ipsilateral $p=0,61$; contralateral $p=0,26$) e de progesterona (P4) (ipsilateral $p=0,30$; contralateral $p=0,63$) não apresentaram redução significativa da latência sensitiva cutâneo na avaliação final em relação a avaliação basal. Os grupos Veic. e OVX, que passaram pela cirurgia de remoção ovariana e não receberam reposição hormonal também não apresentaram redução do limiar sensitivo cutâneo na pata esquerda ($p=0,60$ e $p=0,13$ respectivamente) e também na pata direita ($p=0,33$ e $p=0,81$ respectivamente), mesmo após a indução do modelo de HMCD, como pode ser observado na tabela a seguir (tabela 4) e na figura 7A e 7B.

Tabela 4 – Média do limiar sensitivo cutâneo (mN) ($\pm$ erro padrão da média) na avaliação basal e na avaliação final nos grupos experimentais progesterona e estrógeno (P4+E2) estrógeno (E2), progesterona (P4), veículo (Veic.) e com remoção cirúrgica dos ovários (OVX).

Grupo	Pata esquerda			Pata direita		
	Av. basal	Av. final	Valor de p	Av. basal	Av. final	Valor de p
P4+E2 (n=6)	507 $\pm$ 118	431 $\pm$ 41	0,55	378 $\pm$ 45	376 $\pm$ 68	0,97
E2 (n=6)	405 $\pm$ 49	366 $\pm$ 56	0,61	465 $\pm$ 38	378 $\pm$ 62	0,26
P4 (n=6)	449 $\pm$ 74	356 $\pm$ 43	0,30	334 $\pm$ 49	291 $\pm$ 71	0,63
Veic (n=6)	434 $\pm$ 63	309 $\pm$ 41	0,60	486 $\pm$ 66	402 $\pm$ 48	0,33
OVX (n=6)	469 $\pm$ 41	420 $\pm$ 80	0,13	445 $\pm$ 95	415 $\pm$ 82	0,81

* $p < 0,05$ quando comparado à avaliação basal

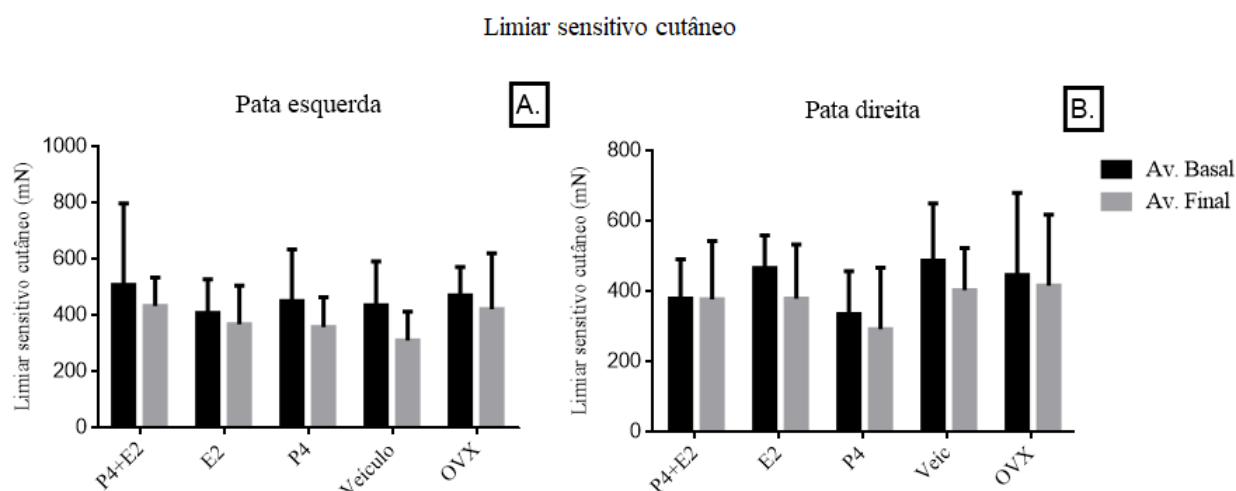


Figura 7: Representação gráfica da média e desvio padrão das latências sensitivas cutâneas da pata esquerda (A) e da pata direita B pertencentes ao grupo progesterona e estrógeno (P4+E2) estrógeno (E2), progesterona (P4), veículo (Veic.) e com remoção cirúrgica dos ovários (OVX). no momento de avaliação basal e final. $P < 0,05$ teste T.

5.1.2.2 Atividade locomotora

Para a atividade locomotora, mensurada como distância percorrida, os grupos de animais que apresentaram alteração entre as avaliações finais e basal foram os grupos: P4 ($p = 0,02$), Veic. ($p = 0,005$) e OVX ($p = 0,008$), cujas médias na avaliação final diminuíram de forma significativa quando se comparada as médias da avaliação inicial. Os demais grupos não apresentaram diferença significativa entre a avaliação final e basal, P4+E2 ($p = 0,54$), E2 ($p = 0,08$), CTRL+ ($p = 0,11$) e CTRL- ($p = 0,08$) (tabela 5 e figura 8).

Tabela 5: Média ($\pm$ erro padrão da média) da distância percorrida (em mm) na avaliação basal e na avaliação final nos grupos progesterona e estrógeno (P4+E2), estrógeno (E2), progesterona (P4), veículo (Veic.), com remoção cirúrgica dos ovários (OVX) e nos grupos controle (CTRL+ e CTRL-).

Grupo	Avaliação basal	Avaliação final	Valor de p
P4+E2	9578 $\pm$ 1112	8406 $\pm$ 1508	0,54
E2	10070 $\pm$ 1633	5928 $\pm$ 1410	0,08
P4	11152 $\pm$ 657	6778 $\pm$ 1568*	0,02
Veic	8053 $\pm$ 765	3093 $\pm$ 985*	0,005
OVX	8313 $\pm$ 1305	2670 $\pm$ 1111*	0,008
CTRL+	9874 $\pm$ 1304	6315 $\pm$ 1579	0,11
CTRL-	9893 $\pm$ 958	6615 $\pm$ 1491	0,09

* $p < 0,05$ quando comparado à avaliação basal

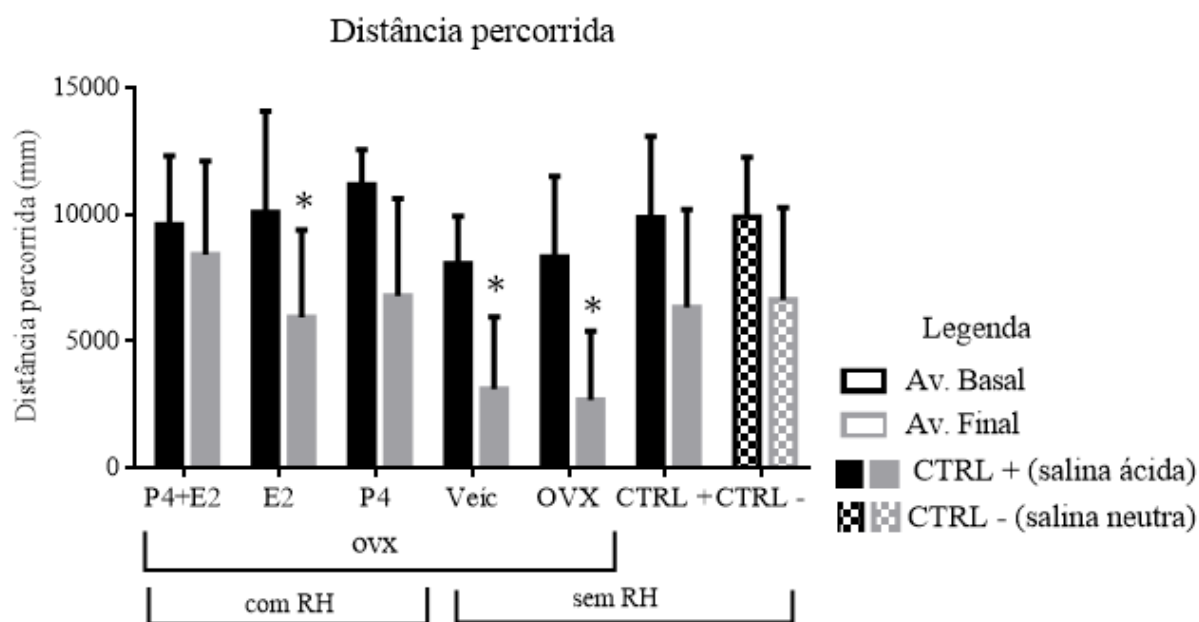


Figura 8: Representação gráfica da média e desvio padrão das distâncias percorridas dos animais pertencentes ao grupo progesterona e estrógeno (P4+E2) estrógeno (E2), progesterona (P4); que receberam reposição hormonal (com RH), veículo (Veic.), com remoção cirúrgica dos ovários (OVX) e grupos controle (CTRL+ e CTRL-), sem a reposição hormonal (sem RH) no momento de avaliação basal e final. $P < 0,05$ teste T.

5.1.2.3 Latência térmica

Na análise de latência térmica, representada por segundos (s), observamos que os animais dos grupos controles não apresentaram diferença significativa entre a avaliação final e basal ($p > 0,9$ em ambos os grupos). sendo que o modelo adotado de HMCD pode não alterar a

latência térmica. O grupo OVX indicou diferença significativa entre as avaliações ($p=0,003$). Enquanto os demais grupos não indicaram redução estatisticamente significativa da latência térmica, independente da reposição hormonal adotado (P4+E2 $p>0,9$; E2 $p=0,33$ e P4 $p=0,11$) ou administração dos veículos (Veic. $p=0,44$), como pode ser visto na tabela 6 e na figura 9.

Tabela 6: Média ($\pm$ erro padrão da média) da latência térmica na avaliação basal e na avaliação final nos grupos progesterona e estrógeno (P4+E2), estrógeno (E2), progesterona (P4), veículo (Veic.), com remoção cirúrgica dos ovários (OVX) e nos grupos controle (CTRL+ e CTRL-).

