

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

HALINA DUARTE

**MARCADORES INFLAMATÓRIOS E FATORES
NEUROTRÓFICOS NA MIGRÂNEA**

Belo Horizonte

2014

HALINA DUARTE

**MARCADORES INFLAMATÓRIOS E FATORES
NEUROTRÓFICOS NA MIGRÂNEA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), como pré-requisito para obtenção de Título de Doutora em Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Renan Barros Domingues

Co-Orientador: Prof. Dr. Antônio Lúcio Teixeira Júnior

Belo Horizonte

2014

043

Duarte, Halina.

Marcadores inflamatórios e fatores neurotróficos na migrânea [manuscrito]
/Halina Duarte. - 2014.

125 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Renan Barros Domingos. Co-orientador: Antônio Lúcio Teixeira Júnior.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas.

1. Enxaqueca - Teses. 2. Inflamação - Mediadores - Teses. 3. Fatores de crescimento neural. 4. Quimiocinas- Teses. 5. Ansiedade - Teses. 6. Depressão - Teses. 7. Alodinia. 8. Adiponectina. 9. Neurociências - Teses. I. Domingos, Renan Barros. II. Teixeira Júnior, Antônio Lúcio. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 612.8

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo a Deus, que me dá o privilégio da vida, e que, por sua presença, luz e força, sempre me abençoou, dando a serenidade necessária para seguir em frente.

Ao Professor Doutor Renan Barros Domingues que me deu esta oportunidade, compartilhou de seu conhecimento comigo, e que com muita paciência e compreensão me guiou pelo caminho da pesquisa, da ciência e do crescimento profissional.

Ao Professor Doutor Antônio Lúcio Teixeira Júnior que, com sua grandiosidade de conhecimento, me estimulou à busca e ao aprendizado.

Aos dedicados colegas de coleta, Cássio e Tarnara, pela imensa simpatia, carinho, atenção e dedicação.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação, Vanessa, Nely e Carlos, pela atenção, carinho e paciência.

Aos Professores Doutores do Programa de Pós-Graduação em Neurociências que proporcionaram dias de imersão e desenvolvimento de conhecimento científico.

À professora doutora Érica Leandro Marciano Vieira, e aos professores doutores Arthur Kummer e Paulo Pereira Christo que, como membros da banca de qualificação, contribuíram com importantes e enriquecedoras sugestões.

A todos os pacientes que participaram deste estudo, literalmente dando o sangue para que esta pesquisa acontecesse.

Aos colegas do laboratório de Imunofarmacologia (UFMG), Natália e Aline, pela ajuda nas análises de ELISA e também por toda disponibilidade e simpatia.

Aos técnicos de laboratório pelo auxílio na coleta de sangue, e à Fernando de Sousa, por permitir o uso de equipamentos do Laboratório de Análises Clínicas do HUCAM.

Aos amigos de trabalho Ana Carolina, Verônica, Josefa, Grace Kelly, Samira e Flávia, pelo apoio, pelas trocas de experiências, e pela compreensão.

Aos meus pais, por me ensinarem o valor do trabalho e da persistência, e por me proporcionarem os degraus necessários ao meu engrandecimento.

Ao meu esposo Rodrigo, pelo carinho, apoio e compreensão, em todos os momentos deste trabalho, e ao meu filho Heitor, pela alegria de viver, e por ser a motivação à conclusão dessa etapa da minha vida.

*“O correr da vida embrulha tudo, a vida é assim:
esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa,
sossega e depois desinquieta.
O que ela quer da gente é coragem.”*

Guimarães Rosa

RESUMO

Introdução: A fisiopatologia da migrânea ainda é em grande parte desconhecida. Mediadores inflamatórios e fatores neurotróficos têm sido estudados no contexto da migrânea, no entanto, seu papel ainda não está bem estabelecido. **Objetivos:** O objetivo do presente estudo é avaliar os níveis séricos de vários marcadores inflamatórios e fatores neurotróficos, e sua associação com parâmetros clínicos e comorbidades psiquiátricas em pacientes com migrânea em comparação com controles. **Métodos:** Este estudo transversal foi realizado em uma amostra de 50 pacientes com migrânea e 50 controles saudáveis, pareados por idade e gênero. Pacientes e controles foram submetidos a: inventários de depressão e ansiedade de Beck, teste de impacto da cefaléia (HIT-6), e lista de sintomas de alodinia. Níveis séricos de adiponectina, quimiocinas (CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CCL5/RANTES, CCL11/Eotaxina, CCL24/Eotaxina 2, CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10) e fatores neurotróficos (BDNF, GDNF, NGF, NT-3 e NT-4/5) foram medidos através de ELISA. **Resultados:** Os níveis séricos de adiponectina, CXCL8/IL-8 e CCL3/MIP-1 α estavam significativamente maiores nos pacientes com migrânea quando comparados aos controles, mesmo após controlar os escores de ansiedade e depressão. Pacientes com migrânea e controles não se diferenciaram quanto aos níveis de fatores neurotróficos. Não foram encontradas diferenças significativas nos níveis de marcadores inflamatórios e fatores neurotróficos entre a migrânea episódica e crônica, bem como de acordo com a presença ou ausência de aura. Os níveis de marcadores inflamatórios e fatores neurotróficos não se correlacionaram com a frequência de crises, impacto da migrânea, bem como com o escore de alodinia. **Conclusão:** Nossos resultados reforçam a idéia de que mecanismos inflamatórios estão envolvidos na fisiopatologia da migrânea, demonstrados pelo aumento dos níveis séricos de adiponectina e das quimiocinas CXCL8/IL-8 e CCL3/MIP-1 α em pacientes com migrânea no período interictal, independente da presença de sintomas de ansiedade e depressão.

Palavras-chave: Migrânea; Adiponectina; Quimiocinas; Fatores Neurotróficos; Mediadores Inflamatórios; Ansiedade; Depressão; Alodinia.

ABSTRACT

Introduction: Migraine pathophysiology is still largely unknown. Inflammatory mediators and neurotrophic factors have been studied in the context of migraine, however, their role is not yet well established. **Objectives:** The aim of the present study was to evaluate the serum levels of several inflammatory markers and neurotrophic factors, and their association with clinical parameters and psychiatric comorbidities in patients with migraine compared with controls. **Methods:** This cross-sectional study was conducted on a sample of 50 patients with migraine and 50 healthy controls, matched by age and gender. Patients and controls were submitted to: Beck depression and anxiety inventories, headache impact test (HIT-6), and allodynia symptom checklist. Adiponectin, chemokines (CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CCL5/RANTES, CCL11/Eotaxin, CCL24/Eotaxin 2, CXCL8/IL-8 and CXCL10/IP-10) and neurotrophic factors (BDNF, GDNF, NGF, NT-3 and NT-4/5) serum levels were measured by ELISA. **Results:** The serum levels of adiponectin, CXCL8/IL-8 and CCL3/MIP-1 α were significantly higher among patients with migraine when compared with controls, even after controlling for anxiety and depression scores. Migraine patients and controls did not differ in their levels of neurotrophic factors. No significant differences were found in levels of inflammatory markers and neurotrophic factors in episodic and chronic migraine, as well as according to the presence or absence of aura. Levels of inflammatory markers and neurotrophic factors did not correlate with frequency of attacks, impact of migraine, as well as the score of allodynia. **Conclusion:** Our results reinforce the idea that inflammatory mechanisms are involved in the pathophysiology of migraine, as demonstrated by increased serum levels of adiponectin and chemokines CXCL8/IL-8 and CCL3/MIP-1 α in patients with migraine during the interictal period, regardless of the presence of symptoms of anxiety and depression.

Key-words: Migraine; Adiponectin; Chemokines; Neurotrophic Factors; Inflammatory Mediators; Anxiety; Depression; Allodynia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema representativo de algumas das estruturas envolvidas na transmissão nociceptiva trigeminovascular que forma a base da fisiopatologia da migrânea	21
Figura 2 - Níveis séricos de adiponectina de controles e pacientes com migrânea	55
Figura 3 - Níveis séricos de quimiocinas de controles e pacientes com migrânea	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados demográficos da amostra	51
Tabela 2 - Medidas psicopatológicas da amostra	52
Tabela 3 - Dados clínicos dos pacientes com migrânea	53
Tabela 4 - Dados demográficos e parâmetros clínicos das formas episódica e crônica de migrânea	54
Tabela 5 – Regressão logística binária dos preditores de migrânea	55
Tabela 6 - Correlação entre os níveis de adiponectina e parâmetros clínicos entre controles e pacientes com migrânea	57
Tabela 7 - Níveis séricos de quimiocinas de controles e pacientes com migrânea	58
Tabela 8 – Regressão logística binária dos preditores de migrânea	59
Tabela 9 - Correlação entre os níveis de quimiocinas e parâmetros clínicos do grupo controle	61
Tabela 10 - Correlação entre os níveis de quimiocinas e parâmetros clínicos do grupo migrânea	62
Tabela 11 - Níveis séricos de fatores neurotróficos dos grupos controle e migrânea	63
Tabela 12 – Regressão logística binária dos preditores de migrânea	64
Tabela 13 – Dados dos indivíduos com migrânea no período intercrítico e controles	66
Tabela 14 – Regressão logística binária dos preditores de migrânea no período intercrítico	67

LISTA DE ABREVIATURAS

BDNF	–	Fator neurotrófico derivado do cérebro
BSA	–	Albumina de soro bovino
CGRP	–	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
ELISA	–	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EMESCAM	–	Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória
GDNF	–	Fator neurotrófico derivado da glia
HIT-6	–	Teste de impacto da cefaléia-6
IC	–	Intervalo de confiança
IL	–	Interleucina
IL-1ra	–	Antagonista de receptor da IL-1
IMC	–	Índice de massa corporal
IP-10	–	Proteína induzida por interferon-gama
MCP-1	–	Proteína quimiotática de monócitos-1
MIP-1 α	–	Proteína inflamatória do macrófago-1 α
NF-kB	–	Fator de transcrição nuclear kappa B
NGF	–	Fator de crescimento neural
NK	–	Natural killer
NMDA	–	N-metil-D-aspartato
NO	–	Óxido nítrico
NT	–	Neurotrofina
NTC	–	Núcleo trigeminal caudal
OD	–	Odds Ratio
PBS	–	Tampão fosfato-salina
RANTES	–	Regulada sob ativação, expressa e secretada por células T normais
SDF-1	–	Fator derivado de células estromais
SNC	–	Sistema nervoso central
SNP	–	Sistema nervoso periférico
TGF- β	–	Fator de transformação de crescimento beta

- TNF – Fator de necrose tumoral
- Trk – Tirosina quinase
- TRPV1 – Receptor de potencial transitório vaniloide do tipo um

SUMÁRIO

PREFÁCIO	13
1 REVISÃO DE LITERATURA	15
1.1 Conceitos e Aspectos Clínico-Epidemiológicos da Migrânea	16
1.2 Fisiopatologia da Migrânea	17
1.3 Aspectos Neuroanatômicos	19
1.4 Migrânea e Inflamação	22
1.4.1 <i>Quimiocinas</i>	<i>25</i>
1.4.2 <i>Adiponectina</i>	<i>27</i>
1.5 Fatores Neurotróficos	30
1.6 Migrânea Crônica	35
1.7 Migrânea e Comorbidades	37
2 OBJETIVOS	40
2.1 Objetivo Geral	41
2.2 Objetivos Específicos	41
3 MÉTODOS	42
3.1 Delineamento do estudo	43
3.2 Casuística	43
3.2.1 <i>Critérios de inclusão</i>	<i>43</i>
3.2.2 <i>Critérios de exclusão</i>	<i>44</i>
3.3 Entrevista e contato inicial	44
3.4 Coleta de sangue e análise das amostras	47
3.5 Análise Estatística	48
4 RESULTADOS	50
4.1 Características Demográficas e Clínicas da amostra	51
4.2 Níveis de Adiponectina	54
4.3 Níveis de Quimiocinas	57
4.4 Níveis de Fatores Neurotróficos	62
4.5 Análise após exclusão de indivíduos com cefaléia nas últimas 48 horas	65

5 DISCUSSÃO	68
5.1 Características Demográficas e Clínicas da amostra	69
5.2 Níveis de Adiponectina	71
5.3 Níveis de Quimiocinas	74
5.4 Níveis de Fatores Neurotróficos	79
6 CONCLUSÃO	84
7 REFERÊNCIAS	86
ANEXOS	112

PREFÁCIO

A proposta do trabalho é apresentar os resultados da avaliação de mediadores inflamatórios e fatores neurotróficos em pacientes com o diagnóstico de migrânea, na ausência de cefaleia, atendidos no Ambulatório de Cefaleias da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória (EMESCAM), Vitória – ES, em comparação com controles saudáveis. Foram consideradas as influências de parâmetros clínicos e de sintomas de ansiedade e depressão nos resultados observados. A proposta do presente estudo é justificada pelos aspectos que se seguem.

A migrânea é um transtorno neurovascular caracterizado por crises recorrentes de cefaleia associada a sintomas tais como fotofobia, náuseas, entre outros. É uma doença de alta prevalência, associada a altos custos indiretos, com grande impacto sobre a qualidade de vida e geradora de grande incapacidade durante os período de crise, tornando o seu estudo de grande relevância (BIGAL & LIPTON, 2009). Apesar disso, sua fisiopatologia permanece, em grande parte, desconhecida.

Evidências científicas indicam a importante participação de mecanismos inflamatórios na migrânea. O aumento do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), substância P, glutamato, óxido nítrico (NO), e citocinas pró-inflamatórias, foi encontrado no sangue e líquido de indivíduos com migrânea, e algumas dessas substâncias também são capazes de induzir crises migranosas (LONGONI & FERRARESE, 2006). No entanto, poucos são os estudos que investigaram os níveis de quimiocinas em pacientes com migrânea, particularmente no período interictal, sendo que para algumas quimiocinas não há estudos prévios.

Pesquisas recentes têm demonstrado alterações nos níveis de fatores neurotróficos, e seu provável papel sobre a dor, no contexto da migrânea (FISCHER *et al.*, 2012; JANG *et al.*, 2011). No entanto, seu envolvimento na fisiopatologia da migrânea ainda necessita de mais investigação. Além disso, não há estudos prévios, em pacientes com migrânea, sobre os níveis de alguns dos fatores neurotróficos.

O aumento na expressão de mediadores pró-inflamatórios, não apenas durante a crise, mas também no período interictal, pode indicar sua participação na fisiopatologia da migrânea, tendo em vista que tais mediadores podem modular a nocicepção, potencialmente aumentando a susceptibilidade a novas crises, bem

como à progressão da doença. Dessa forma, justifica-se o estudo de tais moléculas no período interictal da migrânea.

Considerando que comorbidades psiquiátricas estão presentes em pacientes com migrânea (PETERLIN & WARD, 2005), e que há relatos de alterações tanto nos níveis de adiponectina (CARVALHO *et al.*, 2014), de quimiocinas (FONTENELLE *et al.*, 2012) e de fatores neurotróficos (GRASSI-OLIVEIRA *et al.*, 2008) em transtornos psiquiátricos, o estudo dos níveis de tais moléculas, na migrânea, deve levar em conta a possível interferência de sintomas neuropsiquiátricos. Tal potencial interferência não foi até o momento investigada, portanto, justifica-se a análise de sintomas de ansiedade e depressão no presente estudo.

Poucos estudos avaliaram a correlação dos níveis de mediadores inflamatórios e fatores neurotróficos, na migrânea, com parâmetros clínicos tais como o impacto e o tempo da doença, a frequência de crises e a alodinia. A escassez de tais correlações na literatura prévia sobre a migrânea justifica sua avaliação no presente estudo.

O reconhecimento de moléculas associadas à migrânea e sua gravidade, bem como suas comorbidades, pode indicar seu papel como biomarcadores para essa doença. A identificação de biomarcadores para a migrânea pode, futuramente, contribuir não apenas no conhecimento da fisiopatologia da doença, mas também ter implicações diagnósticas e na identificação de alvos terapêuticos (DURHAM & PAPAPETROPOULOS, 2013).

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Conceitos e Aspectos Clínico-Epidemiológicos da Migrânea

A migrânea é um transtorno neurovascular caracterizado por crises de cefaleia tipicamente pulsátil, unilateral, de moderada a grave intensidade e agravada por atividade física (HEADACHE CLASSIFICATION COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL HEADACHE SOCIETY, 2013).

Afeta, aproximadamente, 12% da população adulta ocidental, sendo sua prevalência três vezes maior em mulheres do que em homens (18% entre mulheres e 6% entre homens) (BIGAL & LIPTON, 2009). De acordo com o estudo de Queiroz e colaboradores (2009), realizado em 27 estados brasileiros por meio de entrevistas telefônicas, com 3.848 pessoas, a prevalência estimada de migrânea foi de 15,2% da população, sendo maior na região sudeste (20,5%), seguida pelas regiões Sul (16,4%), Nordeste (13,6%), Centro-Oeste (9,5%) e Norte (8,5%). A migrânea foi mais prevalente em mulheres, de baixa renda, de menor escolaridade e sedentárias.

A Organização Mundial da Saúde, a partir do último levantamento do *Global Burden of Disease* de 2010, classificou a migrânea como a terceira doença mais comum, e a sétima maior causa de incapacidade no mundo, considerando seu estado de crise (STEINER, STOVNER & BIRBECK, 2013). Durante a crise de migrânea, em torno de 53% dos indivíduos apresentam grande prejuízo em suas atividades ou necessitam de repouso (BIGAL & LIPTON, 2009).