Grupo	Avaliação basal	Avaliação final	P
P4+E2	5,5 $\pm$ 0,7	5,5 $\pm$ 1,2	>0,9
E2	4,8 $\pm$ 1,3	6,8 $\pm$ 1,4	0,33
P4	5,1 $\pm$ 0,4	6,6 $\pm$ 0,7	0,11
Veic	4,3 $\pm$ 0,3	3,5 $\pm$ 0,9	0,44
OVX	3,5 $\pm$ 0,4	1,6 $\pm$ 0,2*	0,003
CTRL+	3,3 $\pm$ 0,3	3,3 $\pm$ 0,5	>0,9
CTRL-	5 $\pm$ 0,4	5 $\pm$ 0,5	>0,9

* $p<0,05$ quando comparado à avaliação basal

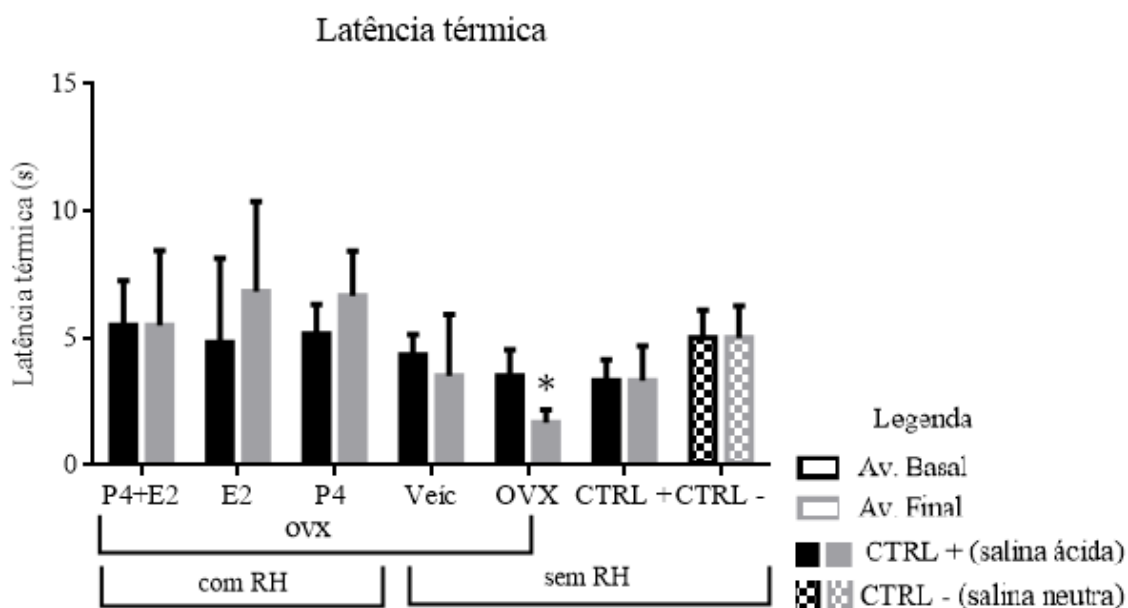


Figura 9: Representação gráfica da média e do desvio padrão da latência térmica dos animais pertencentes ao grupo progesterona e estrógeno (P4+E2) estrógeno (E2), progesterona (P4); que receberam reposição hormonal (com RH), veículo (Veic.), com remoção cirúrgica dos ovários (OVX) e grupos controle (CTRL+ e CTRL-), sem a reposição hormonal (sem RH) no momento de avaliação basal e final. $P<0,05$ teste T.

5.1.3. Comparação entre as médias das avaliações comportamentais

É possível perceber que as médias nos diferentes instrumentos de avaliação comportamental apresentaram diferenças entre as avaliações final e basal. Com objetivo de identificar, e possivelmente quantificar a diferença entre as avaliações basal e final, esses gráficos foram plotados.

Os gráficos referentes às latências sensitivas cutâneas, tanto pata esquerda quanto pata direita, as diferenças foram calculadas com a avaliação basal menos a avaliação final. Indicando valores positivos na diferença entre as médias, pois as médias basais são maiores que as médias finais (figuras 10A e 10B). Como resultado o grupo CTRL+ foi o único a ter diferença significativa ($P=0,001$) entre as avaliações, porém todos os grupos apresentaram uma redução na latência se comparados entre as avaliações, indicando um aumento na sensibilidade cutânea de ambas as patas.

Nos instrumentos de avaliação comportamental da distância percorrida e latência térmica, as diferenças foram baseadas nos valores de média no momento final menos os valores da média na avaliação basal. Para o resultado da distância percorrida (figura 10C), os valores da diferença foram negativos, ou seja, as médias finais foram menores que as médias iniciais, evidenciando que entre as avaliações teve diferença significativa ($P<0,0001$) nos grupos OVX, Veic, P4 e E2.

Para a latência térmica (figura 10D), a diferença foi baseada na média da avaliação final menos a avaliação basal, onde a maioria dos resultados foram com medias próximas ao zero, indicando não haver diferença significativa.

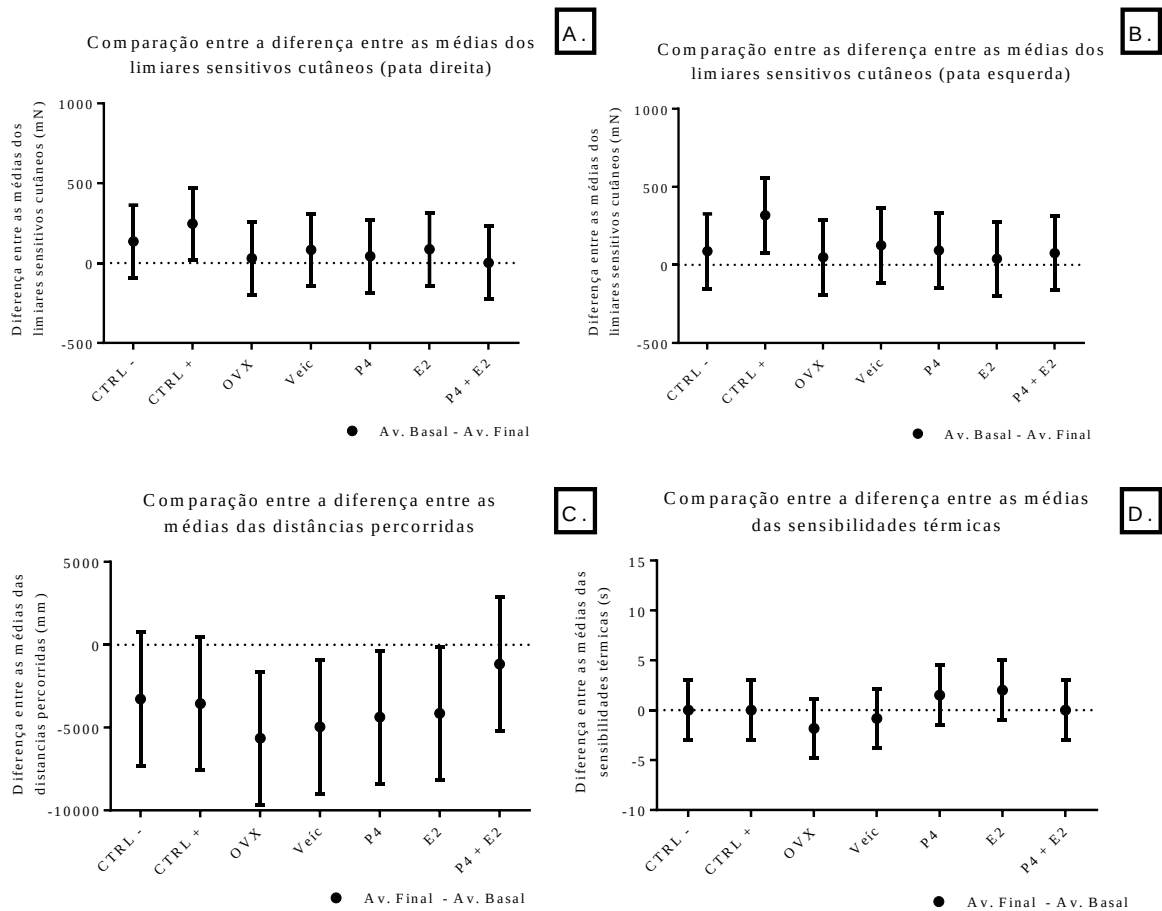


Figura 10: Representação gráfica da diferença entre as médias dos testes comportamentais latência sensitivo cutâneo (expresso em mm) (A. pata direita/ B. pata esquerda), distância percorrida (expressa em mm) (C.) e latência térmica (determinado por s) (D.) nos grupos progesterona e estrógeno (P4+E2) estrógeno (E2), progesterona (P4), veículo (Veic.), com remoção cirúrgica dos ovários (OVX) e grupos controle (CTRL+ e CTRL-).

5.2 Resultados de - Efeito de diferentes terapias hormonais na dor e qualidade de vida de mulheres com fibromialgia: revisão sistemática

5.2.1 Descrição dos estudos

Inicialmente, foram encontrados 3.803 artigos na literatura nas bases acessadas de março de 2020 até setembro de 2020, com atualizações de busca a cada 06 meses. As cinco estratégias de buscas nas bases de busca de artigos científicos, totalizou 3803 artigos, sendo que a base MEDLINE foi a base que com maior resultado de buscas (total de 2130 produções científicas). Após as exclusões por duplicatas, 2214 foram analisados segundo os critérios de exclusão.

O primeiro critério de exclusão foram os textos científicos como revisões, anais de congresso, comentários e relatos de caso, sendo um total de 1372 artigos excluídos. O segundo critério de exclusão foram artigos que associavam a FM com outra doença (depressão, endometriose, disfunção temporomandibular, entre outras) correspondendo à 286 publicações excluídas. Após estas exclusões resultaram 556 artigos, destes foram excluídos 137 por serem publicações com caracterização dos pacientes com FM; além da exclusão de 385 artigos por avaliarem outras formas de tratamento aos sintomas da FM, tais como anti-inflamatórios, antidepressivos, além de compostos naturais.

Totalizando 34 artigos sobre tratamento hormonal para mulheres com FM que foram avaliados na íntegra para atender aos critérios propostos pela estratégia PICOT. Apenas quatro atenderam aos critérios de elegibilidade, pois 17 incluíam homens na amostra, nove não respeitaram a faixa etária estabelecida (18-65 anos) e outros quatro não remetiam a FM, mas a outra doença com dor crônica. O motivo mais frequente de exclusão do estudo foram os artigos de revisões, anais de congressos e relatos de caso. O esquema da seleção dos estudos pode ser visto na figura 11.