Cerca de um terço dos indivíduos apresentam sintomas neurológicos focais e transitórios que precedem ou acompanham a cefaleia, como alucinações visuais, dormência ou formigamento facial, bem como outros sintomas sensoriais, ou afásicos, denominada migrânea com aura (NOSEDA & BURSTEIN, 2013).

O critério diagnóstico para migrânea inclui pelo menos cinco episódios de cefaleia com as seguintes características: A) duração de 4 a 72 horas; B) com pelo menos duas das seguintes características: localização unilateral; qualidade pulsátil; de moderada a grave intensidade; agravada por atividade física; C) associadas à pelo menos um destes sintomas: náusea ou vômitos; fotofobia e fonofobia; D) não atribuídos a outras doenças.

Quando a cefaléia da migrânea ocorre por 15 dias ou mais no mês, durante mais de três meses, na ausência de abuso de medicação, é considerada migrânea crônica (HEADACHE CLASSIFICATION COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL HEADACHE SOCIETY, 2013).

1.2 Fisiopatologia da Migrânea

A Fisiopatologia da migrânea não é totalmente conhecida, mas evidências científicas indicam que na migrânea estão envolvidas alterações hereditárias da excitabilidade cerebral, dilatação arterial intracraniana, recorrente ativação e sensibilização da via trigeminovascular, e conseqüentes mudanças estruturais e funcionais em indivíduos geneticamente suscetíveis (NOSEDA & BURSTEIN, 2013).

Inicialmente, postulou-se que a cefaleia resultasse da dilatação dos vasos sanguíneos cranianos, presumivelmente através da ativação de fibras nervosas sensoriais perivasculares. No entanto, essa linha de evidência foi rebatida posteriormente por falta de evidências consistentes de vasodilatação durante as crises de migrânea e pela demonstração de que, tanto os agentes vasodilatadores capazes de gerar cefaleia, quanto agentes vasoconstritores, capazes de aliviá-la, têm reconhecida ação neural, além de seus efeitos no diâmetro dos vasos sanguíneos (STRASSMAN & LEVY, 2006).

Atualmente, é bem aceito que a ativação e a sensibilização de neurônios nociceptivos aferentes primários que inervam as meninges intracranianas e seus vasos sanguíneos relacionados constituem um dos primeiros eventos a promover a dor intracraniana da migrânea (LEVY, BURSTEIN & STRASSMAN, 2006). Essa ativação do nervo trigeminal leva a uma inflamação neurogênica dentro da vasculatura meníngea (dural), mediada pela liberação de neuropeptídeos, como o CGRP, e a substância P, pelas fibras sensoriais trigeminais. Tal inflamação neurogênica é caracterizada pelo aumento da permeabilidade endotelial e extravasamento de plasma protéico, vasodilatação e degranulação de mastócitos, que podem resultar tanto da ação direta desses neuropeptídeos sobre os vasos sanguíneos meníngeos, quanto por vias indiretas que envolvem a ativação de células imunes locais, e subsequente liberação de mediadores inflamatórios adicionais (LEVY, 2009; WILLIAMSON & HARGREAVES, 2001).

Apesar de haver uma variedade de gatilhos internos e externos do ataque de migrânea, tais como estresse, flutuações hormonais, distúrbios do sono, jejum, ou sobrecarga sensorial (LEVY, BURSTEIN & STRASSMAN, 2006; BUZZI, TASSORELLI & NAPPI, 2003), como exatamente ocorre a ativação e a sensibilização do sistema trigeminovascular na crise de migrânea permanece desconhecido.

Uma teoria proposta é a da depressão alastrante cortical – uma onda de propagação lenta de excitação e inibição neural associada à liberação de agentes excitatórios como potássio, glutamato e íons hidrogênio (AYATA, 2010; BURSTEIN, JAKUBOWSKIA & RAUCH, 2011). Primeiramente identificada por Leão (LEÃO, 1944) em coelhos, esse distinto fenômeno eletrofisiológico tem sido considerado o mecanismo mais aceito no desencadeamento de crises na migrânea com aura, visto que a depressão alastrante cortical é considerada o evento neurobiológico que explica o fenômeno da aura (GASPARINI, SUTHERLAND & GRIFFITHS, 2013). Apesar de ser capaz de ativar o sistema trigeminovascular, seu papel no desencadeamento de crises, principalmente na migrânea sem aura, requer maior comprovação (MOSKOWITZ, 2007).

A migrânea é reconhecida como uma doença com forte componente hereditário. Migrânea com aura e sem aura estão associadas a um risco substancial de ocorrência familiar, e estudos epidemiológicos genéticos têm sugerido que ambas apresentam hereditariedade distintas (SILBERSTEIN & DODICK, 2013). Parentes de primeiro grau de probandos com migrânea sem aura têm risco 1.9 vezes maior de apresentarem migrânea sem aura, enquanto para migrânea com aura o risco é quatro vezes maior para a ocorrência de migrânea com aura (RUSSELL, ISELIUS & OLESEN, 1996). Em estudo com gêmeos, a taxa de concordância entre os pares é significativamente maior nos gêmeos monozigóticos do que nos dizigóticos para migrânea com aura, reforçando a importância dos fatores genéticos em sua etiologia (ULRICH *et al.*, 1999).

Outro forte indício da contribuição genética na migrânea é a associação de mutações específicas em uma forma rara de migrânea denominada migrânea hemiplégica familiar. Mutações associadas a esse subtipo de migrânea foram encontradas em três genes (CACNA1A, ATP1A2 e SCN1A), resultando em alterações no funcionamento de canais de cálcio e de sódio, e na bomba de sódio/potássio (GASPARINI, SUTHERLAND & GRIFFITHS, 2013).

Estudos de associação genômica ampla têm sido conduzidos na tentativa de identificar genes associados ao aumento do risco de migrânea. O primeiro polimorfismo de nucleotídeo único encontrado foi o rs1835740, que pode estar relacionado com o acúmulo de glutamato na sinapse (ANTTILA *et al.*, 2010). Posteriormente, outros polimorfismos associados à migrânea cujos resultados foram replicados foram o rs9908234, localizado no gene do receptor do fator de

crescimento neural (NGF, do inglês “*Nerve Growth Factor*”) (LIGTHART *et al.*, 2011), o rs10166942, implicado na dor neuropática, e o rs11172113, envolvido na transmissão sináptica glutamatérgica (CHASMAN *et al.*, 2011; FREILINGER *et al.*, 2012). No entanto, vários outros *loci* de suscetibilidade já foram identificados na migrânea, mas os resultados são inconclusivos, visto que, geralmente, não se replicam em outras amostras, indicando o caráter poligênico e multifatorial, com importante contribuição de fatores ambientais (GARDNER, 2006; SILBERSTEIN & DODICK, 2013; GASPARINI, SUTHERLAND & GRIFFITHS, 2013).

1.3 Aspectos Neuroanatômicos

A fase da cefaleia em um ataque de migrânea se origina da ativação de nociceptores que inervam os vasos sanguíneos piais, aracnóides e durais, e as grandes artérias cerebrais e os grandes seios (STRASSMAN & LEVY, 2006). Esses neurônios se originam do gânglio trigeminal e alcançam a dura através, principalmente, do ramo oftálmico do nervo trigeminal, e, em menor extensão, da divisão maxilar e mandibular desse nervo, e também do gânglio da raiz dorsal cervical superior, que, juntamente com suas conexões com neurônios de terceira e quarta ordem, compõem o sistema trigeminovascular (MONTERO *et al.*, 2013). Consistem de fibras não mielinizadas (tipo C) e finamente mielinizadas (tipo A γ), contendo neuropeptídeos vasoativos, dentre eles CGRP, substância P e neurocinina A (AGUGGIA *et al.*, 2013; MONTERO *et al.*, 2013).

O aumento de resposta desses neurônios nociceptivos é responsável pela sensibilização periférica na migrânea. Sensibilização periférica é um estado em que neurônios nociceptivos primários apresentam um aumento de responsividade a estímulos externos mecânicos ou térmicos no local original da inflamação ou lesão, que se manifesta como nova resposta diante de estímulo previamente inefetivo, ou até ausente, indicando diminuição do limiar de ativação (BURSTEIN, JAKUBOWSKIA & RAUCH, 2011).

Na migrânea, a sensibilização periférica se manifesta clinicamente pelo caráter pulsátil da cefaleia e seu agravamento por ações que aumentam a pressão intracraniana como tossir, curvar-se ou fazer atividades físicas, atividades essas indolores fora de crise, e se deve à sensibilização de nociceptores que inervam as meninges (PIETROBON & STRIESSNIG, 2003).

As projeções centrais dos aferentes entram no tronco encefálico pelo trato trigeminal e terminam em neurônios de segunda ordem, localizados no núcleo trigeminal caudal (NTC) e no corno dorsal da medula cervical superior (C1-C3), denominados complexo trigeminocervical, no qual recebem projeções adicionais de músculo e pele adjacentes (TATJI *et al.*, 2011) (**Figura 1**). A sensibilização dos neurônios de segunda ordem é denominada sensibilização central e refere-se a uma condição em que os neurônios apresentam aumento da excitabilidade e ampliação de seus campos receptivos para além do local original. Uma vez iniciada, essa sensibilização pode ocorrer até mesmo na ausência de estímulo inócuo (BURSTEIN, JAKUBOWSKIA & RAUCH, 2011). Na migrânea, a sensibilização central é responsável pela hipersensibilidade extracraniana, manifestada clinicamente pela alodinia cutânea (dor provocada por estímulo da pele que normalmente não produz dor) e pela sensibilidade muscular, frequente nestes pacientes (AGUGGIA *et al.*, 2013).

Estudos clínicos sugerem que em torno de dois terços dos pacientes com migrânea sofrem a experiência da alodinia cutânea. Além de ser um marcador de sensibilização central, a alodinia tem sido proposta como um fator de risco para progressão para migrânea crônica (LIPTON *et al.*, 2008). Os mecanismos da sensibilização central e alodinia na migrânea ainda são pouco conhecidos. A ação do glutamato sobre receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) dos neurônios é um dos possíveis mecanismos desta sensibilização (LONGONI & FERRARESE, 2006).

Uma vez ativados, os neurônios de segunda ordem do complexo trigeminocervical emitem projeções para diversas áreas do hipotálamo e núcleos talâmicos, e também para outros núcleos do tronco encefálico, como substância cinzenta periaquedutal, núcleo dorsal da rafe, locus cerúleo, formação reticular, núcleo do trato solitário, entre outros (NOSEDA & BURSTEIN, 2013). Esses núcleos funcionam como estações de retransmissão que modulam a entrada de dor dos tratos trigeminotalâmico e espinotalâmico através de vias descendentes (AGUGGIA *et al.*, 2013).

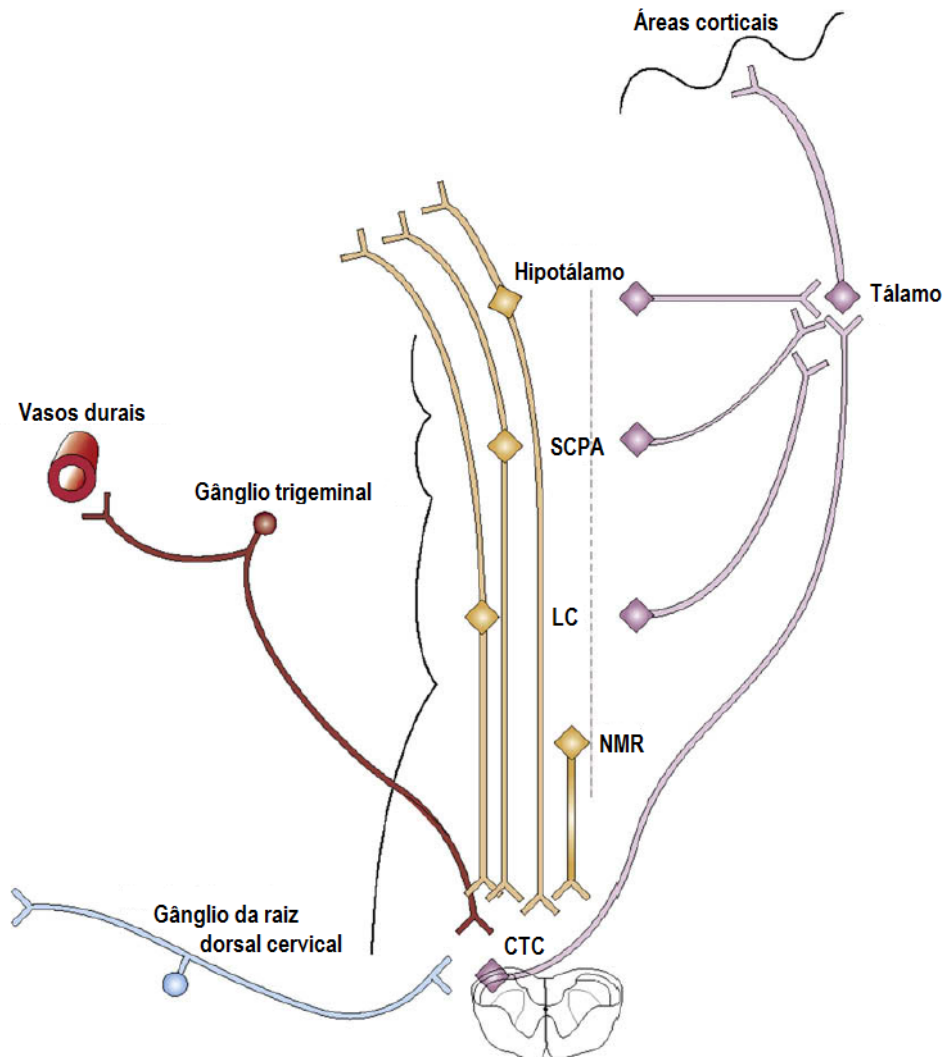


Figura 1: Esquema representativo de algumas das estruturas envolvidas na transmissão nociceptiva trigeminovascular que forma a base da fisiopatologia da migrânea. Aferentes que inervam os vasos durais se projetam a partir do nervo trigeminal até neurônios de segunda ordem no complexo trigeminocervical (CTC). Esses neurônios se projetam para núcleos do tálamo e então para áreas corticais. Do CTC também partem projeções para diversas áreas do hipotálamo e núcleos do tronco encefálico, como substância cinzenta periaquedutal (SCPA), locus cerúleo (LC), e núcleo magno da rafe (NMR), que exercem influências descendentes modulando a entrada da dor (adaptado de Goadsby, 2009).

Baseados em evidências de aumento do fluxo sanguíneo encefálico, durante as crises de migrânea, em alguns desses núcleos do tronco encefálico envolvidos no controle da dor, alguns autores sugerem que a disfunção destes núcleos possa disparar as crises de migrânea (tronco encefálico como gerador da migrânea) ou contribuir para a sensibilização central das vias trigeminais (papel permissivo para as crises) (PIETROBON & STRIESSNIG, 2003; TATJI *et al.*, 2011). Outros autores defendem o possível papel do hipotálamo como gerador das crises de migrânea,

tendo em vista a origem hipotalâmica de muitos sintomas premonitórios da crise de migrânea e a correlação entre flutuações hormonais com a ocorrência de migrânea em mulheres (ALSTADHAUG, 2009; DENUELLE *et al.*, 2007).

Projeções nociceptivas do tálamo ascendem para o córtex sensitivo primário e para a ínsula, sugerindo seu papel na discriminação sensorial da dor na migrânea, como localização, intensidade e qualidade, enquanto projeções para outras áreas corticais, como córtex motor, de associação parietal, retrosplenial, somatossensorial, auditivo, visual e olfatório, sugerem seu papel na dificuldade de se concentrar, na amnésia transitória, na alodinia, na fonofobia, na fotofobia e na osmofobia (MONTERO *et al.*, 2013; NOSEDA & BURSTEIN, 2013).

1.4 Migrânea e Inflamação

Muitas evidências apontam para a importância dos mecanismos imunológicos, particularmente relacionados à inflamação, no desencadeamento das crises de cefaleia em indivíduos migranosos. Uma das evidências é o importante papel dos neuropeptídeos.

Goadsby e colaboradores (1988) demonstraram o aumento dos níveis de neuropeptídeos, tais como CGRP e substância P, em veia jugular durante crises migranosas. O aumento nos níveis de CGRP também foi evidenciado no líquido e na saliva de pacientes com migrânea (GALLAI *et al.*, 2003; JANG *et al.*, 2011). Alguns autores demonstraram que a administração intravenosa de CGRP induziu crises tipicamente migranosas em indivíduos com migrânea, o mesmo não ocorrendo em controles (HANSEN *et al.*, 2010; LASSEN *et al.*, 2002). Além disso, tais neuropeptídeos são alvo das principais drogas atualmente existentes para o tratamento abortivo das crises migranosas, como os derivados ergóticos e os triptanos, capazes de bloquear sua liberação pelos terminais trigeminais e antagonizar o processo inflamatório (BENEMEI *et al.*, 2009).

Acredita-se que o CGRP e a substância P sensibilizem nociceptores indiretamente pela liberação de mediadores inflamatórios como histamina, bradicinina, fator de necrose tumoral (TNF) e NO por outras células imunes, especialmente, mastócitos, a partir de processo conhecido como degranulação de mastócitos (BURSTEIN, JAKUBOWSKIA & RAUCH, 2011). A liberação perivascular de CGRP pelo nervo trigemio induz a vasodilatação e a degranulação de mastócitos,

enquanto a substância P é capaz de promover o extravasamento de proteínas, ambos neuropeptídeos disparando a cascata inflamatória (RADDANT & RUSSO, 2011).