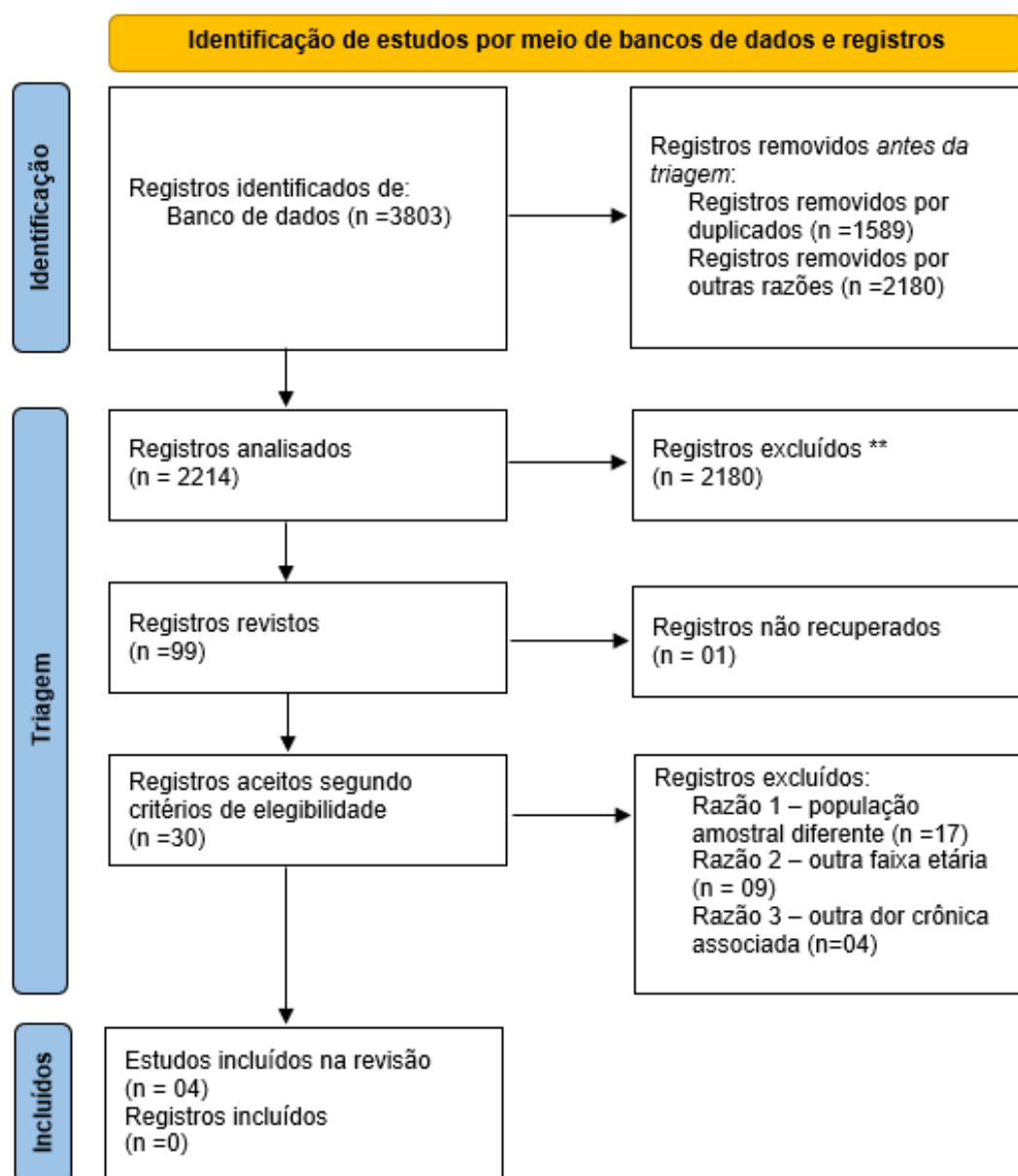


Figura 11: Fluxograma de seleção de artigos (ensaios clínicos) sobre o uso de terapia de reposição hormonal em pacientes com fibromialgia.

5.2.2 Características dos estudos incluídos

Dentre os quatro estudos selecionados (publicados entre 1998 e 2014), todos tiveram como critério de inclusão de pacientes o diagnóstico de fibromialgia, seguindo as recomendações do *American College of Rheumatology* (ACR). As amostras foram compostas exclusivamente por mulheres nos quatro estudos (Bennett et al., 1998; Cuatrecasas et al., 2012; Stening et al., 2011; Zanette et al., 2014). O recrutamento para o estudo de Stening et al. (2011) aconteceu em um centro de referência de dor, totalizando 25 pacientes com idade entre 40 e 60 anos; no estudo de Bennett et al. (1998), foram recrutadas 45 pacientes com idade entre 49 e 60

anos, apesar de não informar o modo de recrutamento; Zanette et al. (2014) incluíram 63 mulheres com média de idade de 48 anos, recrutando pacientes ambulatoriais via jornal. No estudo desenvolvido por Cuatrecasas et al. (2012), o procedimento para recrutamento de 120 participantes não foi informado. Assim, totalizou-se uma amostra de 253 mulheres que concluíram os protocolos dos ensaios clínicos sobre terapia de reposição hormonal na FM.

Os critérios de inclusão de participantes de cada estudo foram discrepantes entre si: Bennett et al., (1998), além de considerarem os critérios diagnósticos para FM de 1990, testaram o nível de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) <160 ng/mL, pois esse fator participa da via final de processamento do hormônio de crescimento; sem terapia prévia com hormônio de crescimento e ausência de doença hipofisária conhecida. Para o desenvolvimento do trabalho de Stening et al. (2011), as mulheres deveriam estar em fase de pós-menopausa há, pelo menos, seis meses, sem uso de tratamento hormonal nos últimos três meses e exames de mamografia normais durante o ano anterior. Cuatrecasas et al. (2012) incluíram no estudo pacientes com diagnóstico de FM há mais de 1 ano, pontuação do Questionário de Impacto de Fibromialgia (FIQ) superior a 75 ng/mL, valor de IGF-1 sérico de base <150 ng/mL e estado pré-menopausa ou pós-menopausa. No estudo de Zanette et al. (2014), as pacientes foram solicitadas a classificar a dor em uma escala visual analógica (VAS) de 100 pontos (em que 0 se remete a ausência de dor e 100 reporta a “pior dor já sentida”), esta escala era uma avaliação diária e ao fim de pelo menos quatro avaliações das sete, a média do paciente deveria ter pontuação de 50 pontos (dor moderada) para este ser inserido no grupo de participantes aptos ao estudo.

O tempo de administração dos hormônios variou de seis semanas a 18 meses. A menor duração de tratamento se deu no trabalho de Zanette et al. (2014), correspondendo a seis semanas em uso de melatonina oral (10 mg), cujo hormônio é produzido pelo organismo com principal função da regulação de sono, seguido por Stening et al. (2011), com 8 semanas de administração transdérmica de 17β -estradiol (50 μ g/dia); Bennett et al., (1998) administraram dose diária de GH (0,0125 mg/kg) via injeções subcutâneas por um mês, seguido por dose ajustada nos oito meses seguintes pelo resultado da taxa de IGF-1; e Cuatrecasas et al. (2012) administraram GH via subcutânea (0,006 mg/kg/dia) por 12 meses, com dose ajustada por indicação de endocrinologista.

Para a divisão dos grupos controle e grupos avaliados os pacientes foram aleatorizados e divididos em grupos de acordo com a metodologia proposta. Stening et al. (2011), Cuatrecasas et al. (2012) e Bennett et al. (1998) tiveram grupo tratado e grupo placebo com número semelhante de participantes. Zanette et al. (2014) trabalhou com divisão em três grupos,

recebendo: melatonina, amitriptilina (antidepressivo usado como opção no tratamento de pacientes com FM) ou amitriptilina mais melatonina com o mesmo número de participantes, aleatorizados por envelope lacrado. Em Bennett et al. (1998) e Cuatrecasas et al. (2012) a aleatorização ocorreu por tabela, Stening et al. (2011) afirmaram que os pacientes foram aleatorizados, mas não informaram o método utilizado.

O processo de mascaramento dos investigadores e dos participantes foi adequadamente descrito apenas em dois estudos (Bennett et al. 1998; Zanette et al. 2014). Outros dois artigos indicaram o uso desta metodologia, mas sem descrição de detalhes (Stening et al. 2011, Cuatrecasas et al. 2012).

Para acompanhar a evolução dos pacientes, foram realizadas as avaliações basais e periódicas, segundo cada protocolo determinado no estudo. Bennett et al. (1998) avaliaram capacidade funcional, dor, depressão, ansiedade, fadiga, rigidez, capacidade de trabalhar, faltas no trabalho e bem-estar geral por meio do Questionário de Impacto da Fibromialgia (FIQ-10) no momento basal e no intervalo de 3, 6 e 9 meses junto com a avaliação dos *tender points*, segundo critério de FM (Wolfe et al. 1990) e os níveis de IGF-1 e anticorpos para o hormônio de crescimento humano por meio de amostras sanguíneas, enquanto que o acompanhamento do peso, frequência cardíaca, pressão arterial, edema periférico, sintomas da síndrome do túnel do carpo, reações adversas aconteciam com a periodicidade mensal.

Stening et al. (2011) avaliaram os resultados do protocolo por meio das avaliações que foram basais, ao final do tratamento (8 semanas) e 20 semanas após o término do tratamento. Utilizaram um mapa de dor modificado e testes sensoriais quantitativo usado para medir as latências de percepção de calor e frio, latência de dor por calor e frio, tolerância à dor por calor e frio e latências de dor por pressão, além de intensidade da dor pela escala visual de dor; amostras de sangue venoso para mensurar as concentrações séricas de 17β -estradiol e de hormônio folículo-estimulante (FSH).

O acompanhamento do estudo de Cuatrecasas et al. (2012) se deu ao longo de 18 meses (basal, 1, 3, 6, 7, 9, 12, 13, 15 e 18 meses), com avaliação da intensidade de dor, número de *tender points* pelo critério de classificação de 1990 (Wolfe et al. 1990), disposição física, bem estar geral, fadiga, ansiedade, depressão, cansaço e com o instrumento FIQ; análise de qualidade de vida geral pelo teste de dimensões EuroQol 5 (EQ5D) e nível de dor pela VAS; dosagens hormonais de IGF-1, hormônio estimulador da tireoide (TSH), tiroxina (T4 livre), triiodotironina (T3 livre), cortisol. Zanette et al. (2014) avaliaram os sintomas depressivos por meio da Escala Depressiva de Hamilton, transtornos psiquiátricos por Entrevista Clínica Estruturada para Distúrbios do Eixo I do DSM-IV (SCID-I), pensamento catastrófico devido à

dor crônica usando a Escala de Catastrofização da Dor para a população brasileira (B-PCS), qualidade do sono por meio do Índice de Qualidade do Sono de *Pittsburgh*, além de diários de intensidade de dor (VAS) no momento basal e na última semana do tratamento (semana 6). Essas informações podem ser encontradas de forma resumida na tabela 7.

Tabela: características dos estudos incluídos (parte 1)

Autor (ano)	Terapia de reposição (dosagem) (duração)	Amostra (Divisão dos grupos)	Tipo de estudo (protocolo)	Aleatorização	Frequência de avaliação	Desfechos avaliados	Efeitos adversos
Bennett et al. (1998)	Hormônio do crescimento -GH Via: injeção subcutânea Dose: 0,0125 mg/kg (mês) Duração: 9 meses (ajustadas mensalmente)	45 Grupo tratado (GH) n= 22 Grupo placebo n= 23	aleatorizados e duplo cego	Programa de computador	Pré tratamento, 3, 6 and 9 meses do protocolo	Grupo GH aumentou os níveis de IGF-1, diminuiu a sensibilidade nos <i>tender points</i> e aumentou a qualidade de vida	Nenhuma reação adversa que pudesse ser atribuída às injeções de GH foi relatada
Stening et al. (2011)	17 β -estradiol Via: injeção transdérmica Dose: 50 μ g/dia Duração: 8 semanas	25 Grupo tratado n=15 Grupo placebo n= 10	Ensaio clínico com duplo cego	Não informado	Semanalmente, por 20 semanas após o fim do tratamento	Grupo 17 β -estradiol aumentou os níveis de estradiol e não houve diferença significativa na dor auto estimada e nos testes sensoriais	Dor no seio, dor similar a dismenorreia, sangramento vaginal e irritação na pele

Tabela: características dos estudos incluídos (parte 2)

Autor (ano)	Terapia de reposição (dosagem) (duração)	Amostra (Divisão dos grupos)	Tipo de estudo (protocolo)	Aleatorização	Frequência de avaliação	Desfechos avaliados	Efeitos adversos
Cuatrecasas et al. (2012)	GH Dose: 0,006 mg/kg/dia Via: injeção subcutânea Duração: 18 meses	120 <u>Fase cega (6 meses)</u> Hormônio e terapia tripla n=60 Grupo controle placebo e terapia tripla n=60 <u>Fase aberta (12 meses)</u> hormônio e terapia tripla n=120	Semi cross-over	Tabela de aleatorização	Nos meses 1, 3, 6, 7, 9, 12, 13, 15 e 18.	No final dos 6 meses iniciais, o grupo tratado diminuiu os pontos sensíveis, a intensidade da dor, pontuação FIQ, EQ5D e escala VAS.	Dor de cabeça, edema, parestesia, insônia, síndrome do túnel carpo, infecção do trato urinário, dor nas costas e outros efeitos.

Tabela: características dos estudos incluídos (parte 3)

Autor (ano)	Terapia de reposição (dosagem) (duração)	Amostra (Divisão dos grupos)	Tipo de estudo (protocolo)	Aleatorização	Frequência de avaliação	Desfechos avaliados	Efeitos adversos
Zanette et al. (2014)	Melatonina Dose: 10 mg Via: oral Duração: 6 semanas	N=63 Grupo melatonina (<i>m</i>) n=21 Grupo amitriptilina (<i>a</i>) n= 21 Grupo melatonina+amitriptilina (<i>m+a</i>) n= 21	Aleatorizados, duplo cego, falso duplo cego, ensaio clínico com três grupos paralelos.	Envelopes selados	Diariamente	Melatonina isolada ou associada a amitriptilina <i>diminuiu</i> e melhorou a qualidade de sono, a qualidade de vida, aumentou a latência de dor por pressão, sem alteração do número de <i>tender points</i>	Boca seca, sedação, constipação, ortostasia e ganho de peso foram comuns em ambos os grupos

Tabela 7: Abreviações: µg: micrograma; EQ5D: EuroQol 5; FIQ: Questionário de impacto da Fibromialgia; IGF-1: Fator de crescimento similar a insulina tipo 1; GH: hormônio do crescimento; mg/kg: micrograma por quilogramas; mg/kg/dia: micrograma por quilograma por dia; n= quantidade da amostra; VAS: Escala Visual Analógica.

5.2.3 Risco de viés nos estudos incluídos

Os estudos (4/4) (Bennett et al., 1998; Cuatrecasas et al. 2012; Zanette et al. 2014; Stening et al. 2011) apresentaram baixo risco de viés quanto à aleatorização. Para o tópico sigilo de alocação e mascaramento do participante e profissional de avaliação de desfecho, os resultados foram os mesmos para ambos os critérios (4/4), em que os estudos informaram a ocultação da alocação e sobre o mascaramento classificando-os com baixo risco (Bennett et al., 1998; Cuatrecasas et al. 2012; Zanette et al., 2014; Stening et al. 2011).

Quanto ao mascaramento da avaliação do desfecho (2/2), dois estudos apresentaram que os avaliadores não possuíam ligação com o estudo (Bennett et al., 1998; Zanette et al. 2014), enquanto os demais não relataram e os desfechos podem ser tendenciosos (Cuatrecasas et al., 2012; Stening et al., 2011). Ao avaliar os dados de resultados incompletos, a maioria (3/4) obteve baixo risco de viés, pois os autores assumiram a perda de n amostral, porém justificaram e reorganizaram os grupos amostrais antes da finalização do protocolo (Bennett et al., 1998; Cuatrecasas et al., 2012; Stening et al., 2011), porém Zanette et al., (2014) (1/4) indica a perda de participantes e a realocação não foi aleatória. Sobre a existência de dados seletivos anteriores, todos (4/4) os estudos apresentaram baixo risco de viés (Bennett et al., 1998; Cuatrecasas et al., 2012; Stening et al., 2011; Zanette et al., 2014), por apresentar protocolo definido ou estudo anterior. Em relação ao financiamento da obra, apenas um estudo (Cuatrecasas et al. 2012) (1/4) indicou receber financiamento de empresa privada, os demais (3/4) não apresentaram quaisquer informações. Esses dados podem ser visualizados nas figuras 10 e 11.

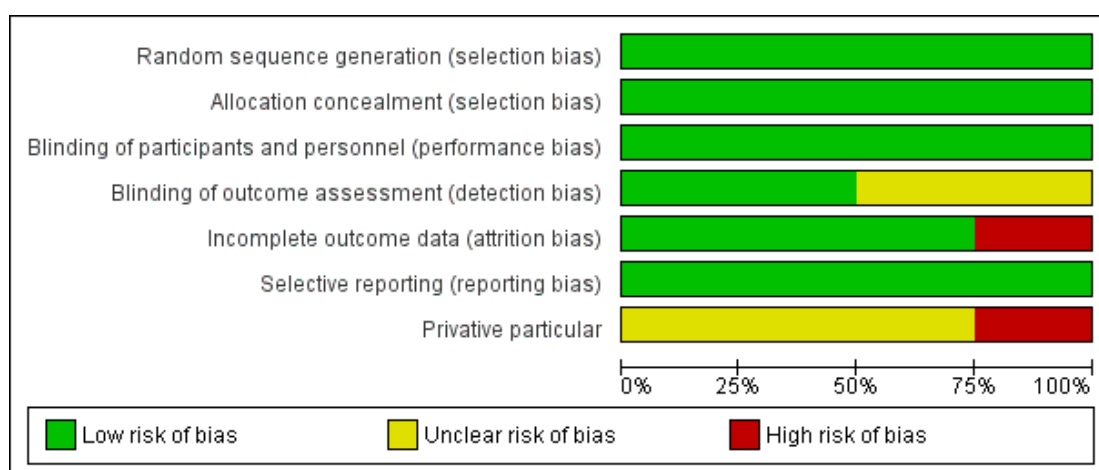


Figura 12: Resumo do julgamento dos autores sobre cada item de risco de viés apresentado como porcentagens em todos os estudos incluídos.

	Random sequence generation (selection bias)	Allocation concealment (selection bias)	Blinding of participants and personnel (performance bias)	Blinding of outcome assessment (detection bias)	Incomplete outcome data (attrition bias)	Selective reporting (reporting bias)	Privative particular
Bennett et al.(1998)	+	+	+	+	+	+	?
Cuatrecasas et al. (2012)	+	+	+	?	+	+	-
Stening et al. (2011)	+	+	+	?	+	+	?
Zanette et al. (2014)	+	+	+	+	-	+	?

Figura 13: Resumo do risco de viés: analise os julgamentos dos autores sobre cada item de risco de viés para cada estudo incluído.

5.2.4 Descrição detalhada da metodologia e os principais efeitos das intervenções dos ensaios clínicos incluídos

As metodologias adotadas bem como os efeitos das intervenções, foram bastante heterogêneos devido às diferentes ações biológicas dos hormônios prescritos e dos protocolos escolhidos. De forma geral, o resultado esperado era redução da dor e melhora da qualidade de vida das pacientes com FM. No entanto, a presença de efeitos adversos também é fator importante e deve ser levada em consideração no momento de escolha sobre o tratamento para pacientes com dores crônicas, como a FM.

Dois estudos (Bennett et al., 1998; Cuatrecasas et al., 2012) usaram GH para tratamento de sintomas da FM. O estudo de Bennett et al., (1998) utilizou 0,0125 mg/kg/dia por via subcutânea, durante 1 mês com dose reajustada pelos 8 meses seguintes, como principal tratamento em 45 mulheres diagnosticadas com FM. Os resultados positivos no grupo tratado foram crescentes a partir do terceiro mês de aplicação da terapia hormonal, como aumento do nível plasmático de IGF-1, além da diminuição do impacto da fibromialgia e da sensibilidade nos *tender points*, indicando que o tratamento é benéfico ao proporcionar recuperação da capacidade funcional e melhora do bem estar devido à diminuição dos índices anteriores citados

e perdurou até o final do protocolo, porém sem completa remissão. Ao final deste período de terapia hormonal (9 meses), as participantes não apresentaram efeitos adversos que pudessem ser relacionados a terapia com GH, pois os participantes de ambos os grupos apresentaram sintomas diversos.