Há várias evidências do envolvimento dos mastócitos na migrânea, dentre eles: a) sua localização preferencial na camada dural das meninges (próximos a vasos sanguíneos e em estreita oposição aos terminais de nociceptores meníngeos); b) sua ativação e degranulação na presença de neuropeptídeos como substância P e CGRP, e por gatilhos de migrânea como estresse, hormônios sexuais ovarianos, disfunção parassimpática; c) e evidências do envolvimento da histamina, seu principal constituinte, na migrânea (LEVY, 2009). Além disso, a ativação e a degranulação dos mastócitos levam à liberação de várias substâncias pró-inflamatórias, como histamina, leucotrienos, prostaglandinas, citocinas (como TNF e interleucina (IL)-6) e quimiocinas; várias dessas alteradas na migrânea (RADDANT & RUSSO, 2011; GILFILLAN, AUSTIN & METCALFE, 2011).

Alguns estudos investigaram o papel do NO na Fisiopatologia da migrânea. Os níveis de NO foram encontrados aumentados durante crise de migrânea, quando comparados a controles (FIDAN *et al.*, 2006); e substâncias liberadoras de NO, tais como os nitratos, capazes de desencadear a liberação de CGRP, são capazes de induzir crises migranosas (OLESEN, 2008).

Considerando que a infusão de CGRP é capaz de induzir crise tipicamente migranosa em indivíduos com migrânea, mas não em controles (HANSEN *et al.*, 2010), Capuano e colaboradores (2014) investigaram, em ratos, o papel da sensibilização do sistema trigeminovascular, induzida pela infusão prévia de NO na resposta à administração de CGRP. Os autores observaram que apenas os ratos que receberam tratamento prévio com NO desenvolveram comportamento de dor à infusão de CGRP, evidenciando o importante papel do NO na sensibilização central do sistema trigeminovascular.

Apesar de estudos falharem em demonstrar aumento de contagem de plaquetas, várias linhas de evidência têm demonstrado alteração no metabolismo da serotonina em pacientes com migrânea (DANESE, MONTAGNANA & LIPPI, 2014). Além disso, o aumento de agregabilidade plaquetária (SARCHIELLI *et al.*, 2004a) e o aumento de agregados plaqueta-leucócito têm sido descritos em paciente com migrânea (ZELLER *et al.*, 2005). Tanto a ativação e a degranulação plaquetárias quanto a formação de agregados plaqueta-leucócito podem resultar em um aumento

da liberação de várias citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-1 β , fator de transformação de crescimento beta (TGF- β), CCL3/MIP-1 α (Proteína inflamatória do macrófago-1 α), CCL5/RANTES (Regulada sob ativação, expressa e secretada por células T normais) e CXCL8/IL-8, e isso pode estar contribuindo para a inflamação neurogênica (KLINGER, 1997; NEUMANN *et al.*, 1997; DANESE, MONTAGNANA & LIPPI, 2014).

As citocinas têm sido alvo de muitos estudos em migrânea. São moléculas reguladas tanto por células imunes quanto não imunes, que possuem múltiplas atividades biológicas por promover a interação célula-célula, e que exercem importante papel na imunologia, inflamação e dor (BRUNO *et al.*, 2007; BORISH & STEINKE, 2003). Citocinas e seus receptores estão amplamente expressos no sistema nervoso central (SNC) por todos os tipos de células, incluindo neurônios, indicando que elas podem agir sobre receptores neuronais (WAEBER & MOSKOWITZ, 2005).

Várias citocinas foram encontradas alteradas durante as crises de migrânea. Foram observados aumentos de IL-6 (UZAR *et al.*, 2011; FIDAN *et al.*, 2006; SARCHIELLI *et al.*, 2006a), IL-1 β (UZAR *et al.*, 2011; PERINI *et al.*, 2005 ; SARCHIELLI *et al.*, 2006a), IL-10 (FIDAN *et al.*, 2006, PERINI *et al.*, 2005; MUNNO *et al.*, 2001), TNF (PERINI *et al.*, 2005 ; SARCHIELLI *et al.*, 2006a) e redução de IL-4 (SARCHIELLI *et al.*, 2006a; MARTELLETTI *et al.*, 1997), no sangue, e aumento de antagonista de receptor da IL-1 (IL-1ra) e TGF- β , no líquido (BO *et al.*, 2009).

No período interictal foram relatados níveis sanguíneos aumentados de IL-6 (KOÇER *et al.*, 2009; FIDAN *et al.*, 2006) e TGF- β (ISHIZAKI *et al.*, 2005,) e reduzidos de IL-2 (PERINI *et al.*, 2005; SHIMOMURA *et al.*, 1991) e TNF (PERINI *et al.*, 2005) em relação a controles. A evidência de alterações sistêmicas de citocinas no período interictal pode indicar sua participação na fisiopatologia da migrânea, aumentando a vulnerabilidade encefálica a crises migranosas.

Níveis elevados dessas citocinas podem estimular a ativação de nervos trigeminais e a liberação de peptídeos vasoativos, contribuindo, assim, para a inflamação (BRUNO *et al.*, 2007). As citocinas também podem estar relacionadas à dor na migrânea. Dentre as citocinas encontradas alteradas, IL-1 β , IL-6 e TNF têm potencial papel na dor inflamatória através da ativação e da sensibilização de nociceptores meníngeos (VERRI *et al.*, 2006).

Acredita-se que esses mediadores possam promover a sensibilização periférica de nociceptores através da liberação endógena de eicosanóides e aminas simpáticas, que são mediadores finais da nocicepção (VERRI *et al.*, 2006; SACHS *et al.*, 2002). Embora haja evidências sugerindo efeito direto de algumas citocinas (TNF e IL-1 β) no desenvolvimento de nocicepção inflamatória, seus principais efeitos parecem ser indiretos (VERRI *et al.*, 2006). Considerando o papel das citocinas na inflamação estéril e na modulação da dor, é provável que estas moléculas possam estar envolvidas nos ataques de migrânea (LEVY, 2009).

Citocinas também podem afetar a liberação e a recaptação de glutamato de neurônios, astrócitos e plaquetas. O glutamato, por sua vez, pode estimular a produção de citocinas e estar envolvido na inflamação (OMOIGUI, 2007; LONGONI & FERRARESE, 2006). Alguns estudos têm mostrado níveis elevados de glutamato em pacientes migranosos, quando comparados com controles, tanto no sangue, líquido, quanto em plaquetas (GALLAI *et al.*, 2003; CANANZI *et al.*, 1995), sugerindo haver uma homeostase alterada do glutamato na migrânea. Postula-se que o glutamato esteja envolvido na sensibilização neuronal agindo sobre receptores NMDA ao nível do núcleo trigeminal (LONGONI & FERRARESE, 2006).

As alterações nos níveis de citocinas, tanto no período ictal, quanto interictal, já estão bem estabelecidas na literatura. Desta forma, os marcadores inflamatórios investigados neste estudo foram as quimiocinas e a adiponectina.

1.4.1. Quimiocinas

Quimiocinas são uma família de pequenas proteínas (8–10 kDa) responsáveis pelo recrutamento e ativação de leucócitos em resposta a estímulos pró-inflamatórios (BORISH & STEINKE, 2003). Cerca de 50 quimiocinas diferentes já foram identificadas, e, de acordo com o número e com a localização dos resíduos de cisteína N-terminais, são classificadas nas seguintes subfamílias: CC, CXC, C e CX3C. A subfamília CC é a maior delas, com 28 membros, sendo quimiotáticas para monócitos, eosinófilos, basófilos, linfócitos T, células natural killer (NK) e células dendríticas, com um importante papel nos processos alérgicos e de inflamação crônica. As quimiocinas CXC são a segunda maior subfamília, sendo primariamente quimiotáticas para neutrófilos, mas também linfócitos e monócitos (SAVARIN-VUAILLAT & RANSOHOFF, 2007).

Os receptores de quimiocinas incluem dez receptores CC (CCR1 a CCR10), sete receptores CXC (CXCR1 a CXCR7), um XCR1 e um CX3CR1. A maioria das quimiocinas ativa vários destes receptores (CHARO & RANSOHOFF, 2006). No SNC, as quimiocinas e os seus receptores são normalmente expressos em células microgliais, astrócitos e neurônios, e sua expressão pode aumentar após indução por mediadores inflamatórios. A maioria das quimiocinas é detectada em condições patológicas (GAO & JI, 2010; BAJETTO *et al.*, 2001).

As quimiocinas exercem papel essencial na neuroinflamação e sua superexpressão tem sido implicada em diferentes doenças neurológicas, como esclerose múltipla, trauma encefálico, doença de Alzheimer (MOREIRA *et al.*, 2006; KUSHI *et al.*, 2003; CORRÊA *et al.*, 2011) e transtornos neuropsiquiátricos (BARBOSA *et al.*, 2013a; FONTENELLE *et al.*, 2012).

Alguns estudos verificaram os níveis de quimiocinas em pacientes com migrânea. Sarchielli e colaboradores (2004b) mostraram aumento de CXCL8/IL-8, mas não de CCL5/RANTES e CCL2/MCP-1 (Proteína quimiotática de monócitos-1) em pacientes durante a crise de migrânea. Fidan e colaboradores (2006) mostraram aumento dos níveis de CCL5/RANTES durante ataque de migrânea, mas não no período interictal. Bo e colaboradores (2009) evidenciaram aumento líquido dos níveis de CCL2/MCP-1 durante ataque de migrânea.

A liberação de quimiocinas em locais de inflamação em resposta a citocinas pró-inflamatórias tem reconhecido papel na ativação e recrutamento leucocitário, mas há evidências crescentes do seu envolvimento em outros processos biológicos, incluindo atividade vascular, sobrevivência celular e também na dor (COMBADIÈRE *et al.*, 2008; ABBADIE, 2005).

A primeira quimiocina associada à dor foi a CXCL8/IL-8, cuja indução de hipersensibilidade parece ser indireta, resultante da liberação endógena de aminas simpáticas (SACHS *et al.*, 2002). Outras quimiocinas podem agir como neuromoduladores diretos, como o caso da CCL3/MIP-1 α , capaz de promover sensibilização do receptor de potencial transitório vaniloide do tipo um (TRPV1) (receptor necessário na hiperalgesia térmica induzida por inflamação) (ZHANG *et al.*, 2005) ou de receptores de opióides (ZHANG *et al.*, 2004).

Outra quimiocina muito estudada e relacionada à nocicepção é a CCL2/MCP-1. Ela pode excitar diretamente neurônios primários nociceptivos do gânglio da raiz dorsal por processos autócrinos e parácrinos, e também pode modular a atividade

pós-sináptica de células neuronais e gliais do corno posterior da medula, facilitando a transmissão da dor (ABBADIE *et al.*, 2009).

Portanto, quimiocinas podem estar alteradas na migrânea, podendo exercer papel tanto sobre a inflamação quanto sobre a dor, e seu estudo, particularmente no período fora da crise, pode ampliar a compreensão a respeito da fisiopatologia da migrânea.

1.4.2. *Adiponectina*

Evidências indicam que a obesidade é um fator de risco para cefaleias (KEITH *et al.*, 2008). Obesidade tem sido associada a maior risco de migrânea (PETERLIN *et al.*, 2013a) e maior frequência e gravidade de crises (BIGAL, LIBERMAN & LIPTON, 2006). Scher e colaboradores (2003), em um estudo longitudinal, relataram que o sobrepeso aumenta em duas vezes o risco de cronicidade na migrânea e que obesos (índice de massa corpórea (IMC) ≥ 30) têm um risco de migrânea crônica cinco vezes maior do que indivíduos com peso normal. A perda de peso, inclusive, é sugerida como uma possível estratégia para alívio de cefaleias em indivíduos obesos (BOND *et al.*, 2011).

Não se sabe exatamente quais são os mecanismos pelos quais essa associação ocorre, mas acredita-se que seja multifatorial, e algumas hipóteses têm sido sugeridas. A obesidade, considerada um estado proinflamatório, é associada ao aumento de CGRP. O aumento do tecido adiposo, durante o ganho de peso, leva ao recrutamento de macrófagos e células T, assim como a síntese de citocinas como TNF, IL-1 e IL-6, favorecendo a inflamação crônica sistêmica. Além disso, outras adipocinas, como leptina e adiponectina, também podem estar envolvidas com a liberação de mais mediadores inflamatórios. Dessa forma, o estado inflamatório que existe na obesidade pode exacerbar a resposta inflamatória na migrânea, possivelmente, contribuindo para cefaleias mais intensas e frequentes (EVANS *et al.*, 2012; BIGAL *et al.*, 2007a; PETERLIN, 2009).

O tecido adiposo não é um tecido inerte, destinado simplesmente ao estoque de energia, mas sim um órgão endócrino ativo, com importantes papéis fisiológicos e patológicos. Além de regular a homeostasia energética, regulando o metabolismo de lipídios e glicose, também é importante em outros processos, incluindo imunidade e inflamação (FANTUZZI, 2005).

O tecido adiposo branco é capaz de produzir mais de 50 citocinas, denominadas adipocinas, que exercem seus efeitos por ação endócrina, parácrina, autócrina e justácrina, e recentemente tem se considerado seu papel na ligação entre o sistema imune e o SNC e periférico (LAGO *et al.*, 2007). As adipocinas mais estudadas são a leptina e a adiponectina, mas outras adipocinas, como citocinas (exemplo, TNF, IL-6 e IL-1) e quimiocinas (exemplo, CCL2/MCP-1, CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES) também são importantes, exercendo papel pró-inflamatório e anti-inflamatório (FANTUZZI, 2005; TRAYHURN & WOOD, 2004). A leptina é uma adipocina primariamente pró-inflamatória, enquanto o papel da adiponectina no sistema imune é mais controverso (STOFKOVA, 2009).

Adipócitos são a fonte mais importante de adiponectina, mas outros tipos celulares, como as células musculares esqueléticas, cardíacas, endoteliais e linfócitos, também podem produzir esta adipocina, apesar de ser pouco provável que essas outras fontes contribuam de modo significativo para seus níveis circulante em condições fisiológicas (FANTUZZI, 2013)

A adiponectina existe na forma de proteína completa e na forma globular, que se refere ao domínio C-terminal resultante de clivagem proteolítica. A adiponectina na forma completa pode existir como um trímero (denominada adiponectina de baixo peso molecular), como um hexamero (médio peso molecular) ou como oligômero, com 4 a 6 trimeros (alto peso molecular). Ela circula em altas concentrações no soro humano; no entanto, a presença da forma globular na circulação é questionada (TILG & MOSCHEN, 2006).

Ela atua através da interação com três diferentes receptores: AdipoR1 e AdipoR2 e T-caderina. O AdipoR1 é expresso, principalmente, no músculo esquelético; o AdipoR2, principalmente no fígado; e o T-caderina em células endoteliais e em músculo liso (ROBINSON, PRINS & VENKATESH, 2011). No sangue humano, AdipoR1 e AdipoR2 se expressam em grande parte dos monócitos, em parte das células B e células NK, e em pequena parte das células T, com suposto papel imunorregulatório (PANG & NARENDRAN, 2008).

No SNC, ambos os receptores foram encontrados no hipotálamo e em células endoteliais (KADOWAKI, YAMAUCHI & KUBOTA, 2008). Segundo Spranger e colaboradores (2006), as células endoteliais cerebrais não secretam adiponectina, mas expressam seus receptores; a adiponectina, por sua vez, pode exercer papel inibitório sobre a liberação de citocinas, principalmente IL-6, por essas células. Os

autores também evidenciaram que a adiponectina não é capaz de cruzar a barreira hematoencefálica.

A adiponectina é conhecida primariamente por suas propriedades anti-inflamatórias, sendo que seus níveis plasmáticos estão reduzidos em condições de inflamação de baixo grau como obesidade, resistência insulínica e aterosclerose (VILLARREAL-MOLINA & ANTUNA-PUENTE, 2012). Dentre as doenças neuroinflamatórias e neurodegenerativas, é encontrada reduzida na esclerose múltipla (MUSABAK *et al.*, 2011) e na doença de Alzheimer (TEIXEIRA *et al.*, 2013). São descritas suas propriedade anti-inflamatórias por sua capacidade de inibir a ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF-kB, fator que regula a expressão de genes essenciais a resposta imunológica e inflamatória), reduzir a síntese de moléculas de adesão, de citocinas como interferon gama, IL-6 e TNF, e de induzir a secreção de IL-10 e o IL-1ra (CARBONE, LA ROCCA & MATARESE, 2012).

Por outro lado, o aumento nos níveis de adiponectina está presente em várias doenças inflamatórias crônicas e autoimunes como a artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistêmico e doença inflamatória do intestino (FANTUZZI, 2008). Há relatos de sua capacidade de estimular a produção de CXCL8/IL-8 por fibroblastos sinoviais na artrite reumatóide (KITAHARA *et al.*, 2009), e induzir IL-6 e CCL2/MCP-1 em cultura de condrócitos (LAGO *et al.*, 2008).

Estudos têm descrito que a adiponectina exerce propriedades pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias a depender da forma ou multímero envolvido. A adiponectina de baixo peso molecular parece ter efeitos anti-inflamatórios por reduzir a secreção de IL-6 e aumentar a de IL-10, e a de alto e médio peso molecular efeitos pró-inflamatórios por induzir a secreção de citocinas pró-inflamatórias, entre elas IL-6 (NEUMEIER *et al.*, 2006; TILG & MOSCHEN, 2006). A forma globular ativa a via pró-inflamatória do NF-kB e induz a secreção das citocinas IL-6 e TNF (PETERLIN, 2009).

São escassos e inconclusivos os estudos com dosagem de adiponectina em pacientes com migrânea. O primeiro artigo a explorar a associação entre adiponectina e migrânea demonstrou aumento interictal da adiponectina sérica total e dos multímeros de alto e médio peso molecular na cefaleia diária crônica, mas não na migrânea episódica, em relação aos controles (PETERLIN *et al.*, 2008). Posteriormente, outros dois estudos, com mulheres migranosas, também fora de

crise, não evidenciaram alterações nos níveis de adiponectina em relação a controles (TIETJEN *et al.*, 2010; BERNECKER *et al.*, 2010). Recentemente, uma revisão sistemática sugeriu que a relação entre migrânea e adiponectina permanece indefinida (LIPPI *et al.*, 2014). Portanto, há necessidade de novos estudos para comprovar ou não tal associação e a sua importância na fisiopatologia da migrânea.

Várias comorbidades neuropsiquiátricas, como depressão, ansiedade, e transtorno bipolar, já foram descritas na migrânea (PETERLIN & WARD, 2005), sendo que tais comorbidades também estão associadas a alterações nos níveis de adiponectina. Níveis reduzidos de adiponectina são encontrados em pacientes com depressão e distúrbios de ansiedade (CARVALHO *et al.*, 2014; MAVROCONSTANTI, HALMOY & HAAVIK, 2014) e aumentados em pacientes com transtorno bipolar (BARBOSA *et al.*, 2012). A interferência dessas comorbidades nos níveis de adiponectina em pacientes com migrânea não foi ainda avaliada ou controlada em estudos prévios.

Outros fatores importantes a influenciar os níveis de adiponectina são o gênero, a idade e o IMC. Os níveis de adiponectina são significativamente maiores no gênero feminino, e estão positivamente associados com a idade, e inversamente correlacionados ao IMC (SCHAUTZ *et al.*, 2012; CNOP *et al.*, 2003), constituindo-se, portanto, aspectos importantes a serem controlados em estudos com adiponectina.

1.5 Fatores Neurotróficos

Os fatores neurotróficos constituem uma família de proteínas que regulam aspectos como sobrevivência, desenvolvimento e funções dos neurônios, tanto no SNC quanto no sistema nervoso periférico (SNP) (REICHARDT, 2006). Podem ser divididos em três grandes famílias: a família das neurotrofinas (NT); a família do fator neurotrófico das células de linhagem glia; e a família das citocinas neuropoiéticas (BOYD & GORDON, 2003). Os principais membros da família das NTs são: o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF, do inglês “*Brain Derived Neurotrophic Factor*”), o NGF, a NT-3 e a NT-4/5. O principal membro da família do fator neurotrófico das células de linhagem glia é o fator neurotrófico derivado da glia (GDNF, do inglês “*Glial Derived Neurotrophic Factor*”) (MALIN & DAVIS, 2008).

As NTs são inicialmente produzidas como precursores “pró-neurotrofinas” (30-35 kDa). Posteriormente, são clivadas, transformando-se em proteínas diméricas,

com o peso de 12kDa. A ação celular das NTs é mediada por dois tipos de receptores, o p75 e os receptores da família tirosina quinase (Trk). As diferentes NTs demonstram uma afinidade específica para certos tipos de receptores. NGF combina-se preferencialmente com Trk A, BDNF e NT-4/5 com Trk B, NT-3 com Trk C. O receptor p75 pode se ligar a qualquer NT. A combinação de determinada NT com seu respectivo receptor inicia um complexo processo de sinalização intracelular que culmina com a modificação da expressão gênica, da síntese protéica e até mesmo com apoptose celular (REICHARDT, 2006; CHAO, 2003).

O NGF foi a primeira NT a ser descoberta. Ele está envolvido na nocicepção periférica, principalmente relacionada a processos inflamatórios (MENDELL, ALBERS & DAVIS, 1999). Os níveis de NGF estão aumentados em várias doenças inflamatórias e autoimunes, inclusive em condições de dor crônica associada à inflamação (FAUCHAIS *et al.*, 2013; ALOE *et al.*, 2012). Contudo, não se sabem exatamente os motivos da sua concentração aumentar, tampouco como isso afeta as respostas inflamatórias.

Os níveis de NGF estão aumentados em várias doenças neuroinflamatórias (COLAFRANCESCO & VILLOSLADA, 2011), e sua produção é induzida por citocinas envolvidas na inflamação, como IL-1 α , IL-4, IL-5, TNF, TGF- β e interferon- β . O NGF é expresso por células imunes como linfócitos T e B, macrófagos e mastócitos, que, por sua vez, têm mostrado responder ao NGF, visto que expressam seus receptores (BENNETT, 2001; COLAFRANCESCO & VILLOSLADA, 2011).

Estudando o papel do NGF na dor crônica de origem inflamatória e seu efeito na plasticidade das vias centrais, Pezet e colaboradores (2001) encontraram um aumento do receptor TrkA, de NGF, em neurônios sensoriais do gânglio da raiz dorsal, compatível com a nocicepção relacionada à resposta inflamatória crônica. Bennett (2001) sugere que, na inflamação, o NGF atue principalmente sobre nociceptores aumentando a sensibilidade térmica e química, provocando seus efeitos hiperalgésicos tanto diretamente sobre os nociceptores (através do receptor trkA) quanto indiretamente estimulando a liberação de mastócitos, agindo sobre eferentes simpáticos e ativando a via da 5-lipoxigenase.

Também já foi demonstrado que a hiperalgesia térmica induzida pelo NGF envolve a ativação do TRPV1, receptor necessário na hiperalgesia térmica induzida por inflamação (SHU & MENDELL, 1999a). No gânglio da raiz dorsal, a expressão de neuropeptídeos, como substância P e CGRP, por neurônios sensoriais primários

está sob controle do NGF (ALOE *et al.*, 2012). A administração de NGF é capaz de provocar hiperalgesia, e esse efeito é evitado em vários modelos de bloqueio ou de redução da síntese de NGF (ALLEN & DAWBARN, 2006).

Com relação às cefaleias primárias, Sarchielli e colaboradores (2001) relataram níveis elevados de NGF, assim como de substância P e CGRP, no líquido de pacientes com cefaleia diária crônica. Em outro estudo, pacientes com migrânea crônica apresentaram maiores níveis de NGF, substância P e CGRP no plasma e na saliva. Os níveis plasmáticos de NGF, substância P e CGRP correlacionaram-se positivamente. Os níveis dessas três substâncias tiveram correlação com a intensidade da dor (JANG *et al.*, 2011). Portanto, ambos os estudos sugerem provável papel do NGF na sensibilização e ativação do sistema trigeminal e na dor na migrânea.

Enquanto o NGF tem sido relacionado à dor de origem periférica, o BDNF parece agir centralmente como modulador de dor central, tanto a nível medular quanto em níveis supra-espinhais, contribuindo para a sensibilização central (THOMPSON *et al.*, 1999; PEZET & MCMAHON, 2006). O BDNF está amplamente distribuído no SNC, incluindo hipocampo, amígdala, hipotálamo e gânglios sensoriais e trigeminal, regiões chave na regulação da dor, do humor e do comportamento (ANGELUCCI, BRENE & MATHE, 2005).

Sugere-se que o BDNF esteja envolvido em aspectos de sensibilização central em condições de inflamação periférica. O BDNF é sintetizado por neurônios sensoriais primários, no gânglio da raiz dorsal, e sua expressão está bastante aumentada em modelos de dor inflamatória. Nessa situação, o aumento do BDNF é, em grande parte, secundário à ação do NGF. De fato, moléculas que bloqueiam a ação do NGF previnem o aumento do BDNF induzido pela inflamação (PEZET, MALCANGIO & MCMAHON, 2002; ALLEN & DAWBARN, 2006).

Bałkowiec-Iskra e colaboradores (2011) examinaram o efeito do TNF na expressão de BDNF em cultura de neurônios sensoriais do gânglio trigeminal de ratos. Observaram um aumento na expressão de BDNF associado a aumento de CGRP em resposta ao TNF, por mecanismo independente da ação do NGF. Segundo esses autores, tais achados têm potencial implicação na Fisiopatologia da migrânea.

Buldyrev e colaboradores (2006) também verificaram a co-expressão de CGRP e BDNF em neurônios do gânglio trigeminal de ratos, e que o CGRP

potencializa a liberação de BDNF de forma dose-dependente, e que o pré-tratamento com antagonista de receptor de CGRP é capaz de abolir tal resposta. Tais mecanismos também podem estar relacionados à Fisiopatologia da migrânea.

No sistema nervoso, neurônios são considerados a principal fonte celular de BDNF, mas células T, células B e monócitos humanos ativados também são capazes de secretar BDNF bioativo *in vitro* (KERSCHENSTEINER *et al.*,1999). Os níveis de BDNF estão aumentados em algumas doenças inflamatórias, como lúpus eritematoso sistêmico (FAUCHAIS *et al.*, 2013), esclerose múltipla (MASHAYEKHI, SALEHI & JAMALZADEH, 2012; FROTA *et al.*, 2009), e relacionados à dor crônica, como fibromialgia (HAAS *et al.*, 2010). Imunorreatividade ao BDNF foi demonstrada em infiltrados inflamatórios nos cérebros de pacientes com encefalomielite disseminada aguda e esclerose múltipla (KERSCHENSTEINER *et al.*,1999).

Estudos prévios evidenciaram o aumento de BDNF no soro de indivíduos com migrânea durante a crise. Tanure e colaboradores (2010) compararam os níveis séricos de BDNF em nove pacientes com migrânea episódica durante e fora da crise de migrânea, evidenciando seu aumento durante a crise. Fischer e colaboradores (2012) compararam os níveis séricos de BDNF de pacientes com migrânea episódica com e sem aura, durante e fora de crise, com cefaleia em salvas, cefaleia tipo tensional e indivíduos controles. Pacientes com migrânea apresentaram maiores níveis de BDNF durante a crise em relação ao período interictal. Os níveis ictais de BDNF dos pacientes com migrânea foram maiores que entre os pacientes com cefaleia do tipo tensional e controles. Não observaram diferenças nos níveis de BDNF entre migrânea fora de crise e controles.

Sarchielli e colaboradores (2007) investigaram os níveis de NGF, BDNF e glutamato no líquido de vinte pacientes com migrânea crônica e vinte controles. Tais autores evidenciaram aumento dos níveis das duas NTs e do glutamato, e correlação positiva entre os níveis de BDNF e NGF e os níveis de BDNF e glutamato na migrânea crônica. Por outro lado, Blandini e colaboradores (2006) relataram redução dos níveis de BDNF e NGF em plaquetas em pacientes com migrânea fora de crise comparados com controles, sem alterações dos níveis plasmáticos de ambas as NTs.

O GDNF, originalmente caracterizado como um fator de crescimento relacionado à sobrevivência de neurônios dopaminérgicos do mesencéfalo, regula a

diferenciação e o desenvolvimento de muitos neurônios periféricos, e tem papel neuroprotetor (PARKASH *et al.*, 2008). No gânglio da raiz dorsal, metade dos neurônios sensoriais primários com fibras C não mielinizados depende de GDNF para sobrevivência, enquanto a outra metade depende de NGF (NAGANO *et al.*, 2003).

Estudos relatam a participação do GDNF na hiperalgesia inflamatória (FERRARI, BOGEN & LEVINE, 2010; FANG *et al.*, 2003). Além de seus níveis estarem aumentados durante a inflamação, ele também se mostrou capaz de induzir a expressão de TRPV1, efeito bloqueado por anticorpos contra GDNF (AMAYA *et al.*, 2004).

Por outro lado, há várias evidências do possível papel analgésico do GDNF. Há vários estudos com modelos de dor neuropática em que a administração de GDNF significativamente foi capaz de reduzir a alodinia cutânea (TAKASU *et al.*, 2011; HUBBARD *et al.*, 2009; ADLER *et al.*, 2009). O GDNF também é capaz de estimular a expressão de somatostatina, potente peptídeo regulador anti-inflamatório e analgésico produzido no SNC (ADLER *et al.*, 2009). Sarchielli e colaboradores (2006b) investigaram os níveis de GDNF no líquido de indivíduos com migrânea crônica, evidenciando sua redução significativa em relação a indivíduos controles.

Alguns estudos também têm demonstrado ações da NT-4/5 na hiperalgesia. Em um estudo experimental, Shu e colaboradores (1999) demonstraram que tanto o NGF quanto o BDNF e a NT-4/5 são capazes de induzir hiperalgesia térmica quando injetados localmente na pata traseira de ratos. Shu e Mendell (1999b) também demonstraram que o NGF e a NT-4/5 facilitam correntes evocadas pela capsaicina, sugerindo uma ação direta de tais fatores neurotróficos na ativação de TRPV1. Por outro lado, em ambos os estudos, a NT-3 não foi capaz de estimular fibras nociceptivas (SHU, LLINAS & MENDELL, 1999; SHU & MENDELL, 1999b). Ao que consta na literatura, não há estudo prévio com quantificação de NT-4/5 e NT-3 em pacientes com migrânea.

Portanto, fatores neurotróficos podem estar envolvidos na sinalização da dor e o seu aumento pode favorecer hiperalgesia e sensibilização das vias de dor na migrânea. No entanto, os estudos sobre fatores neurotróficos na migrânea ainda são escassos, e alguns, ainda, nem foram investigados.

Estudos prévios demonstram o envolvimento dos fatores neurotróficos em doenças neuropsiquiátricas, incluindo depressão (GRASSI-OLIVEIRA *et al.*, 2008;

DE AZEVEDO CARDOSO *et al.*, 2014), transtorno bipolar (BARBOSA *et al.*, 2013b; BARBOSA *et al.*, 2011) e esquizofrenia (REIS *et al.*, 2008; KOEVA *et al.*, 2014). Considerando que comorbidades psiquiátricas estão presentes em pacientes com migrânea (PETERLIN & WARD, 2005), os estudos de avaliação de fatores neurotróficos na migrânea devem levar em conta uma potencial interferência advinda da presença dessas comorbidades.

1.6 Migrânea Crônica

A distinção entre migrânea episódica e crônica não se restringe apenas a uma frequência menor ou maior do que quinze dias por mês com cefaleia. São grupos de pacientes que diferem no perfil epidemiológico e de sintomas, nas consequências funcionais e incapacidades, nas comorbidades, nos custos, no tratamento e nas suas respostas, levantando a possibilidade de mecanismos biológicos que, ao mesmo tempo, sobrepõem-se e também são distintos (KATSARAVA *et al.*, 2012).

No Brasil, a prevalência de migrânea crônica é de 5% da população, atingindo de forma mais significativa as mulheres na faixa etária de 30 a 39 anos, e associadas a condições de desemprego, alta renda familiar e sedentarismo (QUEIROZ *et al.*, 2008). Pacientes com migrânea crônica representaram 1,7% dos casos atendidos no Ambulatório de Cefaleias do Hospital das Clínicas da UFMG, no período de fevereiro a maio de 2011 (SILVA *et al.*, 2012). Katsarava e colaboradores (2004) acompanharam 532 pacientes com migrânea episódica por um ano e observaram que 14% progrediram para migrânea crônica.

Em relação à migrânea episódica, esses pacientes apresentam crises mais frequentes, porém menos intensas e de características menos migranosas (mais típicas de cefaleia tensional), mais perda de produtividade (dias perdidos na escola ou no trabalho) e usam mais medicação analgésica e profilática (LANTERI-MINET, 2014; AGUGGIA & SARACCO, 2010). As principais comorbidades encontradas nesses pacientes são depressão, ansiedade, obesidade, outras síndromes dolorosas crônicas e eventos vasculares (KATSARAVA *et al.*, 2012; SCHER *et al.*, 2003).

Indivíduos com migrânea crônica são pacientes que tiveram uma progressão a partir da migrânea episódica, com aumento da frequência de crises ao longo do tempo chegando a ter até dor constante. Essa progressão está intimamente ligada à

teoria de sensibilização central e alodinia (LIPTON & BIGAL, 2005). Scher e colaboradores (2003) descreveram algumas características clínicas que se associaram à progressão da doença, dentre elas, gênero feminino, raça caucasiana, baixa escolaridade, estado civil separado ou viúvo e uso excessivo de medicação. Alodinia cutânea, como um marcador de sensibilização central, também tem sido proposta como um fator de risco para progressão para migrânea crônica (LIPTON *et al.*, 2008).

O mecanismo de cronificação da migrânea ainda é pouco conhecido. Sugere-se que a progressão fisiológica da migrânea seja um indicativo de mudanças nos limiares nociceptivos (alodinia) e nas vias de dor (sensibilização central) (BIGAL & LIPTON, 2008). A sensibilização dos neurônios de segunda ordem, do NTC, por ativação repetitiva, poderia levar à disfunção das vias modulatórias da dor, dentre elas, a substância cinzenta periaquedutal, por liberação de radicais livres (AGUGGIA & SARACCO, 2010).

Estudos de neuroimagem funcional relatam alterações estruturais, como lesões de substância branca e redução de substância cinzenta, relacionadas à cronicidade da migrânea, no entanto estas não parecem ser exclusivas, visto que alterações similares também já foram encontradas em outras doenças dolorosas crônicas (AURORA, KULTHIA & BARRODALE, 2011).

Outro estudo, com ressonância magnética, identificou, tanto em pacientes com migrânea episódica quanto com cefaleia diária crônica, depósito de ferro na substância cinzenta periaquedutal, que se correlacionou com o tempo de duração da doença. Segundo os autores, esse acúmulo de ferro indica atividade metabólica anormalmente elevada nessa região, provavelmente causada pelas crises repetidas de migrânea (WELCH *et al.*, 2001).