Em outro estudo que utilizou o hormônio do crescimento como terapia Cuatrecasas et al., (2012), os pacientes com FM receberam tratamento hormonal (0,006 mg/kg/dia) por 6 meses (grupo controle) ou 12 meses (grupo tratamento) em combinação com terapia já adotada para pacientes com FM (inibidor seletivo da recaptação de serotonina, amitriptilina e tramadol). Pacientes foram acompanhados durante o tempo de aplicação (12 meses) e por mais 6 meses para acompanhamento da intensidade da dor e de pontos sensíveis. O grupo tratamento (12 meses) mostrou maior redução da dor (menor pontuação no FIQ) e de *tender points*, evidenciando que a terapia com GH apresenta melhores resultados para a diminuição da dor. Porém dores de cabeça, parestesia da síndrome do túnel do carpo e edema periférico foram descritos como efeitos adversos frequentes neste grupo, além dos sintomas clássicos da FM que reincidiram ao final dos meses de acompanhamento (6 meses).

No estudo de Stening et al., (2011) foi feita injeção transdérmica de hormônio 17 β -estradiol (50 mg/dia por 8 semanas) em 15 mulheres após menopausa e recém-diagnosticadas com FM, acompanhadas por avaliações semanais por 20 semanas. O estrógeno transdérmico não alterou as latências de dor ou tolerância à dor em mulheres em pós-menopausa com FM, apesar do maior nível plasmático de 17- β estradiol quando comparado ao grupo placebo, indicando aumento sistêmico do hormônio, porém como efeito adverso, ocasionou dores nas mamas, dor abdominal similar à dismenorreia, sangramento vaginal e irritação na pele. No entanto, devemos ressaltar a limitação importante relacionada ao tamanho amostral que recebeu a reposição hormonal (15 mulheres) comparadas ao grupo placebo (10 mulheres).

Um dos ECR's investigou os efeitos do uso de melatonina (10 mg) (Zanette et al. 2014) comparando com amitriptilina (25 mg) e combinação dos dois medicamentos durante seis semanas. A evolução do tratamento indicou que pacientes tratados com melatonina (isolada ou associada a amitriptilina) apresentaram redução do impacto dos sintomas da FM (pelo questionário FIQ), da intensidade de dor, da latência de dor por pressão e melhora da qualidade do sono, visto que a melatonina tem grande interferência na regulação do padrão sono/vigília, estando relacionados com a melhora no bem-estar geral. Em contra partida, as seis semanas de tratamento com melatonina (isolada ou em associação com a amitriptilina) também promoveu alguns efeitos adversos, como boca seca, sedação, constipação, hipotensão ortostática e ganho de peso entre os participantes de ambos os grupos. Porém, os autores indicam limitação do

tempo de aplicação do hormônio para descartar a relação desses efeitos à melatonina, uma vez que é comum o relato desses sintomas em pacientes tratados com a amitriptilina.

6 DISCUSSÃO

6.1 Discussão do estudo - Profilaxia hormonal em ratas ovariectomizadas submetidas ao modelo de hiperalgesia muscular crônica difusa

Com a comprovação da efetividade da indução do modelo de HMCD também em fêmeas, pelos grupos controle, foi avaliado a interferência da remoção bilateral dos ovários nas latências sensitivo cutâneo, latência térmica e atividade locomotora dos animais, com os dados produzidos pelo comportamento dos animais do grupo OVX. Como resultado, foi percebido que a ausência abrupta dos ovários, e consequente diminuição na produção dos hormônios estrógeno e progesterona, interfere no limiar sensitivo cutâneo por um período de tempo de 13 dias entre a avaliação basal e a final. Este intervalo de tempo (13 dias) refere-se a cirurgia de remoção ovariana, com recuperação (05 dias) (Sanoja & Cervero, 2008), e indução do modelo (06 dias). Nosso objetivo com esse grupo foi compreender qual a interferência a cirurgia poderia causar no modelo proposto, visto que segundo Sanoja et al. (2008) já tínhamos comprovação da diminuição do latência e recuperação do latência basal quando administrado o estrógeno em modelo nociceptivo agudo (Sanoja & Cervero, 2008).

Pelos resultados da atividade locomotora e latência térmica do presente trabalho, foi percebido que ambos os comportamentos indicam comportamento estressor/depressivo, comprovados com um dos papéis desempenhados pelo estrógeno e também da progesterona que possuem ligação com o mecanismo comportamental da depressão pelo longo período sem o ciclo estral normal, que compreende a 6 ciclos estrais (Diz-chaves et al., 2012; Li et al., 2014; Picazo et al., 2006; Puga-olguín et al., 2019), sendo que este comportamento, variação da atividade locomotora, no presente trabalho, foi encontrado nos grupos com alteração hormonal (grupos OVX, Veic, P4 e E2).

O grande diferencial deste trabalho, no entanto, está no delineamento e consequente resultados, onde avaliamos o possível papel profilático dos hormônios estrógeno e progesterona, administrados de forma contínua, no desenvolvimento do modelo da FM. (Aquino et al., 2017; Franci et al., 2010; Marcondes et al., 2002; Markowska & Savonenko, 2002). Os grupos que tiveram seus ovários extraídos (OVX) ou recebiam veículo (veic.), progesterona (P4) e estrógeno (E2) apresentaram comportamentos diferentes, sem alteração significativa nas latências sensitivas cutâneas e diminuição da distância percorrida, dos grupos que não sofreram manipulação hormonal (CTRL-, CTRL+, P4+E2) indicando a uma possível relação com ambos hormônios para promover a analgesia.

Porém ao analisar a latência sensitivo cutâneo, o grupo que recebeu as duas injeções de salina neutra (CTRL-) não apresentou diferença significativa entre as avaliações basal e final, como esperado. Similarmente ao comportamento do grupo que recebeu duas injeções de salina ácida além de diminuir o nível de produção hormonal circulante (OVX). Comparando os mesmos grupos, porem no parâmetro distância percorrida e latência térmica, percebemos que a presença de ambos os hormônios (estrógeno e progesterona) no grupo controle negativo foi capaz de manter os comportamentos finais próximos aos comportamentos basais, assim como o grupo P4+E2. Porém o grupo OVX apresentou um aumento da distância percorrida quando comparado a avaliação basal. Indicando que a ausência repentina dos hormônios influenciam em parâmetros que avaliam também o nível de estresse (Diz-chaves et al., 2012; Li et al., 2014; Picazo et al., 2006; Puga-olguín et al., 2019).

Nosso último ponto de avaliação comportamental foi a variação de latência térmica, onde como resultado apenas o grupo “OVX” teve uma latência menor quando comparada a sua avaliação basal, enquanto os demais grupos: todos que receberam reposição hormonal (grupos P4, E2 e P4+E2), o grupo que recebeu apenas o veículo (grupo veic) e os grupos que passaram apenas pelo modelo de HMCD (grupo CTRL+ e CTRL-) não apresentaram diferenças significativas entre as avaliações basal e final. Porém os grupos com reposição de progesterona (grupo P4) e de estrógeno (grupo E2) e de ambos (P4+E2) indicaram um tempo de latência maior na avaliação final quando comparada a avaliação basal, indicando que esses hormônios separadamente apresentam um aumento no tempo de resposta ao calor, indicando efeito protetor à latência térmica (Mora et al., 1996b; Racine et al., 2012). Esses resultados são semelhantes aos dados de Stoffel et al. (2005) onde em seus resultados pode concluir que as fêmeas com ovariectomia apresentavam uma latência menor em comparação aos que recebiam a reposição hormonal de estrógeno, em associação ou não com a progesterona, apresentavam uma latência maior também em relação aos animais que não passaram pela cirurgia.

Ao retirar os ovários, grande parte da produção de andrógeno, progestógenos e estrógeno é diminuída. Porém outras regiões do organismo também produzem tais hormônios, como o sistema nervoso central, tecido ósseo e tecido adiposo (Aires, 2008). Assim como a produção de outros hormônios de outros eixos pode ser desequilibrada, como os hormônios envolvidos no eixo HPA (Gregory et al., 2013a; Wajchenberg, 2000) influenciando nos comportamentos com características de depressão/estresse.

Além da alteração dos hormônios de outros eixos, o próprio eixo hormonal HPG fica desregulado e a obtenção de seus produtos finais passa a ser obtida por outras vias. O estrógeno e a progesterona são um dos produtos finais de uma das vias de aromatização do colesterol, que

ocorre por ação dependente de LH (Aires, 2008). Visto que o tecido adiposo, sob influência da adrenal, é capaz de aromatizar em androstenediona sendo transformada em estroma, um estrógeno (Aires, 2008; Amandusson & Blomqvist, 2013; Wajchenberg, 2000). Justificando assim a diferença significativa quando comparamos a avaliação basal - avaliação final no grupo controle salina ácida (CTRL+) e a ausência de diferença significativa nos demais grupos.

Com esses resultados podemos concluir que ao modificar as concentrações dos hormônios estrógeno e progesterona (isolados ou combinados) de forma contínua regular e fisiológica, como os grupo P4, E2 e P4+E2, ou a eliminação cirúrgica da produção destes hormônios, como nos grupo OVX e Veic, apresentam um efeito protetor à hiperalgesia causada pela dupla injeção de salina ácida no músculo gastrocnêmio esquerdo em ratas *Wistar*, onde não altera de forma significativa os latências sensitivos cutâneos da avaliação final. Porém os parâmetros de latência térmico e livre locomoção são alterados pela ausência do equilíbrio hormonal (OVX, Veic, P4 e E2).

6.2 Discussão do estudo- Efeito de diferentes terapias hormonais na dor e qualidade de vida de mulheres com fibromialgia: revisão sistemática

Há uma quantidade muito limitada de publicações que avaliam a influência dos hormônios nos desfechos de mulheres com FM quando se compara ao grande acervo e diversidade de artigos sobre a doença em si, visto que em nossa busca sistemática, com as estratégias de buscas citadas anteriormente, impossibilitando a execução de uma avaliação qualitativa, como a meta análise. Obtivemos um total de 2214 artigos que estão relacionados a fibromialgia, que são extremamente necessários e válidos, visto o crescente número de pacientes e o prejuízo desta população com relação a sociedade (Fillingim, 2000; Merskey & Bogduk, 2012).

Para esta análise, incluídos quatro ensaios clínicos aleatorizados que avaliaram o efeito terapêutico de intervenções hormonais em mulheres com FM. Esta pequena quantidade de artigos talvez indique, primeiramente, uma carência de estudos voltados para a terapia hormonal como opção de tratamento para a sintomatologia da doença em questão e uma carência atemporal, já que não limitamos as datas de publicação nas buscas.