Posteriormente outros estudos também verificaram ativação de outras áreas do tronco encefálico durante crises de migrânea compatíveis com o núcleo dorsal da rafe, locus cerúleos, núcleo vermelho, substância negra e ponte dorsolateral. Esses núcleos têm conexões bidirecionais com o sistema trigeminovascular e com estruturas diencefálicas envolvidas no processamento da dor, como tálamo e hipotálamo (DENUELLE & FABRE, 2013). Sugere-se que a disfunção desses núcleos, principalmente da substância cinzenta periaquedutal, possa favorecer a progressão da doença por prejuízos na modulação da dor (AURORA, KULTHIA & BARRODALE, 2011; BIGAL *et al.*, 2007a).

Outro mecanismo que pode estar envolvido na sensibilização central é a inflamação neurogênica crônica. O aumento de citocinas pró-inflamatórias evidenciado tanto durante as crises de migrânea, quanto no período interictal (KOÇER *et al.*, 2009; FIDAN *et al.*, 2006, ISHIZAKI *et al.*, 2005, PERINI *et al.*, 2005) pode ser um estímulo para ativação crônica do sistema trigeminal e das vias moduladoras da dor, favorecendo a progressão da doença.

1.7 Migrânea e Comorbidades

A migrânea cursa com comorbidade com uma série de outras doenças, muitas delas também relacionadas à inflamação. Entre elas, estão os transtornos neuropsiquiátricos, como depressão e ansiedade, as doenças vasculares, a fibromialgia e o sobrepeso.

A relação entre depressão, ansiedade e inflamação tem sido demonstrada. Em ambos os transtornos neuropsiquiátricos encontram-se aumento nas concentrações de citocinas circulantes pró-inflamatórias, como TNF e IL-6, e seu tratamento efetivo restaura os níveis de mediadores inflamatórios (HOU & BALDWIN, 2012).

Estudos demonstram que a depressão é pelo menos três vezes mais frequente em migranosos do que em controles (MERIKANGAS & STEAVENS, 1997; DOMINGUES *et al.*, 2008), e sua relação é bidirecional. Há um risco três vezes maior de aparecimento de migrânea em pacientes com depressão preexistente, e um risco cinco vezes maior de aparecimento de depressão em pacientes com migrânea pré-existente. Por outro lado, a presença de depressão não interfere na frequência de crises de migrânea, assim como nas incapacidades relacionadas com a migrânea ao longo do tempo (BRESLAU *et al.*, 2003).

Pacientes com migrânea têm incidência de ansiedade maior que controles (LUCCHETTI *et al.*, 2013; LANTÉRI-MINET *et al.*, 2005, BAG, HACIHASANOGLU & TUFEKCI, 2005). A associação entre migrânea e ansiedade está presente não apenas no transtorno de ansiedade generalizada, mas em pacientes com níveis subliminares de ansiedade (LUCCHETTI *et al.*, 2013).

No entanto, tal associação pode não ser específica da migrânea, mas relacionada à presença da dor. Estudando a relação entre três condições de dor (migrânea, artrite e lombalgia) e três distúrbios psiquiátricos (depressão, transtorno

de ansiedade generalizada e síndrome do pânico), McWilliams e colaboradores (2004) verificaram que a associação com os três distúrbios psiquiátricos era bastante similar para as três condições de dor. Os autores também notaram que a associação entre dor e ansiedade foi geralmente mais forte do que entre dor e depressão.

Não se sabe se a relação entre migrânea e distúrbios psiquiátricos é do tipo causal. Um estudo avaliou a associação cronológica entre os distúrbios psiquiátricos e a progressão da migrânea. Mercante e colaboradores (2011) descrevem que os distúrbios de ansiedade precedem o início da migrânea episódica, que é seguida pelo aparecimento de transtornos de humor, depressão e cefaleia diária.

A fibromialgia é uma síndrome dolorosa crônica, de etiologia desconhecida, caracterizada por dor difusa, associada a distúrbios do sono, à fadiga, à ansiedade, entre outros (DE TOMMASO *et al.*, 2011). Está presente em um quarto dos pacientes com migrânea e está associada a maior frequência de crises e maior ocorrência de ansiedade e depressão (MARCUS & BHOWMICK, 2013).

A migrânea e a fibromialgia têm uma série de similaridades que vão desde sinais e sintomas, até aspectos fisiopatológicos envolvendo mecanismos de controle de dor (sensibilização central) e disfunções neuroendócrinas (VALENÇA *et al.*, 2009). Na fibromialgia também se encontram alterações inflamatórias, entre elas a maior concentração de IL-1, IL-6, TNF e CXCL8/IL-8 (WALLACE, 2006). Sarchielli e colaboradores (2007) encontraram comportamento similar entre migrânea crônica e fibromialgia em relação às alterações líquóricas de BDNF, NGF e glutamato.

A associação entre migrânea e acidente vascular encefálico isquêmico tem sido sugerida em muitos estudos (BURING *et al.*, 1995; MERIKANGAS *et al.*, 1997; TIETJEN, 2005). As evidências são mais fortes para acidente vascular encefálico em mulheres jovens, particularmente com migrânea com aura, e ainda maior para as mulheres que fumam ou usam contraceptivos orais. Outros estudos têm indicado haver relação entre migrânea e doença coronariana, também com predomínio da migrânea com aura (SCHER *et al.*, 2005).

Diversas explicações têm sido aventadas para justificar as relações entre migrânea e doenças vasculares. A associação entre disfunção endotelial, mediada por estresse oxidativo, e inflamação é um dos mecanismos propostos, visto que o aumento de citocinas pró-inflamatórias tem sido reconhecido como fator de risco para acidente vascular encefálico e doença aterosclerótica coronariana (HAMED,

2009; TIETJEN, 2007).

Como descrito anteriormente, estudos sugerem que obesidade e migrânea são doenças diretamente relacionadas. As evidências da obesidade, exacerbando a migrânea, na forma de maior frequência e gravidade, são mais consistentes do que entre obesidade e prevalência de migrânea (BOND *et al.*, 2011). A relação inversa também ocorre. Indivíduos obesos têm maior prevalência de cefaleias primárias, principalmente migrânea, quando comparados a controles (PERES *et al.*, 2005).

É reconhecido que a obesidade está associada à presença de inflamação crônica de baixo grau e com aumento de citocinas pró-inflamatórias. Dessa forma, a inflamação parece ser a base comum entre essas doenças, destacando que o estado inflamatório existente na obesidade poderia exacerbar a resposta inflamatória na migrânea, possivelmente, contribuindo para cefaleias mais intensas e frequentes (EVANS *et al.*, 2012 ; BIGAL *et al.*, 2007a; PETERLIN, 2009).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo principal

Comparar a expressão de adiponectina, quimiocinas (CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CCL5/RANTES, CCL11/Eotaxina, CCL24/Eotaxina 2, CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10 (Proteína induzida por interferon-gama)) e fatores neurotróficos (BDNF, GDNF, NGF, NT-3 e NT-4/5) no soro de pacientes com migrânea, na ausência de cefaléia, e controles assintomáticos.

2.2 Objetivo secundário

Correlacionar os níveis de expressão das moléculas com parâmetros clínicos relacionados às cefaleias, como a idade, o tempo de doença, a idade de início, a frequência de crises, o impacto da doença, o escore de alodinia e os sintomas de ansiedade e depressão.

3 MÉTODOS

3.1 Delineamento do estudo

Trata-se de estudo do tipo transversal e controlado, em adultos selecionados no Ambulatório de Cefaleias da EMESCAM, Vitória-ES. Os pacientes foram selecionados a partir dos critérios de inclusão e exclusão definidos a seguir.

3.2 Casuística

Este estudo incluiu sujeitos divididos nos dois grupos descritos abaixo.

_ **Grupo Migrânea:** composto por indivíduos adultos com diagnóstico de migrânea, de ambos os gêneros, procedentes do Ambulatório de Cefaleias da EMESCAM, no período de junho a dezembro de 2011. O diagnóstico de migrânea, assim como de seus subtipos e a seleção dos sujeitos foram realizados pelo médico neurologista responsável pelo ambulatório, baseados nos critérios estabelecidos pela *International Headache Society* (HEADACHE CLASSIFICATION SUBCOMMITTEE OF THE INTERNATIONAL HEADACHE SOCIETY, 2004). A distribuição dos indivíduos com migrânea segundo seus subtipos (episódica e crônica, e com aura e sem aura) também foi realizada pelo médico neurologista (HEADACHE CLASSIFICATION SUBCOMMITTEE OF THE INTERNATIONAL HEADACHE SOCIETY, 2013).

_ **Grupo Controle:** composto por indivíduos adultos, sem qualquer síndrome dolorosa, provenientes de busca ativa, pela pesquisadora, no período de junho a dezembro de 2011, e com aceitação voluntária do participante. Esses sujeitos foram recrutados entre os voluntários saudáveis que estavam nas salas de espera acompanhando pacientes nas consultas dos ambulatórios da Santa Casa de Misericórdia. O grupo controle foi constituído por pareamento de idade e de gênero. Foram excluídos controles com história prévia de cefaleia primária.

3.2.1 Critérios de inclusão

- Adultos de ambos os gêneros, com idade mínima de 18 anos e máxima de 65 anos.

- Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Grupo Migrânea - Anexo A; Grupo Controle – Anexo B).

3.2.2. Critérios de exclusão

- Apresentar, nas últimas 4 semanas, doenças inflamatórias, alérgicas, infecciosas, autoimunes, hepáticas, neurodegenerativas ou neoplasia em atividade.
- Mulheres grávidas.
- Uso de corticosteróides ou imunossupressores nas últimas 4 semanas.
- Não assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.
- Foram excluídos indivíduos com cefaleia no momento da coleta.

3.3 Entrevista e Contato Inicial

O diagnóstico de migrânea foi realizado pelo médico neurologista com base na avaliação clínica, que constou de interrogatório cefaliátrico, habitualmente utilizado no Ambulatório de Cefaleias da EMESCAM, e exame clínico. Após a seleção dos indivíduos de ambos os grupos, foram realizados os esclarecimentos sobre o estudo, em sessão individual pela pesquisadora, e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e aplicação de questionários.

Foram aplicados questionários de anamnese semi-padronizada, Inventário de Ansiedade (BECK *et al.*, 1988) e Inventário de Depressão de Beck (BECK *et al.*, 1961), validados para português brasileiro por Gorestein e Andrade (1998), lista de sintomas da alodinia cutânea (FLORENCIO *et al.*, 2012) e teste do Impacto da cefaleia (MARTIN *et al.*, 2004). Todos os indivíduos tiveram peso e altura aferidos, e para posterior cálculo de IMC.

Os procedimentos realizados foram autorizados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da EMESCAM (Vitória-ES) (Anexo C).

_ Questionário de anamnese semi-padronizada:

Foram coletados dados sobre as características sócio-demográficas (idade, gênero, estado civil, etnia), história e características da migrânea (idade de início, tempo de doença, intervalo desde a última crise, frequência de crises no último

mês), diagnóstico cefaliátrico e tratamento medicamentoso (uso de analgésico no dia da entrevista, tipos de analgésicos utilizados no último mês e quantidade, e uso de medicamentos profiláticos para migrânea com dose e tempo de tratamento) (Anexo D). Os indivíduos controles responderam apenas às perguntas relacionadas às características sócio-demográficas.

_ Inventário de Ansiedade de Beck:

Para a avaliação da ansiedade foi usado o Inventário de Ansiedade de Beck (BECK *et al.*, 1988; GORESTEIN & ANDRADE, 1998) (Anexo E), que avalia sintomas característicos de ansiedade.

O inventário é composto de 21 questões sobre como o sujeito tem se sentido nos últimos sete dias, expressado em sintomas comuns de ansiedade, tais como dormência, suores frios e quentes, sentimento de medo etc. Cada questão tem um conjunto de quatro opções de respostas possíveis (absolutamente não, levemente, moderadamente e gravemente), que são organizados em colunas e são respondidas marcando-se um “X” na lacuna apropriada. Nos casos em que sujeito escolheu mais de um nível, foi registrado sempre o de maior intensidade. A soma dos escores obtidos em cada item resultou em um escore total, variando de 0 a 63 pontos. Um escore total de até 09 pontos indicou ausência de sintomas ansiosos ou grau mínimo; entre 10 a 16 pontos ansiedade leve; entre 17 a 29 pontos ansiedade moderada; e acima de 30 pontos ansiedade grave, e considerado escores acima de 21 pontos como indicativo de existência de sintomas clinicamente significativos (GORESTEIN & ANDRADE, 1998). Esse questionário foi aplicado em ambos os grupos.

_ Inventário de Depressão de Beck:

O Inventário de Depressão de Beck (Anexo F) foi desenvolvido por Beck e colaboradores (1961) para avaliar a intensidade de sintomas de depressão, também sendo validado no Brasil em 1998 por Gorenstein e Andrade. Esse inventário é utilizado para rastreamento de indivíduos com depressão e é composto por 21 grupos de afirmações sobre como o indivíduo se sentiu na última semana; em cada grupo, há quatro afirmativas variando entre 0 e 3 pontos, que expressam níveis de gravidade dos sintomas depressivos (desesperança, irritabilidade, sensação de culpa, sentimentos de punição, entre outros) e físicos (perda de peso, fadiga, falta de

interesse sexual, entre outros).

O resultado foi baseado na contagem da pontuação total sendo que escore inferior a 15 pontos representou ausência de depressão; entre 15 e 19 pontos disforia; entre 20 a 30 pontos depressão moderada, e acima de 30 pontos depressão grave, sendo recomendado o valor de corte de 20 pontos para definir os indivíduos com depressão (GORESTEIN & ANDRADE, 1998). Esse questionário foi aplicado em ambos os grupos.

_ Lista de Sintomas da Alodinia (Allodynia Symptom Checklist):

Usado para identificar a presença e a intensidade da alodinia cutânea, esse questionário (Anexo G), validado no Brasil por Florencio e colaboradores (2012), é composto por 11 questões, com pontuação que varia de 0 a 2 cada uma, que avaliam a alodinia cutânea cefálica (pentear o cabelo, fazer a barba, usar lentes de contato, tomar banho expondo o rosto à pressão, expor o rosto ao calor, usar óculos, usar brincos, descansar a cabeça ou rosto sobre o travesseiro, expor o rosto ao frio) e extra-cefálica (usar colar, usar roupa justa) (LIPTON *et al.*, 2008). A presença de alodinia é considerada quando o escore é maior ou igual a 3 pontos. Esse questionário foi aplicado apenas aos indivíduos com migrânea.

_ Teste de impacto da cefaleia (Headache Impact Test - HIT-6):

Para verificar o impacto da cefaleia nas atividades diárias dos indivíduos com migrânea, foi usada a versão em português do questionário Headache Impact Test-6 (HIT-6) (MARTIN *et al.*, 2004) (ANEXO H). Esse questionário é uma ferramenta usada para medir o impacto das crises de cefaleia na capacidade do paciente de trabalhar, de estudar, de desenvolver suas atividades em casa e em situações sociais. É composto por 6 perguntas, com pontuação cada uma variando de 6 até 13 pontos. O resultado é a soma das pontuações, variando de 36 a 78 pontos; até 49 pontos é classificado como pouco ou nenhum impacto, de 50 a 55 pontos como algum impacto, de 56 a 59 pontos como impacto substancial, e acima de 59 pontos como grave impacto (MARTIN *et al.*, 2004). Esse questionário foi aplicado apenas aos indivíduos com migrânea.

3.4 Coleta de sangue e análise das amostras

No mesmo dia da avaliação clínica, todos os indivíduos foram submetidos à punção venosa para coleta de sangue periférico, resguardando-se todos os critérios de assepsia, visto que o procedimento foi realizado por técnicos de enfermagem do ambulatório da EMESCAM. Foram coletados de oito a dez mililitros de sangue, recolhidos em tubos BD-Vacutainer®, submetidos à centrifugação para separação e coleta de soro, e estocagem em freezer a -80°C. As amostras foram posteriormente transportadas em gelo seco ao Laboratório de Imunofarmacologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, onde permaneceram estocadas a -80°C até o seu uso para análise de fatores neurotróficos e mediadores inflamatórios pela técnica de imunoenensaio ELISA (*Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay*).

_ Análise de fatores neurotróficos e mediadores inflamatórios:

As amostras de soro foram descongeladas para análise dos níveis de adiponectina, quimiocinas e fatores neurotróficos pela técnica ELISA sanduíche (DuoSet, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA).

A cada poço da placa de ELISA foram adicionados 100 µL de solução contendo anticorpo monoclonal contra os mediadores inflamatórios ou fator neurotrófico que se pretendia mensurar (anticorpo de captura), diluído em tampão fosfato-salina (PBS). As placas foram incubadas por pelo menos 12 horas a 4°C. Os anticorpos não aderidos nas placas foram descartados por inversão e lavagem em PBS–Tween 0,1%. Em seguida, as placas foram bloqueadas com 200 µL/poço de uma solução contendo albumina de soro bovino (BSA) 1%, durante 2 horas à temperatura ambiente. Após nova lavagem das placas, em cada poço, foram adicionados 100 µL da amostra ou padrão. Para dosagem de adiponectina, BDNF e quimiocinas, as amostras de soro foram diluídas no momento da análise na proporção de 1:10 em solução de BSA 0,1% em PBS.