Nota-se que, apesar do número limitado de artigos publicados sobre o tema, a terapia hormonal foi vista como possível proposta terapêutica na FM há mais de 20 anos, sendo o hormônio do crescimento o pioneiro (Bennett et al., 1998). Diante do aumento expressivo do número de casos de FM e a crescente demanda para amenizar os sintomas, a terapia hormonal pode ser considerada uma potencial medida terapêutica para o tratamento de pacientes dessa doença, visto pela relação com eixos hormonais (Fillingim, 2000; Geenen et al., 2009).

O pioneiro de tratamento hormonal, que relacionou o desequilíbrio da produção hormonal do eixo hipotálamo-hipófise com os sintomas matinais de pacientes com FM (rigidez e cansaço matinal) com a ausência de fases profundas do sono que causava impedindo a produção de GH, devido à baixa produção deste hormônio em decorrência da qualidade de sono (Aloisi et al., 2011; Sarzi-Puttini et al., 2010). Administração de GH diminuiu o impacto da FM e a quantidade de pontos sensíveis proporcionando aumento da sensação de bem-estar associada e permitindo aumento do nível de atividades diárias sem aumento de dores musculares. Os pacientes apresentam reversão dos sintomas ao longo de um período de 1 a 3 meses após a descontinuidade do tratamento com GH, visto que é muito caro, o que dificulta a adesão dos pacientes ao tratamento (Bennett, Clark e Walczyk 1998).

Inspirados na pesquisa de Bennett, Cuatrecasas et al. (2012) também realizaram um ensaio clínico com reposição de GH, porém com 14 anos de diferença entre as publicações. Esse intervalo de tempo entre as publicações possibilitou um conhecimento maior sobre a

doença e outras opções de medicamentos. Pode-se perceber essa evolução da interação com outras terapias no protocolo proposto no estudo de Cuatrecasas et al. (2012), em que o GH aparece como no tratamento medicamentoso complementar associado à amitriptilina (inibidor seletivo da recaptação de serotonina) e tramadol além da escolha de pacientes com FM e baixos níveis séricos de IGF-1, como sendo uma das justificativas para a indicação de tratamento com o GH (Bennett et al., 1998). Além de ter sido baseado em dados anteriores de que 50% dos pacientes com FM apresentam efeitos colaterais após o uso do GH (Cuatrecasas et al. 2012) além de ser um tratamento. Ao final, pacientes com 6 meses de tratamento não apresentaram diferença significativa em comparação a avaliação basal. Enquanto o grupo tratado por 12 meses mostrou redução da intensidade de dor, diminuição do impacto da FM e melhora do bem-estar geral. Esses dados foram interpretados pelos pesquisadores como uma indicação de que o GH requer um tempo maior para sua ação do que a habitualmente utilizado em pacientes com deficiência de GH, para ter efeitos terapêuticos na FM (Cuatrecasas et al. 2012). Em contrapartida tem-se o alto valor econômico para a aquisição e o laboratório responsável pela produção do hormônio foi o financiador do trabalho.

Nestes estudos (Bennett, Clark, and Walczyk 1998; Cuatrecasas et al. 2012), as concentrações hormonais (0,0125 mg/kg vs. 0,006 mg/kg), as características amostrais (mulheres com FM vs. mulheres com FM em fase de menopausa) e a duração do tratamento (9 meses vs. 12 meses) foram distintos, mas ambos observaram redução da dor e consequente promoção do bem-estar de mulheres com FM. A grande vantagem da terapia com GH é que em pequenas concentrações e com intervalo de um mês as melhorias já podem ser percebidas, porém como ponto negativo, por tempo prolongado de terapia, o risco de efeitos adversos ligados à reposição hormonal é maior e mais intenso (Cuatrecasas et al. 2012), o que indica e justifica o acompanhamento médico periódico bem como a avaliação sérica do mesmo. Outro fator de impacto do ponto de vista negativo é o alto custo desse hormônio, dificultando a adesão do paciente ao tratamento.

Outra alternativa hormonal como terapia é a administração da melatonina, cuja secreção é reduzida em pacientes com FM devido, à ausência do sono reparador; presença de dor constante; presença de pontos sensíveis e problemas relacionados aos mecanismos de modulação da dor. Com essa associação, Zanette et al. (2014) observaram a diminuição da dor, ao administrar melatonina por 6 semanas, porém vale questionar o tempo de duração do estudo ser do equivalente a um mês e meio quando os pacientes são acometidos por dores de forma contínua e intensa. Ademais ao se tratar de uma doença crônica com manifestação de dor incapacitante, preocupa o uso contínuo da melatonina, já que a mesma pode causar efeitos

colaterais diversos, desde boca seca até a hipotensão ortostática, causando também um agravante para a possibilidade de aumento do tempo de tratamento e levando a interrupção do tratamento (Hemati et al., 2019), segundo os próprios autores (Zanette et al., 2014) apesar da existência de tratamentos mais longos (Hemati et al., 2019).

A relação dos hormônios do eixo HPG com a FM, além da alta relação de mulheres na menopausa desenvolverem dores crônicas (Clayton & Kaltsounis-Puckett, 2002; Neyro et al., 2011), proporcionou à Stening et al (2010) administrar o estrógeno (50 µg de 17β-estradiol por oito semanas) para alívio da dor, em 25 mulheres na pós-menopausa (pelo menos 6 meses contados do início da menopausa) e com FM. Após as semanas de tratamento e acompanhamento, nenhuma diferença significativa foi observada entre os grupos tratados com estradiol e o grupo placebo nos indicativos de dor adotados no protocolo (Stening et al. 2011). Segundo os autores, o hormônio pode intensificar fatores psicológicos envolvidos na catastrofização da dor, ansiedade e distúrbios de humor (Stening et al., 2011), porém ainda há indícios de que o hormônio pode amenizar distúrbios de humor e sintomas ligados à depressão, tanto em humanos como animais (Chaves et al., 2009; Frye & Walf, 2004). Os resultados desse trabalho indicaram que 8 semanas de reposição não são suficientes para promover uma melhora de bem estar devido a diminuição da dor em mulheres com FM.

As avaliações de risco de viés permitiram que esta revisão mostrasse que os estudos que avaliaram a ação e interferência do GH, como tratamento principal ou como secundário, nos sintomas da FM foram benéficos e proporcionam bons resultados para o cotidiano do paciente, como diminuição dos sintomas da FM e poucos efeitos colaterais (Bennett, Clark, and Walczyk 1998; Cuatrecasas et al. 2012). No entanto, como fator negativo para a continuidade desse tipo de tratamento, tem-se o alto valor para a aquisição do hormônio. Outro hormônio que apresentou bons resultados foi a melatonina, que age na diminuição da dor, sendo mais eficiente quando administrada sem a associação ao antidepressivo amitriptilina, que já tem sua eficácia comprovada no tratamento da dor e na melhora da qualidade de vida dos pacientes com FM (Zanette et al. 2014) sendo responsável por uma grande variedade de efeitos colaterais (Hemati et al., 2019).

Os estudos apresentados somam um pequeno número de amostras de pacientes com total de 253 indivíduos que finalizaram as administrações e acompanhamento previsto nos protocolos, demonstrando a necessidade de mais trabalhos nessa área para elucidar com melhor exatidão o uso de hormônios como terapia para a FM. Nessa revisão podemos ver com clareza a existência de poucos artigos (apenas 4 artigos em buscas sistemáticas em 7 bases de dados de artigos) somando um baixo total de participantes divididos em 3 hormônios diferentes e com 4

diferentes protocolos de administração e acompanhamento. Esta variedade de opções de terapia hormonal com os consequentes efeitos positivos e adversos deve-se ser levada em consideração ao adotar como tratamento na prática clínica de mulheres adultas com FM.

Os resultados desses trabalhos seguem o rigor metodológico exigido em ECR, representando o que acontece com parte dessa população, demonstrando os efeitos positivos na melhoria do bem-estar geral, visto que alguns hormônios foram capazes de proporcionar alívio do dor, contribuindo para a disposição para atividades do cotidiano. É evidente que o melhor entendimento das opções de terapia desta doença aumenta à medida que surgem novos artigos e conclusões, estando ligado ao aumento de publicações com qualidade sobre o tratamento hormonal na sintomatologia da FM. Nessa revisão, fica clara a necessidade de estudos mais detalhados sobre a função dos diferentes hormônios na fisiopatologia da FM, sendo fundamentais para gerar perspectivas futuras de tratamento que permitam o controle dos sintomas e consequentemente uma melhora no bem-estar desses pacientes.

7 CONCLUSÃO GERAL

Diante dos resultados apresentados no estudo experimental e revisão sistemática realizados, conclui-se que o estudo experimental, as fêmeas tratadas de forma profilaxia não apresentaram diferença significativa nas avaliações comportamentais indicadoras de hiperalgesia muscular crônica difusa. Juntamente com os resultados da revisão baseada em busca sistemática de artigos do tipo ensaio clínico aleatorizado evidenciaram que a terapia hormonal, com hormônio do crescimento ou com a melatonina, pode ser benéfica na melhoria da qualidade de vida, como na diminuição da dor nos pontos sensíveis, melhoria do sono. As evidências deste estudo servem para nortear novos questionamentos sobre a influência da reposição dos hormônios como alternativa para o tratamento em pacientes com dor crônica.