Para análise das quimiocinas, as amostras de soro foram descongeladas e o excesso de proteínas foi removido por precipitação de ácido/sal. Um volume igual de soro e de ácido trifluoroacético 1,2% em NaCl 1,35 M foram misturados e deixados à temperatura ambiente por 10 minutos. As amostras foram então centrifugadas por 5 minutos a 3.000 g e os sobrenadantes foram ajustados para teor de sal (cloreto de sódio 0,14 M e fosfato de sódio 0,01 M) e pH (7,4) para a determinação dos níveis

de quimiocinas.

As placas foram novamente incubadas por pelo menos 12 horas a 4°C. Após lavagem, foram adicionados anticorpos conjugados com biotina e diluídos em BSA 0,1%; as placas foram incubadas por duas horas à temperatura ambiente. Em seguida, após lavagem, acrescentaram-se 100 µL/poço de estreptavidina conjugada com peroxidase às placas, que foram incubadas por 30 minutos à temperatura ambiente. Finalmente, após nova lavagem, o cromógeno Ø-fenileno-diamina foi aplicado às placas, incubadas na ausência de luz. A reação foi interrompida com ácido sulfúrico 1M. A leitura da intensidade de marcação foi realizada em leitor de ELISA no λ de 490 nm (SOFTmax Pro – versão 2.2.1). O limite de detecção para as quimiocinas foi de 10 pg/mL, para a adiponectina de 5 ng/mL, para o BDNF de 5 pg/mL, e demais fatores neurotróficos de 10 pg/mL. As condições de ensaio foram controladas, padronizadas e pré-otimizadas para garantir a reprodutibilidade e repetibilidade dos ensaios de acordo com os procedimentos fornecidos pelo fabricante. Todas as amostras foram testadas em duplicata, e as análises foram realizadas de forma cega para o diagnóstico clínico. Os coeficientes de variação inter e intra-ensaio foram inferiores a 5% e 10%, respectivamente.

3.5 Análise estatística

Os dados foram analisados com o programa estatístico *SPSS* versão 20.0 (Armonk, New York, EUA), e os gráficos construídos pelo programa *GraphPad Prism* versão 6.0 para *Windows* (*San Diego*, California, EUA). A verificação de distribuição normal das variáveis contínuas foi realizada pelo teste Shapiro-Wilk. Para a comparação de variáveis categóricas (características demográficas dos indivíduos) foi utilizado teste de Qui-quadrado de Pearson. Para comparação de variáveis contínuas entre dois grupos empregaram-se o teste t de *Student* ou o teste U de Mann-Whitney em variáveis de distribuição paramétrica ou não-paramétrica, respectivamente. As análises de correlação entre os níveis de mediadores inflamatórios e fatores neurotróficos, e outras variáveis contínuas, foram realizadas separadamente para o grupo controle e migrânea, através do teste de Pearson ou Spearman, em variáveis de distribuição paramétrica ou não-paramétrica, respectivamente. As diferenças entre os pacientes com migrânea e controles, e entre as formas episódica e crônica da migrânea foram posteriormente analisadas

através de regressão logística binária pelo método *Backward*. Foram consideradas variáveis preditoras as que tiveram um valor de p inferior a 0,10 na análise univariada, e, excepcionalmente, também foram consideradas covariáveis aquelas de grande relevância clínica. No método *Backward* as variáveis com maior valor de p são eliminadas progressivamente, permanecendo no modelo final aquelas cujo nível de significância é $< 0,05$. Para avaliar o ajuste do modelo foi utilizado o teste de Hosmer e Lemeshow. Foi estimada a *odds ratio* (OD) com intervalo de confiança (IC) de 95%. As variáveis contínuas são apresentadas como média e desvio-padrão (dados paramétricos) ou mediana e faixa de variação (dados não paramétricos). Um valor de p bilateral menor que 0,05 foi adotado como nível de significância estatística para todos os testes.

4 RESULTADOS

4.1. Características Demográficas e Clínicas da amostra

Cem (100) indivíduos foram incluídos no estudo sendo 50 do grupo controle e 50 do grupo migrânea. O predomínio foi do gênero feminino (92%), e os dois grupos não se diferenciaram quanto à idade, ao gênero, à distribuição étnica, ao estado civil e ao IMC (**Tabela 1**).

Tabela 1 – Dados demográficos da amostra

	Grupo Controle (n=50)	Grupo Migrânea (n=50)	Valor de p
Idade (anos)	43,1 ± 13,9	40,1 ± 14,5	0,3 [†]
Sexo			
Feminino [n (%)]	46 (92)	46 (92)	
Masculino [n (%)]	4 (8)	4 (8)	
Estado civil			
Casado/amasiado [n (%)]	24 (48)	23 (46)	0,84 [‡]
Solteiro/divorciado/viúvo [n (%)]	26 (52)	27 (54)	
Etnia			
Caucasiano [n (%)]	25 (50)	23 (46)	0,1 [‡]
Mestiço [n (%)]	16 (32)	24 (48)	
Negro [n (%)]	9 (18)	3 (6)	
IMC	26,2 ± 4,3	24,9 ± 4	0,12 [†]
Classificação segundo IMC			
< 25	19	27	0,4 [‡]
25-29.9	18	15	
≥ 30	9	7	
Não avaliado	4	1	

Legenda: IMC: índice de massa corpórea. Valores apresentados como média ± desvio-padrão da média. [†] Teste t de Student; [‡] Teste do Qui-quadrado de Pearson.

Os escores de depressão e ansiedade foram significativamente maiores no grupo migrânea comparado ao grupo controle (**Tabela 2**).

Tabela 2 – Medidas psicopatológicas da amostra

	Grupo Controle (n=50)	Grupo Migrânea (n=50)	Valor de p
Escore de depressão	4 (0 – 31)	13,5 (0 - 44)	< 0,001 ^{††}
Classificação segundo escore de depressão			
Mínima (escore 0-14)	45	26	
Leve (escore 15-19)	1	8	< 0,001 [‡]
Moderada (escore 20-30)	3	8	
Grave (escore 31-63)	1	8	
Escore de ansiedade	3 (0 – 19)	12,5 (0 – 54)	< 0,001 ^{††}
Classificação segundo escore de ansiedade			
Mínima (escore 0-9)	45	21	
Leve (escore 10-16)	3	9	< 0,001 [‡]
Moderada (escore 17-29)	2	14	
Grave (escore 30-63)	0	6	

Valores apresentados como mediana (mín-máx). [†] Teste de Mann-Whitney. [‡] Teste do Qui-quadrado de Pearson.

Do grupo migrânea, a média de tempo de doença foi de $20,2 \pm 14,8$ anos, e o escore de impacto da cefaleia, pelo HIT-6, foi de $62,4 \pm 7,9$, considerado grave impacto. Alodinia cutânea (definida como escore de alodinia ≥ 3) esteve presente em 57,7% dos indivíduos, e a média do escore de alodinia obtido foi de $4,1 \pm 3,7$, considerado alodinia cutânea leve. A maioria não fazia uso de medicamento profilático (70%) (**Tabela 3**). Trinta e seis (72%) dos pacientes com migrânea foram classificados como migrânea episódica e quatorze (28%) como migrânea crônica. Migrânea com aura foi diagnosticada em oito (16%) dos pacientes com migrânea.

Tabela 3 – Dados clínicos dos pacientes com migrânea

	Grupo Migrânea (n=50)
Idade de início (anos)	20 ± 11,3
Tempo de doença (anos)	20,2 ± 14,8
Frequência de crises/mês	9,5 ± 7,2
Intervalo desde a última crise (horas)	268,1 ± 420,3
Classificação da migrânea	
Episódica [n (%)]	36 (72)
Crônica [n (%)]	14 (28)
Classificação segundo presença de aura	
Sem aura [n (%)]	42 (84)
Com aura [n (%)]	8 (16)
Escore de HIT-6	62,4 ± 7,9
Classificação segundo HIT-6	
Pouco ou nenhum impacto [n (%)]	3 (6)
Algum impacto [n (%)]	5 (10)
Substancial impacto [n (%)]	4 (8)
Grave impacto [n (%)]	38 (76)
Escore de alodinia	4,3 ± 3,8
Classificação quanto à presença de alodinia (≥ 3)	
Com alodinia [n (%)]	31 (62)
Sem alodinia [n (%)]	19 (38)
Uso de medicação profilática	
Não [n (%)]	35 (70)
Sim [n (%)]	15 (30)
Medicamentos profiláticos em uso*	
Betabloqueadores [n (%)]	8 (53,3)
Amitriptilina [n (%)]	9 (60)
Topiramato [n (%)]	3 (20)
Ácido valpróico [n (%)]	1 (6,7)
Divalproato de sódio [n (%)]	3 (20)

Legenda: HIT-6: Teste de impacto da cefaléia-6. Valores apresentados como médias ± desvio-padrão da média. *Alguns pacientes faziam uso de mais de uma medicação.

Os indivíduos com migrânea crônica apresentaram escores de depressão significativamente mais elevados que os indivíduos com a forma episódica (**Tabela 4**). Pacientes com migrânea com ou sem aura não apresentaram diferenças significativas nos parâmetros clínicos avaliados.

Tabela 4 – Dados demográficos e parâmetros clínicos das formas episódica e crônica de migrânea

	Migrânea Episódica (n=36)	Migrânea Crônica (n=14)	Valor de p
Idade (anos)	37,5 (18 - 64)	46,5 (18 – 63)	0,17 ^{††}
IMC	24,9 ± 4,2	25 ± 3,6	0,92 [†]
Escore de depressão	9,5 (0 – 41)	18,5 (5 – 44)	0,007^{††}
Escore de ansiedade	11 (0 – 54)	16 (3 – 45)	0,06 ^{††}
Idade de início (anos)	16 (7 – 58)	19,5 (5 – 42)	0,16 ^{††}
Tempo de doença (anos)	19 (2 – 45)	19,5 (1 – 53)	0,85 ^{††}
Frequência de crises/mês	5,5 (1 – 15)	15 (15 – 30)	< 0,001^{††}
Escore de HIT-6	63 (36 – 72)	66 (51 – 78)	0,14 ^{††}
Escore de alodinia	4 (0 – 14)	4,5 (0 – 11)	0,65 ^{††}

Legenda: IMC: índice de massa corpórea; HIT-6: Teste de impacto da cefaléia-6. Valores apresentados como mediana (mín-máx), e média ± desvio-padrão da média. [†] Teste t de Student; ^{††} Teste de Mann-Whitney.

4.2. Níveis de Adiponectina

Pacientes com migrânea apresentaram níveis de adiponectina significativamente maiores que controles (**Figura 2**).

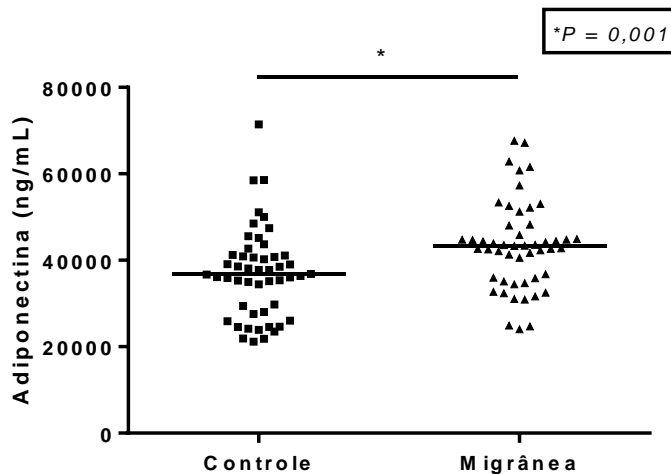


Figura 2 - Níveis séricos de adiponectina de controles e pacientes com migrânea. * $P = 0,001$ (Teste de Mann-Whitney).

Foi gerado um modelo de regressão logística binária para avaliar o potencial da adiponectina em discriminar indivíduos com migrânea e controles, incluindo os escores de ansiedade e depressão e os níveis de adiponectina como variáveis preditoras. Como mostrado na **Tabela 5**, apenas o escore de ansiedade permaneceu no modelo como variável preditora de migrânea.

Tabela 5 – Regressão logística binária dos preditores de migrânea

	Coeficiente	EP	Wald	Valor P	OR	IC de 95%
Escore ansiedade	0,195	0,049	15,59	<0,001	1,215	1,103-1,338
Adiponectina	0,000	0,000	5,34	0,02	1,0	1,0-1,0
Constante	- 3,963	1,152	11,836	0,001	0,019	

Legenda: EP: erro padrão; IC: intervalo de confiança; OR: odds ratio.

Considerando a conhecida relevância clínica da influência do IMC sobre os níveis de adiponectina, a análise de regressão logística binária foi refeita acrescentando também essa covariável. Após a análise, a variável IMC também não permaneceu no modelo, mantendo-se o mesmo resultado anterior.

Não foram observadas diferenças significativas nos níveis de adiponectina quando comparados os indivíduos com a forma episódica (43,7 ng/mL, 24,9 a 67,6 ng/mL) e a forma crônica de migrânea (42,2 ng/mL, 24 a 62,8 ng/mL), ($p=0,14$), assim como na comparação entre os indivíduos com migrânea com aura (39,2

ng/mL, 30,9 a 67,6 ng/mL) e sem aura (43,5 ng/mL, 24 a 67,2 ng/mL), ($p=0,79$).

Os níveis de adiponectina também não se diferenciaram quando comparados os indivíduos com migrânea em uso (43,5 ng/mL, 32,5 a 52,4 ng/mL) ou não (42,7 ng/mL, 24 a 67,6 ng/mL) de medicação profilática ($p=0,76$).

Os indivíduos com migrânea foram estratificados segundo a presença ($n=16$) ou não ($n=34$) de depressão (escore de depressão maior ou igual a 20 pontos). Não foi observada diferença significativa nos níveis de adiponectina entre os subgrupos com (43,3 ng/mL, 24-62,8 ng/mL) e sem depressão (43,3 ng/mL, 24,9-67,6 ng/mL) ($p=0,98$). O mesmo foi realizado estratificando os indivíduos segundo a presença ($n=15$) ou não ($n=35$) de ansiedade (escore de ansiedade maior ou igual a 21 pontos), também não sendo observada diferença significativa ($p=0,89$).

Foi realizada análise de correlação de Spearman entre os níveis de adiponectina e os parâmetros clínicos de idade, IMC, escore de depressão e escore de ansiedade, do grupo controle, sendo que nenhuma correlação significativa foi observada (**Tabela 6**). A mesma análise também foi realizada para o grupo migrânea, considerando os mesmos parâmetros clínicos acrescido de idade de início da doença, tempo de evolução da doença, intervalo desde a última crise, impacto da cefaleia (HIT-6), frequência de crises no último mês e escore de alodinia. Também não foram observadas correlações entre os níveis de adiponectina e os parâmetros clínicos no grupo migrânea.

Tabela 6 – Correlação entre os níveis de adiponectina e parâmetros clínicos entre controles e pacientes com migrânea

	Adiponectina (Grupo Controle)		Adiponectina (Grupo Migrânea)	
	rho	p	rho	p
Idade	- 0,16	0,27	- 0,09	0,53
IMC	- 0,21	0,16	- 0,13	0,36
Escore depressão	- 0,11	0,45	- 0,12	0,39
Escore Ansiedade	- 0,17	0,24	0,051	0,73
Idade de início doença	---	---	0,07	0,65
Tempo de doença	---	---	- 0,15	0,31
Intervalo última crise	---	---	0,17	0,24
Escore de HIT-6	---	---	0,04	0,77
Frequência de crises	---	---	- 0,11	0,44
Escore alodinia	---	---	- 0,068	0,64

Legenda: IMC: índice de massa corpórea; HIT-6: Teste de impacto da cefaleia-6.

4.3. Níveis de Quimiocinas

Após análise univariada, observamos aumento significativo dos níveis das quimiocinas CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α e CXCL8/IL-8, no grupo migrânea em comparação ao grupo controle (**Tabela 7, Figura 3**).

Tabela 7 – Níveis séricos de quimiocinas de controles e pacientes com migrânea

	Grupo Controle (n=50)	Grupo Migrânea (n=50)	Valor de p
CCL2/MCP-1 (pg/mL)	1.266,1 (374 – 5.227)	2.213,8 (561,9 – 19.601,7)	0,001^{††}
CCL3/MIP-1 α (pg/mL)	187,9 (10 – 589,7)	272,6 (10 – 23.969)	0,008^{††}
CCL5/RANTES (pg/mL)	21.2801 (12.077,6 – 36.238,6)	21.320,9 (17.369,6 – 28.790,7)	0,88 ^{††}
CCL11/Eotaxina (pg/mL)	788,1 (263,4 – 2.592,9)	824 (275,5 – 11.663,3)	0,9 ^{††}
CCL24/Eotaxina 2 (pg/mL)	2.106,9 (623,4 – 10.308,9)	2.413,7 (461,2 – 11.148,8)	0,74 ^{††}
CXCL8/IL-8 (pg/mL)	329 (90,2 – 954,6)	447,4 (173,7 – 1.588,7)	0,001^{††}
CXCL10/IP-10 (pg/mL)	479,6 (10 – 1.175,5)	303,6 (149,1 – 39.726,4)	0,51 ^{††}

Valores apresentados como mediana (mín-máx). ^{††} Teste de Mann-Whitney.

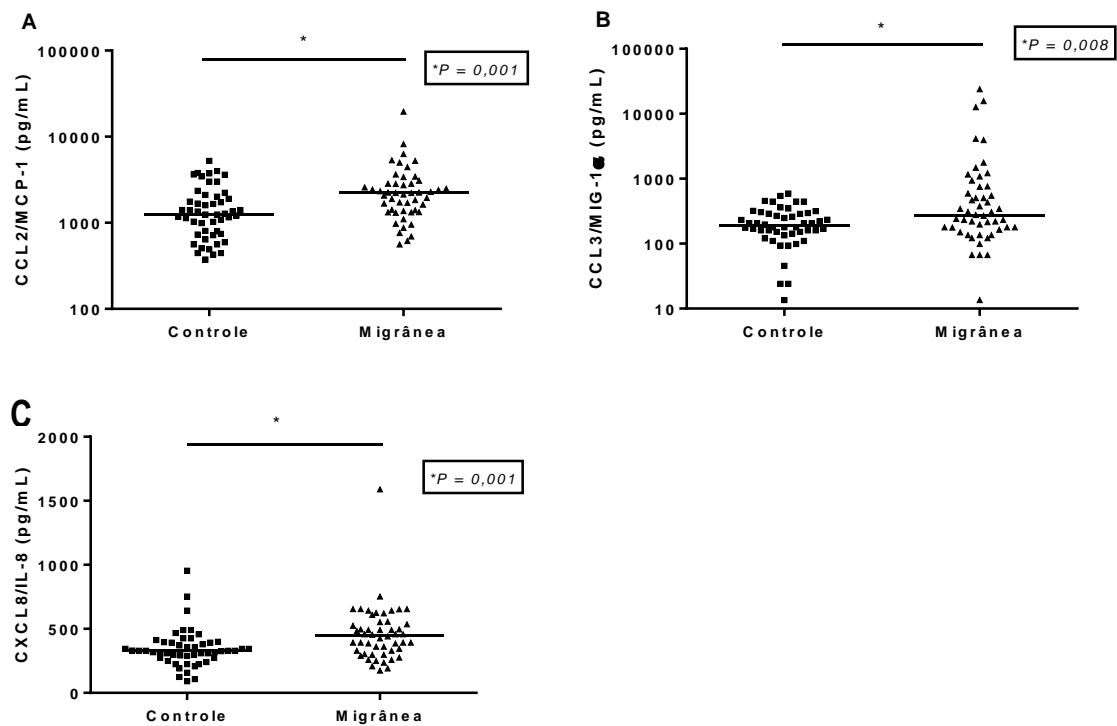


Figura 3 - Níveis séricos de quimiocinas de controles e pacientes com migrânea. A) CCL2/MCP-1; B) CCL3/MIP-1 α ; C) CXCL8/IL-8. * $P < 0,05$ (Teste de Mann-Whitney).

Foi realizada análise de regressão logística binária com presença de migrânea como variável dependente, e escores de depressão e de ansiedade, e níveis de CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α e CXCL8/IL-8 como covariáveis. Após análise, os níveis de CCL3/MIP-1 α , CXCL8/IL-8 e o escore de ansiedade persistiram significativamente diferentes entre indivíduos com migrânea e controles (**Tabela 8**).

Tabela 8 – Regressão logística binária dos preditores de migrânea

	Coeficiente	EP	Wald	Valor P	OR	IC de 95%
Escore ansiedade	0,226	0,055	16,720	<0,001	1,254	1,125-1,397
CCL3/MIP-1 α	0,004	0,002	4,655	0,012	1,003	1,000-1,006
CXCL8/IL-8	0,003	0,001	6,364	0,031	1,004	1,001-1,006
Constante	-4,368	0,980	19,873	<0,001	0,013	

Legenda: EP: erro padrão; IC: intervalo de confiança; OR: odds ratio.

Quando separados os indivíduos com migrânea segundo a forma episódica e crônica da doença, a única diferença significativa encontrada nos níveis de quimiocinas foi a redução nos níveis de CXCL10/IP-10 nos indivíduos com a forma crônica em relação à forma episódica (263,3 pg/mL (149,1 a 823,6 pg/mL) versus 323,1 pg/mL (198,1 a 39.726,4 pg/mL), respectivamente; $p=0,02$). No entanto, após análise de regressão logística binária com tipo de migrânea (episódica e crônica) como variável dependente, e os escores de depressão e de ansiedade, e níveis de CXCL10/IP-10 como variáveis preditoras, a única variável que permaneceu no modelo foi o escore de depressão (OR= 1,061; IC de 95%= 1,004-1,121; $p=0,036$).

Não foram observadas diferenças significativas nos níveis de quimiocinas quando analisados separadamente os indivíduos com migrânea com e sem aura (CCL2/MCP-1, $p=0,5$; CCL3/MIP-1 α , $p=0,33$; CCL5/RANTES, $p=0,48$; CCL11/Eotaxina, $p=0,38$; CCL24/Eotaxina 2, $p=0,43$; CXCL8/IL-8, $p=0,24$ e CXCL10/IP-10, $p=1,0$).

Os níveis de quimiocinas foram comparados entre os indivíduos com migrânea em uso ($n=15$) ou não ($n=35$) de medicação profilática. Após análise univariada não foram observadas diferenças significativas para os níveis séricos de nenhuma das quimiocinas (CCL2/MCP-1, $p=0,13$; CCL3/MIP-1 α , $p=0,34$; CCL5/RANTES, $p=0,19$; CCL11/Eotaxina, $p=0,7$; CCL24/Eotaxina 2, $p=0,63$; CXCL8/IL-8, $p=0,3$ e CXCL10/IP-10, $p=0,63$).

Os níveis de quimiocinas também foram comparados entre os indivíduos com migrânea sem depressão ($n=34$) e com depressão ($n=16$) (escore de depressão maior ou igual a 20 pontos), não sendo observada diferença significativa para os níveis de nenhuma das quimiocinas. O mesmo resultado foi obtido após a estratificação dos indivíduos sem ansiedade ($n=35$) e com ansiedade ($n=15$) (escore de ansiedade maior ou igual a 21 pontos).

Foi realizada análise de correlação de Spearman entre os níveis de quimiocinas e os parâmetros clínicos idade, IMC, escore de depressão e escore de ansiedade, para o grupo controle, e a mesma análise acrescida dos parâmetros clínicos idade de início da doença, tempo de evolução da doença, intervalo desde a última crise, impacto da cefaleia (HIT-6), frequência de crises e escore de alodinia, para o grupo migrânea. No grupo controle, a única correlação obtida foi negativa entre os níveis de CXCL-10/IP-10 e a idade ($\rho = - 0,3$; $p=0,035$) (**Tabela 9**).

Tabela 9 – Correlação entre os níveis de quimiocinas e parâmetros clínicos do grupo controle

	CCL2/ MCP-1	CCL3/ MIP-1 α	CCL5/ RANTES	CCL11/ Eotaxina	CCL24/ Eotaxina 2	CXCL8/ IL-8	CXCL10/ IP-10
Idade	p=0,94	p=0,9	p=0,85	p=0,3	p=0,88	p=0,32	p=0,035
IMC	p=0,42	p=0,98	p=0,89	p=0,91	p=0,61	p=0,16	p=0,43
Escore depressão	p=0,74	p=0,52	p=0,69	p=0,35	p=0,72	p=0,99	p=0,28
Escore Ansiedade	p=0,7	p=0,21	p=0,5	p=0,18	p=0,2	p=0,87	p=0,47

Legenda: IMC: índice de massa corpórea.

No grupo migrânea, verificamos correlação negativa entre os níveis de CCL3/MIP-1 α e o IMC (rbo= - 0,38; p=0,007) e o escore de ansiedade (rbo= - 0,35; p=0,01), e correlação positiva entre os níveis de CCL2/MCP-1 e a idade (rbo= 0,34; p=0,02) (**Tabela 10**).

Tabela 10 – Correlação entre os níveis de quimiocinas e parâmetros clínicos do grupo migrânea

	CCL2/ MCP-1	CCL3/ MIP-1 α	CCL5/ RANTES	CCL11/ Eotaxina	CCL24/ Eotaxina 2	CXCL8/ IL-8	CXCL10/ IP-10
Idade	p= 0,02	p= 0,16	p= 0,5	p= 0,42	p= 0,99	p= 0,8	p= 0,59
IMC	p= 0,44	p= 0,007	p= 0,89	p= 0,67	p= 0,57	p= 0,71	p= 0,59
Escore depressão	p= 0,39	p= 0,45	p= 0,93	p= 0,83	p= 0,31	p= 0,39	p= 0,62
Escore Ansiedade	p= 0,92	p= 0,01	p= 0,29	p= 0,42	p= 0,8	p= 0,78	p= 0,79
Idade início	p= 0,61	p= 0,94	p= 0,31	p= 0,8	p= 0,47	p= 0,25	p= 0,48
Tempo doença	p= 0,19	p= 0,32	p= 0,83	p= 0,45	p= 0,75	p= 0,08	p= 0,96
Intervalo última crise	p= 0,52	p= 0,21	p= 0,96	p= 0,4	p= 0,58	p= 0,87	p= 0,81
HIT-6	p= 0,21	p= 0,36	p= 0,1	p=1,0	p= 0,68	p= 0,49	p= 0,32
Frequência de crises	p= 0,49	p= 0,57	p= 0,67	p= 0,65	p= 0,21	p= 0,85	p= 0,28
Escore alodinia	p= 0,17	p= 0,17	p= 0,46	p= 0,75	p= 0,76	p= 0,11	p= 0,66

Legenda: IMC: índice de massa corpórea; HIT-6: Teste de impacto da cefaléia-6.

4.4. Níveis de Fatores Neurotróficos

Na **Tabela 11**, são apresentados os níveis de fatores neurotróficos dos dois grupos, sendo que NT-4/5 e GDNF estavam significativamente aumentados na migrânea em relação ao controle.

Tabela 11 – Níveis séricos de fatores neurotróficos dos grupos controle e migrânea

	Grupo Controle (n=50)	Grupo Migrânea (n=50)	Valor de p
BDNF (pg/mL)	7.320 (4.041,6 – 13.644)	6.521,3 (3.854,5 – 14.239,7)	0,25 ^{††}
NGF (pg/mL)	56,9 (10 – 768,5)	67,3 (15,8 – 4.110, 4)	0,12 ^{††}
NT-3 (pg/mL)	57,7 (10 – 2.015,5)	48,5 (10 – 4.835,3)	0,43 ^{††}
NT-4/5 (pg/mL)	23,4 (10 – 400)	38,4 (10 – 3.879,2)	< 0,001^{††}
GDNF (pg/mL)	63,2 (10 – 1.168,1)	73 (10 – 5.304)	0,046^{††}

Legenda: BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro; GDNF: fator neurotrófico derivado da glia; NGF: fator de crescimento neural; NT-3: neurotrofina 3; NT-4/5: neurotrofina 4/5. Valores apresentados como mediana (mín-máx). ^{††} Teste de Mann-Whitney.

Após análise de regressão logística binária com presença de migrânea como variável dependente, e escores de depressão e de ansiedade, e níveis de NT-4/5 e GDNF como variáveis preditoras, os dois fatores neurotróficos foram excluídos no modelo, persistindo apenas o escore de ansiedade como preditor de migrânea (OR= 1,213; IC de 95%= 1,108-1,328; $p < 0,001$).

Não foram observadas diferenças significativas nos níveis de fatores neurotróficos dos indivíduos com migrânea quando separados segundo a forma episódica e crônica da doença, assim como segundo a presença ou não de aura.

Os níveis de fatores neurotróficos foram comparados entre os indivíduos com migrânea em uso ou não de medicação profilática, não sendo observadas diferenças significativas nos níveis séricos de nenhum deles.

Os níveis de fatores neurotróficos também foram comparados entre os indivíduos com migrânea sem depressão (n=34) e com depressão (n=16), não sendo observadas diferenças significativas. O mesmo resultado foi obtido após a estratificação dos indivíduos sem ansiedade (n=35) e com ansiedade (n=15).

Considerando a possibilidade de a medicação amitriptilina interferir nos níveis de BDNF (HELLWEG *et al.*, 2008), foi refeita a análise dos níveis de fatores neurotróficos, excluindo os nove indivíduos que faziam uso dessa medicação. Após análise, a mediana dos níveis de BDNF mudou para 6.820,5 pg/mL (3.854,5 a 14.239,7 pg/mL), aproximando-se ainda mais dos valores do grupo controle

($p=0,41$); e os demais resultados foram os mesmos encontrados anteriormente, ou seja, aumento significativo no grupo migrânea em relação ao controle nos níveis de GDNF (82,9 (24,4 a 4.730,9) pg/mL versus 63,2 (10 a 1.168,1) pg/mL, respectivamente; $p=0,031$) e de NT-4/5 (36,3 (5,8 a 3.373,1) pg/mL versus 23,4 (10 a 400) pg/mL, respectivamente; $p= 0,002$). Novamente, essas diferenças nos níveis de GDNF e NT-4/5 entre migrânea e controles não persistiram após análise de regressão logística binária, mantendo os mesmos resultados da amostra toda.

A análise de correlação de Spearman foi realizada entre os níveis de fatores neurotróficos e parâmetros clínicos, tanto para o grupo controle quanto para o grupo migrânea. No grupo controle não foi observada nenhuma correlação entre os níveis de fatores neurotróficos e parâmetros clínicos, e no grupo migrânea a única correlação obtida foi negativa entre os níveis de NT-4/5 e o escore de alodinia ($r_{bo} = -0,34$; $p=0,018$).

Com o objetivo de excluir covariância entre as diferentes moléculas estudadas, foi realizada análise de regressão logística binária incluindo todas as variáveis que se diferenciaram entre migrânea e controles na análise univariada. Portanto, foram incluídas como variáveis preditoras os escores de ansiedade e depressão, e os níveis de adiponectina, CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CXCL8/IL-8, NT-4/5 e GDNF. O resultado observado foi o mesmo das análises isoladas, conforme **Tabela 12**, ou seja, os níveis de adiponectina, CCL3/MIP-1 α e CXCL8/IL-8, e o escore de ansiedade persistiram significativamente diferentes entre indivíduos com migrânea e controles.

Tabela 12 – Regressão logística binária dos preditores de migrânea

	Coeficiente	EP	Wald	Valor <i>P</i>	OR	IC de 95%
Escore ansiedade	0,242	0,063	14,722	<0,001	1,274	1,126-1,441
Adiponectina	0,000	0,000	5,565	0,018	1,000	1,000-1,000
CCL3/MIP-1 α	0,004	0,001	5,927	0,015	1,004	1,001-1,006
CXCL8/IL-8	0,004	0,002	3,840	0,05	1,004	1,000-1,007
Constante	-7,727	1,977	15,274	<0,001	<0,001	

Legenda: EP: erro padrão; IC: intervalo de confiança; OR: odds ratio.

4.5. Análise após exclusão de indivíduos com cefaléia nas últimas 48 horas

Em nosso estudo foram incluídos indivíduos sem cefaléia no momento da coleta. No entanto, considerando a possibilidade de interferência da presença de cefaléia poucas horas antes da coleta sobre os níveis séricos das moléculas estudadas, a análise dos dados foi refeita excluindo-se os indivíduos com cefaléia até 48 horas antes da coleta de sangue (**Tabela 13**). Esse grupo também não apresentou diferenças significativas do grupo controle em relação à idade e IMC, enquanto os indivíduos do grupo migrânea apresentam maiores escores de depressão e ansiedade que o grupo controle. Em relação às moléculas estudadas, observaram-se maiores níveis de adiponectina, CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CXCL8/IL-8, NT-4/5 e GDNF, e menores de CXCL10/IP-10 e BDNF neste subgrupo de pacientes com migrânea em relação aos controles.

Tabela 13 – Dados dos indivíduos com migrânea no período intercrítico e controles

	Grupo Controle n=38	Grupo Migrânea n=38	Valor p
Idade (anos)	42	42	0,95 ^{††}
IMC	25 ± 3	24,6 ± 4,2	0,67 [†]
Escore de depressão	4	12	0,001^{††}
Escore de ansiedade	4	12,5	< 0,001^{††}
CCL2/MCP-1 (pg/mL)	1231,5	2074,9	0,001^{††}
CCL3/MIP-1α (pg/mL)	201,4	324,9	0,009^{††}
CCL5/RANTES (pg/mL)	21645,7	21281	0,76 ^{††}
CCL11/Eotaxina (pg/mL)	814,5	876,2	0,69 ^{††}
CCL24/Eotaxina 2 (pg/mL)	2049,8	2399	0,69 ^{††}
CXCL8/IL-8 (pg/mL)	329	456	< 0,001^{††}
CXCL10/IP-10 (pg/mL)	847,2	299,7	0,03^{††}
BDNF (pg/mL)	7719,3	6685,5	0,071^{††}
NGF (pg/mL)	64,5	66,3	0,23 ^{††}
NT-3 (pg/mL)	58,3	52,4	0,47 ^{††}
NT-4/5 (pg/mL)	27	37,5	0,006^{††}
GDNF (pg/mL)	67,5	83,1	0,05^{††}
Adiponectina (ng/mL)	38,3	43,4	0,048[†]

Legenda: BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro; GDNF: fator neurotrófico derivado da glia; IMC: índice de massa corpórea; NGF: fator de crescimento neural; NT-3: neurotrofina 3; NT-4/5: neurotrofina 4/5. Valores apresentados em mediana e média ± desvio-padrão. [†] Teste t de Student; ^{††} Teste de Mann-Whitney.

Nesse subgrupo foi realizada análise de regressão logística binária, com a migrânea como variável dependente e como covariáveis os escores de ansiedade e depressão, e os níveis de adiponectina, CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10, NT-4/5, GDNF e BDNF. O escore de ansiedade, os níveis de adiponectina e de CCL3/MIP-1 α persistiram como significativamente diferentes entre indivíduos com migrânea e controles (**Tabela 14**).