8 REFERÊNCIA

- Aires, M. de M. (2008). *Fisiologia* (3 ed.). Guanabara Koogan.
- Aloisi, A. M., & Bonifazi, M. (2006). Sex hormones, central nervous system and pain. *Hormones and Behavior*, 50(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2005.12.002>
- Aloisi, A. M., Buonocore, M., Merlo, L., Galandra, C., Sotgiu, A., Bacchella, L., Ungaretti, M., Demartini, L., & Bonezzi, C. (2011). Chronic pain therapy and hypothalamic-pituitary-adrenal axis impairment. *Psychoneuroendocrinology*, 36(7), 1032–1039. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2010.12.017>
- Amandusson, Å., & Blomqvist, A. (2013). Estrogenic influences in pain processing. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 34(4), 329–349. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2013.06.001>
- Aquino, N. S. S., Araujo-lobes, R., Henriques, P. C., Lopes, F. E. F., Gusmao, D. O., Coimbra, C. C., Franci, C. R., Reis, A. M., & Szawka, R. E. (2017). *α-Estrogen and Progesterone Receptors Modulate Kisspeptin Effects on Prolactin: Role in Estradiol-Induced Prolactin Surge in Female Rats*. 158(March), 1812–1826. <https://doi.org/10.1210/en.2016-1855>
- Baeza, I., Castro, N. M. De, Giménez-Illort, L., & Fuente, M. De. (2010). Ovariectomy, a model of menopause in rodents, causes a premature aging of the nervous and immune systems. *Journal of Neuroimmunology*, 219(1–2), 90–99. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2009.12.008>
- Bartley, E. J., & Fillingim, R. B. (2013). Sex differences in pain: A brief review of clinical and experimental findings. *British Journal of Anaesthesia*, 111(1), 52–58. <https://doi.org/10.1093/bja/aet127>
- Bennett, R. M., Clark, S. C., & Walczyk, J. (1998). A randomized, double-blind, placebo-controlled study of growth hormone in the treatment of fibromyalgia. *American Journal of Medicine*, 104(3), 227–231. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(97\)00351-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(97)00351-3)
- Bote, M. E., Garca, J. J., Hinchado, M. D., & Ortega, E. (2012). Inflammatory/stress feedback dysregulation in women with fibromyalgia. *NeuroImmunoModulation*, 19(6), 343–351. <https://doi.org/10.1159/000341664>
- Brederson, J.-D., F. Jarvis, M., Honore, P., & S. Surowy, C. (2011). Fibromyalgia: Mechanisms, Current Treatment and Animal Models. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 12(10), 1613–1626. <https://doi.org/10.2174/138920111798357258>
- Brooks, L., Hadi, J., Amber, K. T., Weiner, M., La Riche, C. L., & Ference, T. (2015). Assessing the prevalence of autoimmune, endocrine, gynecologic, and psychiatric comorbidities in an ethnically diverse cohort of female fibromyalgia patients: Does the time from hysterectomy provide a clue? *Journal of Pain Research*, 8, 561–569. <https://doi.org/10.2147/JPR.S86573>
- Cairns, B. E., & Gazerani, P. (2009). Sex-related differences in pain. *Maturitas*, 63(4), 292–296. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2009.06.004>
- Ceccarelli, I., Fiorenzani, P., Massafra, C., & Aloisi, A. M. (2003). Long-term ovariectomy changes formalin-induced licking in female rats: the role of estrogens. *Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E*, 1, 24. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-1-24>
- Chaves, G. De, Moretti, M., Castro, A. A., Dagostin, W., Silva, G. G., Boeck, C. R., Quevedo, J., & Gavioli, E. C. (2009). Effects of long-term ovariectomy on anxiety and behavioral despair in rats. *Physiology & Behavior*, 97(3–4), 420–425. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.03.016>
- Clauw, D. J., & Crofford, L. J. (2003). Chronic widespread pain and fibromyalgia: What we know, and what we need to know. *Best Practice and Research: Clinical Rheumatology*, 17(4), 685–701. [https://doi.org/10.1016/S1521-6942\(03\)00035-4](https://doi.org/10.1016/S1521-6942(03)00035-4)
- Clayton, A. H., & Kalsounis-Puckett, J. (2002). Combination therapy in the treatment of major depressive disorder complicated by fibromyalgia and menopause. *Psychosomatics*, 43(6),

- 491–493. <https://doi.org/10.1176/appi.psy.43.6.491>
- Craft, R. M., Mogil, J. S., & Aloisi, A. M. (2004). *Sex differences in pain and analgesia : the role of gonadal hormones*. 8, 397–411. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2004.01.003>
- Craft, R. M., Ulibarri, C., Leidl, M. D., & Sumner, J. E. (2008). *Dose- and time-dependent estradiol modulation of morphine antinociception in adult female rats*. 12, 472–479. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2007.07.014>
- Cuatrecasas, G., Alegre, C., Fernandez-Solà, J., Gonzalez, M. J., Garcia-Fructuoso, F., Poca-Dias, V., Nadal, A., Cuatrecasas, G., Navarro, F., Mera, A., Lage, M., Peinó, R., Casanueva, F., Liñan, C., Sesmilo, G., Coves, M. J., Izquierdo, J. P., Alvarez, I., Granados, E., & Puig-Domingo, M. (2012). Growth hormone treatment for sustained pain reduction and improvement in quality of life in severe fibromyalgia. *Pain*, 153(7), 1382–1389. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2012.02.012>
- Defrin, R., Shramm, L., & Eli, I. (2009). Gender role expectations of pain is associated with pain tolerance limit but not with pain threshold. *Pain*, 145(1–2), 230–236. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2009.06.028>
- DeSantana, J. M., da Cruz, K. M. L., & Sluka, K. A. (2013). Animal models of fibromyalgia. *Arthritis Research & Therapy*, 15(6), 222. <https://doi.org/10.1186/ar4402>
- DeSantana, J. M., & Sluka, K. A. (2008). Central mechanisms in the maintenance of chronic widespread noninflammatory muscle pain. *Current Pain and Headache Reports*, 12(5), 338–343. <https://doi.org/10.1007/s11916-008-0057-7>
- Diz-chaves, Y., Kwiatkowska-naqvi, A., Hülst, H. Von, Pernía, O., Carrero, P., & Garcia-segura, L. M. (2012). Behavioral effects of estradiol therapy in ovariectomized rats depend on the age when the treatment is initiated. *EXG*, 47(1), 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2011.10.008>
- Fillington, R. B. (2000). Sex, gender, and pain: women and men really are different. *Current Review of Pain*, 4(1), 24–30. <https://doi.org/10.1007/s11916-000-0006-6>
- Fillington, R. B., & Ness, T. J. (2000). Sex-related hormonal influences on pain and analgesic responses. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(4), 485–501. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(00\)00017-8](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(00)00017-8)
- Franci, C. R., Anderson, G. M., Hoffman, G. E., & Anselmo-franci, J. A. (2010). *Kisspeptin Regulates Prolactin Release through*. 151(July), 3247–3257. <https://doi.org/10.1210/en.2009-1414>
- Frye, C. A., & Walf, A. A. (2004). *Estrogen and / or Progesterone Administered Systemically or to the Amygdala Can Have Anxiety- , Fear- , and Pain-Reducing Effects in Ovariectomized Rats*. 118(2), 306–313. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.118.2.306>
- Geenen, R., Jacobs, J. W. G., & Bijlsma, J. W. J. (2009). A psychoneuroendocrine perspective on the management of fibromyalgia syndrome. *Journal of Musculoskeletal Pain*, 17(2), 178–188. <https://doi.org/10.1080/10582450902816521>
- Gregory, N. S., Gibson-Corley, K., Frey-Law, L., & Sluka, K. a. (2013a). Fatigue-enhanced hyperalgesia in response to muscle insult: induction and development occur in a sex-dependent manner. *Pain*, 154(12), 2668–2676. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.07.047>
- Gregory, N. S., Gibson-Corley, K., Frey-Law, L., & Sluka, K. a. (2013b). Fatigue-enhanced hyperalgesia in response to muscle insult: Induction and development occur in a sex-dependent manner. *Pain*, 154(12), 2668–2676. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.07.047>
- Gur, A., Cevik, R., Nas, K., Colpan, L., & Sarac, S. (2004). Cortisol and hypothalamic-pituitary-gonadal axis hormones in follicular-phase women with fibromyalgia and chronic fatigue syndrome and effect of depressive symptoms on these hormones. *Arthritis Research & Therapy*, 6(3), R232–R238. <https://doi.org/10.1186/ar1163>
- Gur, A., Karakoc, M., Erdogan, S., Nas, K., Cevik, R., & Sarac, A. J. (2002). Regional cerebral

- blood flow and cytokines in young females with fibromyalgia. *Clinical & Experimental Rheumatology*, 20, 753–760. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=12508765>
<http://eleanor.lib.gla.ac.uk:4550/resserv?sid=OVID:medline&id=pmid:12508765&id=doi&issn=0392-856X&isbn=&volume=20&issue=6&spage=753&pages=753-60&date=2002&title=Clinica>
- Halbe, H. W. (1965). Biossíntese dos estrogênios. *Revista de Medicina*, 49(4), 226–234.
- Hemati, K., Kadijani, A. A., Sayehmiri, F., Mehrzadi, S., Zabihyeganeh, M., Hosseinzadeh, A., & Mirzaei, A. (2019). Melatonin in the treatment of fibromyalgia symptoms: A systematic review. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 101072. <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2019.101072>
- Hillner, K. M., Slaterry, D. A., & Pletzer, B. (2019). Neurobiological mechanisms underlying sex-related differences in stress-related disorders: Effects of neuroactive steroids on the hippocampus. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 55(September), 100796. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2019.100796>
- Jones, J. F., Nisembaum, R., & Reeves, W. C. (2003). Medication use by persons with chronic fatigue syndrome: Results of a randomized telephone survey in Wichita, Kansas. *Health and Quality of Life Outcomes*, 1, 1–6. <https://doi.org/10.1186/1477-7525-1-74>
- Kreling, M. C., Cruz, D., & Pimenta, C. (2006). Prevalência de dor crônica em adultos. *Revista Brasileira de Enfermagem*, 59(1), 509–513. <https://doi.org/10.1590/S0034-71672006000400007>
- Kuba, T., & Quinones-Jenab, V. (2005). The role of female gonadal hormones in behavioral sex differences in persistent and chronic pain: Clinical versus preclinical studies. *Brain Research Bulletin*, 66(3), 179–188. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2005.05.009>
- Kuba, T., Wu, H. B. K., Nazarian, A., Festa, E. D., Barr, G. A., Jenab, S., Inturrisi, C. E., & Quinones-Jenab, V. (2006). Estradiol and progesterone differentially regulate formalin-induced nociception in ovariectomized female rats. *Hormones and Behavior*, 49(4), 441–449. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2005.09.007>
- Le Bars, D., Gozariu, M., & Cadden, S. W. (2001). Animal models of nociception. *Pharmacological Reviews*, 53(4), 597–652. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01386.x>
- Lesnak, J. B., Inoue, S., Lima, L., Rasmussen, L., & Sluka, K. A. (2020). Testosterone protects against the development of widespread muscle pain in mice. *Pain*, 161(12), 2898–2908. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001985>
- Li, L. H., Wang, Z. C., Yu, J., & Zhang, Y. Q. (2014). Ovariectomy results in variable changes in nociception, mood and depression in adult female rats. *PLoS ONE*, 9(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094312>
- Macfarlane, T. V. (2002). Sex hormonal factors and chronic widespread pain: a population study among women. *Rheumatology*, 41(4), 454–457. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/41.4.454>
- Malemud, C. J. (2012). The basis for medical therapy of fibromyalgia with growth hormone. *Pain*, 153(7), 1342–1343. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2012.03.030>
- Malmberg, A. B., & Bannon, A. W. (1999). Models of Nociception: Hot-Plate, Tail-Flick, UNIT 8.9 and Formalin Tests in Rodents and Formalin Tests in Rodents. *Current Protocols in Neuroscience - Behavioral Neuroscience*, 8(1), 1–15.
- Marcondes, F. K., Bianchi, F. J., & Tanno, A. P. (2002). Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Brazilian Journal of Biology*, 62(4a), 609–614. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842002000400008>
- Markowska, A. L., & Savonenko, A. V. (2002). *Effectiveness of Estrogen Replacement in*

- Restoration of Cognitive Function after Long-Term Estrogen Withdrawal in Aging Rats.* 22(24), 10985–10995.
- Martin, V. T. (2009). Ovarian hormones and pain response: A review of clinical and basic science studies. *Gender Medicine*, 6(PART 2), 168–192. <https://doi.org/10.1016/j.genm.2009.03.006>
- Menezes, S. M. P. N. J. M. F. E. W. De. (2013). Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ / USP. *Usp*, 234 p.
- Merskey, H., & Bogduk, N. (2012). Classification of Chronic Pain - Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. In H. Merskey & N. Bogduk (Eds.), *International association for the study of pain* (Second Edi). International Association for the Study of Pain. <https://doi.org/10.1002/ana.20394>
- Moiety, F. M. S., Salem, H. A., Mehanna, R. A., & Abdel-ghany, B. S. (2015). *Comparative study on induction and effects of surgical menopause in a female rat model : a prospective case control study.* 8(6), 9403–9411.
- Mora, S., Dussaubat, N., & Díaz-Véliz, G. (1996a). Effects of the estrous cycle and ovarian hormones on behavioral indices of anxiety in female rats. *Psychoneuroendocrinology*, 21(7), 609–620. [https://doi.org/10.1016/S0306-4530\(96\)00015-7](https://doi.org/10.1016/S0306-4530(96)00015-7)
- Mora, S., Dussaubat, N., & Díaz-Véliz, G. (1996b). Effects of the estrous cycle and ovarian hormones on behavioral indices of anxiety in female rats. *Psychoneuroendocrinology*, 21(7), 609–620. [https://doi.org/10.1016/S0306-4530\(96\)00015-7](https://doi.org/10.1016/S0306-4530(96)00015-7)
- Nagakura, Y., Ito, H., & Shimizu, Y. (2012). Animal models of Fibromyalgia. In W. S. Wilke (Ed.), *New Insights into Fibromyalgia*. <https://doi.org/10.5772/1468>
- Nagakura, Y., Takahashi, M., Noto, T., Sekizawa, T., Oe, T., Yoshimi, E., Tamaki, K., & Shimizu, Y. (2012). Different pathophysiology underlying animal models of fibromyalgia and neuropathic pain: Comparison of reserpine-induced myalgia and chronic constriction injury rats. *Behavioural Brain Research*, 226(1), 242–249. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.09.023>
- Neumann, L., & Buskila, D. (2003). Epidemiology of fibromyalgia. *Current Pain and Headache Reports*, 7(5), 362–368. <https://doi.org/10.1007/s11916-003-0035-z>
- Neyro, J. L., Franco, R., Rodríguez, E., Carrero, A., & Palacios, S. (2011). Fibromialgia y climaterio: ¿Asociación o coincidencia? *Ginecología y Obstetricia de Mexico*, 79(9), 572–578.
- Picazo, O., Estrada-camarena, E., & Hernandez-aragon, A. (2006). *Influence of the post-ovariectomy time frame on the experimental anxiety and the behavioural actions of some anxiolytic agents.* 530, 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.11.024>
- Pillemer, S. R., Bradley, L. A., Crofford, L. J., Moldofsky, H., & Chrousos, G. P. (1997). The neuroscience and endocrinology of fibromyalgia. *Arthritis and Rheumatism*, 40(11), 1928–1939. <https://doi.org/10.1002/art.1780401103>
- Puga-olguín, A., Rodríguez-landa, J. F., Roviroso-hernández, M. D. J., Germán-ponciano, L. J., & Caba, M. (2019). Long-term ovariectomy increases anxiety- and despair-like behaviors associated with lower Fos immunoreactivity in the lateral septal nucleus in rats. *Behavioural Brain Research*, 360(August 2018), 185–195. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.12.017>
- Queiroz, L. P. (2013). Worldwide Epidemiology of Fibromyalgia. *Current Pain and Headache Reports*, 17(8), 356. <https://doi.org/10.1007/s11916-013-0356-5>
- Racine, M., Tousignant-Laflamme, Y., Kloda, L. A., Dion, D., Dupuis, G., & Choinire, M. (2012). A systematic literature review of 10 years of research on sex/gender and experimental pain perception - Part 1: Are there really differences between women and men? *Pain*, 153(3), 602–618. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2011.11.025>

- Riedel, W., Layka, H., & Neeck, G. (1998). Secretory pattern of GH, TSH, thyroid hormones, ACTH, cortisol, FSH, and LH in patients with fibromyalgia syndrome following systemic injection of the relevant hypothalamic-releasing hormones. *Zeitschrift Für Rheumatologie*, 57 Suppl 2, 81–87. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10025090>
- Rivera, J., & Vallejo, M. A. (2016). Fibromyalgia is associated to receiving chronic medications beyond appropriateness: a cross-sectional study. *Rheumatology International*, 36(12), 1691–1699. <https://doi.org/10.1007/s00296-016-3568-2>
- Sanoja, R., & Cervero, F. (2008). Estrogen modulation of ovariectomy-induced hyperalgesia in adult mice. *European Journal of Pain*, 12(5), 573–581. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2007.09.003>
- Sarzi-Puttini, P., Atzeni, F., & Cazzola, M. (2010). Neuroendocrine therapy of fibromyalgia syndrome: An update: Annals of the New York Academy of Sciences. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1193, 91–97. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05345.x>
- Sluka, K. A., Kalra, A., & Moore, S. a. (2001). Unilateral intramuscular injections of acidic saline produce a bilateral, long-lasting hyperalgesia. *Muscle and Nerve*, 24(January), 37–46.
- Sluka, K. A., O'Donnell, J. M., Danielson, J., & Rasmussen, L. a. (2013). Regular physical activity prevents development of chronic pain and activation of central neurons. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 114(6), 725–733. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.01317.2012>
- Smith, M. D., Jones, L. S., & Wilson, M. A. (2002). Sex differences in hippocampal slice excitability: Role of testosterone. *Neuroscience*, 109(3), 517–530. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(01\)00490-0](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(01)00490-0)
- Stening, K. D., Eriksson, O., Henriksson, K. G., Brynhildsen, J., Lindh-Åstrand, L., Berg, G., Hammar, M., Amandusson, Å., & Blomqvist, A. (2011). Hormonal replacement therapy does not affect self-estimated pain or experimental pain responses in post-menopausal women suffering from fibromyalgia: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Rheumatology*, 50(3), 544–551. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keq348>
- Stoffel, E. C., Ulibarri, C. M., Folk, J. E., Rice, K. C., & Craft, R. M. (2005). Gonadal hormone modulation of mu, kappa, and delta opioid antinociception in male and female rats. *Journal of Pain*, 6(4), 261–274. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2004.12.006>
- Straub, R. H. (2007). The complex role of estrogens in inflammation. *Endocrine Reviews*, 28(5), 521–574. <https://doi.org/10.1210/er.2007-0001>
- Tajerian, M., Sahbaie, P., Sun, Y., Leu, D., Yu, H., & Li, W. (2015). Sex differences in a Murine Model of Complex Regional Pain Syndrome. *NEUROBIOLOGY OF LEARNING AND MEMORY*, 123, 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2015.06.004>
- Uceyler, N., Hauser, W., & Sommer, C. (2011). Systematic review with meta-analysis: cytokines in fibromyalgia syndrome. *BMC Musculoskelet Disord*, 12, 245. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-12-245>
- Vivancos, G. G., Verri, W. A., Cunha, T. M., Schivo, I. R. S., Parada, C. A., Cunha, F. Q., & Ferreira, S. H. (2004). An electronic pressure-meter nociception paw test for rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 37(3), 391–399. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2004000300017>
- Wajchenberg, B. L. (2000). *Tecido Adiposo como Glândula Endócrina*. Vldl.
- Wallace, D. J., Linker-Israeli, M., Hallegua, D., Silverman, S., Silver, D., & Weisman, M. H. (2001). Cytokines play an aetiopathogenetic role in fibromyalgia: A hypothesis and pilot study. *Rheumatology*, 40(7), 743–749. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/40.7.743>
- Wolfe, F., Clauw, D. J., Fitzcharles, M. A., Goldenberg, D. L., Katz, R. S., Mease, P., Russell, A. S., Russell, I. J., Winfield, J. B., & Yunus, M. B. (2010). The American College of

- Rheumatology preliminary diagnostic criteria for fibromyalgia and measurement of symptom severity. *Arthritis Care and Research*, 62(5), 600–610. <https://doi.org/10.1002/acr.20140>
- Wolfe, F., Ross, K., Anderson, J., Russell, I. J. O. N., & Hebert, L. (1995). The prevalence and characteristics of fibromyalgia in the general population. *Arthritis & Rheumatism*, 38(1), 19–28.
- Wolfe, F., Smythe, H. A., Yunus, M. B., Bennett, R. M., Bombardier, C., Goldenberg, D. L., Tugwell, P., Campbell, S. M., Abeles, M., Clark, P., & Al., E. (1990). The American College of Rheumatology 1990 Criteria for the Classification of Fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee. *Arthritis Rheum*, 33(2), 160–172. <https://doi.org/10.1002/art.1780330203>
- Zanette, S. A. De, Vercelino, R., Laste, G., Rozisky, J. R., Schwertner, A., Machado, C. B., Xavier, F., Cristina, I., Souza, C. De, & Deitos, A. (2014). *Melatonin analgesia is associated with improvement of the descending endogenous pain-modulating system in fibromyalgia : a phase. 1–14*. <https://doi.org/10.1186/2050-6511-15-40>
- Zavallia, L. S., & Frizzo, M. N. (2011). Association between Fibromyalgia and Hypothyroidism. 43(1), 10–14.