Tabela 14 – Regressão logística binária dos preditores de migrânea no período intercrítico

	Coeficiente	EP	Wald	Valor <i>P</i>	OR	IC de 95%
Escore Depressão	0,042	0,048	0,778	0,378	1,043	0,950-1,146
Escore ansiedade	0,213	0,080	7,189	0,007	1,238	1,059-1,446
CXCL8/IL-8	0,002	0,003	0,478	0,489	1,002	0,996-1,008
CXCL10/IP-10	-0,002	0,001	2,513	0,113	0,998	0,996-1,000
CCL2/MCP-1	0,000	0,000	0,621	0,431	1,000	1,000-1,001
CCL3/MIP-1 α	0,004	0,002	3,882	0,049	1,004	1,000-1,008
NT-4/5	-0,004	0,005	0,699	0,403	0,996	0,987-1,005
BDNF	0,000	0,000	0,183	0,669	1,000	1,000-1,000
GDNF	0,003	0,003	1,620	0,203	1,003	0,998-1,008
ADIPONECTINA	0,000	0,000	4,539	0,033	1,000	1,000-1,000
Constante	-7,415	2,908	6,499	0,011	0,001	

Legenda: EP: erro padrão; IC: intervalo de confiança; OR: odds ratio.

5 DISCUSSÃO

5.1. Características Demográficas e Clínicas da amostra

Foram incluídos no presente estudo cinquenta pacientes com diagnóstico de migrânea. A maioria dos pacientes era do gênero feminino (92%), com predomínio da forma episódica da doença (72%), dos quais 16% apresentavam aura. Em nossa casuística, foi encontrada uma prevalência de mulheres um pouco maior do que a relatada na literatura, que indica uma prevalência de migrânea três vezes maior em mulheres do que em homens (BIGAL & LIPTON, 2009), e uma prevalência de aura um pouco inferior a da literatura, que aponta para em torno de um terço dos pacientes (NOSEDA & BURSTEIN, 2013). Essas diferenças podem estar relacionadas a características da população que procurou atendimento no ambulatório no período, ou ao fato de ser uma população pequena, por não se tratar de um estudo populacional.

Os pacientes com migrânea apresentaram uma média de escore de HIT-6 de $62,4 \pm 7,9$ pontos, dos quais 76% foram classificados com grave impacto. Tais resultados estão de acordo com o estudo prévio de Magnoux e colaboradores (2008), que relataram média de escore de HIT-6 em torno de 64 em pacientes com migrânea, com 80% da amostra na faixa de grave impacto. De fato, a crise de migrânea é considerada uma condição altamente incapacitante, com grande impacto sobre as atividades de vida diária, principalmente na faixa etária economicamente produtiva (LEONARDI *et al.*, 2005).

O escore de HIT-6 não se diferenciou entre as formas episódica e crônica, nem com a presença ou não de aura. Provavelmente, a ausência de diferenças se deva ao pequeno tamanho da amostra de indivíduos com migrânea crônica ($n=14$), visto que em um estudo prévio com 2.049 indivíduos, diferença de valores ainda menor que a por nós encontrada resultou em diferença significativa nesse escore (crônica: $62,5 \pm 7,8$ versus episódica: $60,2 \pm 7,8$, $p=0,032$) (YANG *et al.*, 2011). O mesmo provavelmente ocorreu em relação à comparação do HIT-6 entre indivíduos sem aura e com aura, visto que apesar de as diferenças entre os escores serem ainda maiores ($61,4 \pm 7,9$ versus $67,5 \pm 5,9$, respectivamente), o tamanho da amostra de indivíduos com aura foi muito pequena ($n=8$), e o resultado próximo da diferença significativa ($p=0,09$).

Na amostra de indivíduos com migrânea, foi encontrada uma média de escore de depressão de $15,8 \pm 12,7$ e de ansiedade $16,2 \pm 12,7$, que, segundo a

classificação (BECK *et al.*, 1961; BECK *et al.*, 1988), são definidos como grau leve de depressão e moderado de ansiedade. As médias de escores encontradas são próximas às relatadas em estudos prévios com indivíduos com migrânea (ERASLAN *et al.*, 2014; DOMINGUES *et al.*, 2008). Trinta e um por cento da amostra de migrânea apresentavam algum grau de depressão (escore de depressão ≥ 10), contra 12% dos controles, e 34% tinham algum grau de ansiedade (escore de ansiedade ≥ 8), contra 18% dos controles.

De fato, está bem descrita na literatura uma relação de comorbidade entre migrânea, depressão e ansiedade. Estudos indicam que a relação entre migrânea e depressão é bidirecional, com cada doença aumentando o risco de ocorrência da outra doença; o risco de depressão em indivíduos com migrânea pré-existente varia de 2.4 a 5.8 (HAMELSKY & LIPTON, 2006). Neste estudo, após as análises de regressão logística binárias, as diferenças nos escores de depressão entre migrânea e controle deixaram de ser significativas, permanecendo apenas as diferenças relativas ao escore de ansiedade.

Por outro lado, foi encontrada uma média de escore de depressão maior naqueles com migrânea crônica, em comparação à episódica, diferença esta que persistiu mesmo após análise de regressão logística binária, estando de acordo com o descrito na literatura (BUSE *et al.*, 2013).

Ansiedade também é frequentemente relatada em associação com migrânea (LANTÉRI-MINET *et al.*, 2005; BAG, HACIHASANOGLU & TUFEKCI, 2005) e seu aparecimento precede o da migrânea, sendo o inverso para a depressão (MERCANTE *et al.*, 2011; PETERLIN & WARD, 2005). Em 2003, Wacogne e colaboradores investigaram a associação entre estresse, ansiedade e depressão em 141 migranosos e 109 não migranosos, pareados por gênero e idade. Constataram que estresse e ansiedade foram maiores nos indivíduos com migrânea, e também não encontraram diferenças nos escores de depressão.

Sessenta e dois por cento da amostra de migrânea apresentaram alodinia cutânea (definida segundo escore de alodinia maior ou igual a 3), dado que se encontra em concordância com a literatura (D'AGOSTINO *et al.*, 2010; LIPTON *et al.*, 2008). Tal achado é relevante, pois a alodinia cutânea é considerada um marcador de sensibilização central, e constitui um fator de risco para progressão para migrânea crônica (LIPTON *et al.*, 2008).

5.2. Níveis de adiponectina

No presente estudo, foram encontrados níveis elevados de adiponectina nos pacientes com migrânea. Informação em acordo com Peterlin e colaboradores (2008), que avaliaram os níveis de adiponectina, e seus oligômeros, em mulheres com migrânea episódica fora de crise (n=13), com cefaleia diária crônica (que incluía migrânea crônica) (n=12) e controles (n=12) pareados por idade, gênero e IMC, e encontraram aumento dos níveis de adiponectina na migrânea em relação aos controles. No entanto, os níveis de adiponectina estavam maiores na migrânea crônica do que na episódica e em nosso estudo não encontramos diferença nas duas formas de migrânea.

Posteriormente, outros dois estudos, também com mulheres com migrânea fora de crise, não obtiveram diferenças significativas nos níveis de adiponectina em relação a controles (BERNECKER *et al.*, 2010; TIETJEN *et al.*, 2010). E recentemente, uma revisão sistemática baseada em quatro estudos transversais sugeriu que a relação entre migrânea e adiponectina permanece indefinida (LIPPI *et al.*, 2014). Portanto, a questão sobre alteração nos níveis de adiponectina na migrânea ainda é controversa.

Uma possível explicação para a variação de resultados entre os estudos é que algumas comorbidades da migrânea também podem estar associadas a alterações nos níveis de adiponectina e, dessa forma, estar influenciando esses achados.

Por exemplo, a elevação do IMC está associada a maior risco de migrânea e à redução nos níveis de adiponectina (BIGAL *et al.*, 2007b; PETERLIN *et al.*, 2013a). Neste estudo, controlou-se a influência do IMC, e a diferença nos níveis de adiponectina entre migrânea e controles persistiu.

Comorbidades psiquiátricas também têm sido associadas a alterações nos níveis de adiponectina. Uma recente metanálise sugere que os níveis de adiponectina estejam significativamente mais baixos nos pacientes com depressão quando comparados a controles (CARVALHO *et al.*, 2014).

No presente estudo, pacientes com migrânea apresentaram maior prevalência de sintomas de depressão e de ansiedade do que controles; no entanto, não encontrou-se nenhuma correlação entre os níveis de adiponectina e os escores de ansiedade e de depressão. Além disso, os níveis de adiponectina não se

diferenciaram entre os indivíduos com e sem depressão e ansiedade, e a diferença nos níveis de adiponectina entre os indivíduos com e sem migrânea persistiu após análise multivariada, com os escores de depressão e ansiedade como covariáveis. Ao que se sabe, este é o primeiro estudo a demonstrar que a elevação dos níveis de adiponectina na migrânea não é secundária à presença de comorbidades psiquiátricas.

Cabe destacar que a avaliação dos sintomas de ansiedade e de depressão não foi realizada por meio de avaliação clínica psiquiátrica, mas por escalas. Entretanto, os inventários de ansiedade e de depressão de Beck são amplamente utilizados na prática clínica e em pesquisas.

Este estudo sugere que os níveis de adiponectina não são influenciados pela frequência de crises de migrânea, visto que não foi encontrada correlação entre os níveis de adiponectina e a frequência de crises; possivelmente explicando por que os níveis totais de adiponectina não diferiram entre migrânea crônica e episódica. Não observou-se correlação entre os níveis de adiponectina com o impacto da migrânea, nem com o escore de alodinia, sugerindo que os níveis de adiponectina não aumentam com a severidade da migrânea. Tais associações não foram avaliadas ou relatadas em estudos prévios (PETERLIN *et al.*, 2008; BERNECKER *et al.*, 2010; TIETJEN *et al.*, 2010).

O uso de medicação profilática, presente em 30% dos pacientes com migrânea da amostra, também não interferiu nas diferenças encontradas para os níveis de adiponectina, visto que comparando os indivíduos com e sem medicação, os níveis de adiponectina não foram significativamente diferentes. Tal dado é coerente com um estudo prévio que não identificou interferência da amitriptilina nos níveis de adiponectina (WEBER-HAMANN *et al.*, 2007). Em relação ao uso de beta-bloqueadores, dois estudos prévios indicaram potencial ação do atenolol nos níveis de adiponectina (KOH *et al.*, 2010; PÖYHÖNEN-ALHO *et al.*, 2008). Mesmo que tenha havido alguma interferência, o que é pouco provável, já que apenas três pacientes estavam usando essa medicação, segundo esses estudos seu efeito seria de redução, e não aumento, conforme encontrado nos pacientes com migrânea.

Em um estudo prévio, foi relatado aumento nos níveis de adiponectina na cefaleia diária crônica em relação à migrânea episódica, especialmente os multímeros de alto e de médio peso molecular (PETERLIN *et al.*, 2008). No presente estudo, pacientes com migrânea episódica e crônica não diferiram nos níveis de

adiponectina. Uma possível explicação é que em nosso estudo foram avaliados apenas pacientes com migrânea crônica, e não outros tipos de cefaleias diárias crônicas. Além disso, não mensuramos os multímeros de adiponectina, e é possível que tal diferença apenas ocorra nos níveis dos multímeros, e não no nível de adiponectina total.

Estudos têm descrito que a adiponectina exerce propriedades pro ou anti-inflamatórias a depender da forma ou multímero envolvido. A adiponectina de baixo peso molecular parece ter efeitos anti-inflamatórios, e as de alto e de médio peso molecular efeitos pró-inflamatórios (TILG & MOSCHEN, 2006).

Em outro estudo, Peterlin e colaboradores (2013b) acompanharam os níveis ictais de adiponectina e seus multímeros relacionando com os efeitos da medicação abortiva sobre a intensidade da dor. Verificaram uma associação entre a adiponectina de alto peso molecular com a maior severidade da dor, e o contrário para a de baixo peso molecular.

Analisando os dados em conjunto, é possível especular que o multímero aumentado neste estudo no grupo migrânea também seja o de alto peso molecular, e que esteja exercendo papel predominantemente pró-inflamatório, possivelmente aumentando a suscetibilidade dos indivíduos às crises. Contudo, tal hipótese ainda requer confirmação futura.

Essa hipótese é coerente com o fato de outras doenças crônicas inflamatórias, como artrite reumatóide e lúpus eritematoso sistêmico (KRYSIK et al., 2012) também estarem associadas a maiores níveis de adiponectina. Segundo um estudo *in vivo* e *in vitro*, o aumento de adiponectina em resposta a estímulo inflamatório (lipopolissacarídeo ou citocinas inflamatórias) parece envolver vias dependentes de NO (DELAIGLE *et al.*, 2004), molécula conhecida capaz de induzir crise migranosa (OLESEN, 2008).

Desconhece-se ainda através de qual mecanismo a adiponectina poderia exercer seus efeitos pró-inflamatórios na migrânea. Uma possível alternativa é ativação da via do NF- κ B (FANTUZZI, 2013), induzindo a expressão de citocinas como IL-6 e TNF, e a quimiocina CXCL1-IP-10, e reduzindo a expressão de IL-4 (CHENG *et al.*, 2012).

Algumas limitações impedem que conclusões definitivas sejam obtidas acerca da relação entre adiponectina e migrânea. Sendo este um estudo transversal, não é possível demonstrar nenhuma associação causal. Além disso, não foi feita a

mensuração dos oligômeros de adiponectina. A avaliação de sobrepeso e obesidade baseada apenas no IMC também é outra limitação, visto que a avaliação da distribuição de tecido adiposo pode influenciar nos resultados de estudos sobre adiponectina. Apesar de tais limitações, os resultados sugerem que há alteração nos níveis de adiponectina na migrânea, corroborando com a ideia de que mecanismos inflamatórios estão envolvidos na fisiopatologia dessa doença. Além disso, nosso estudo foi o primeiro, até onde se tem conhecimento, a demonstrar uma associação entre adiponectina e migrânea independente da presença de sintomas ansiosos e depressivos.

5.3. Níveis de quimiocinas

Foram encontrados níveis aumentados de CXCL8/IL-8 e CCL3/MIP-1 α em pacientes com migrânea, na ausência de cefaleia, em comparação ao grupo controle. Estudos prévios têm sugerido o envolvimento de quimiocinas na migrânea.

Sarchielli e colaboradores (2004b) encontraram níveis elevados de CXCL8/IL-8 no sangue de veia jugular durante as primeiras duas a seis horas de crise de migrânea, quando comparados com seus níveis nos primeiros 30 minutos de crise. Os mesmos autores não encontraram alterações nos níveis de CCL2/MCP-1 e CCL5/RANTES durante a crise. Quando analisaram sangue periférico durante a crise e compararam com controles, não encontraram diferenças significativas para nenhuma das quimiocinas. Apesar de não terem avaliado o período fora de crise, esses autores verificaram provável envolvimento de CXCL8/IL-8 na migrânea.

Bo e colaboradores (2009) encontraram níveis aumentados de CCL2/MCP-1 no líquido de indivíduos com migrânea durante a crise (n=58), comparados com controles livres de dor (n=20). As diferenças metodológicas entre esse estudo e o nosso (estado de crise, substrato de análise) tornam difícil a comparação de resultados.

O único estudo prévio comparando os níveis de quimiocinas em migrânea fora de crise e controles foi o de Fidan e colaboradores (2006). Os autores compararam os níveis de CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α e CCL5/RANTES entre 25 indivíduos com migrânea durante e fora de crise, e 25 controles. Verificaram um aumento nos níveis de CCL5/RANTES nos pacientes com migrânea durante *versus* fora da crise. Quando comparados os migranosos no período interictal com os

controles, não observaram nenhuma diferença significativa nos níveis das quimiocinas. Nosso estudo é, portanto, o primeiro a demonstrar aumento de quimiocinas em indivíduos com migrânea, na ausência de crise. Cabe destacar que além das diferenças metodológicas, nenhum dos estudos prévios controlou a influência de comorbidades psiquiátricas nos resultados.

A Fisiopatologia da migrânea ainda é grandemente desconhecida. Vários mecanismos neuronais e vasculares subjacentes têm sido implicados na predisposição à migrânea. É possível que a inflamação periférica possa interagir com estruturas neurais, ativando o sistema trigeminovascular, aumentando a susceptibilidade às crises de migrânea (NOSEDA & BURSTEIN, 2013).

A CXCL8/IL-8 induz a quimiotaxia de células alvo, primariamente neutrófilos, mas também linfócitos e monócitos (SAVARIN-VUAILLAT & RANSOHOFF, 2007). Mediadores inflamatórios, como a IL-1 e o TNF, são capazes de induzir sua produção, e estão aumentados na migrânea (PERINI *et al.*, 2005; SARCHIELLI *et al.*, 2006a). Essa quimiocina desempenha um papel pró-inflamatório em várias condições neurológicas, tais como esclerose múltipla, lesão cerebral isquêmica e traumatismo crânio-encefálico (KUSHI *et al.*, 2003; SHERWOOD & PROUGH, 2000; SEMPLE, KOSSMANN & MORGANTI-KOSSMANN, 2010). Previamente, foi mostrado o aumento ictal de CXCL8/IL-8 no sangue da veia jugular, sugerindo que essa quimiocina participe no recrutamento de leucócitos durante as crises de migrânea (SARCHIELLI *et al.*, 2004b). Encontramos aumento dos níveis de CXCL8/IL-8 em pacientes com migrânea, na ausência de cefaleia, sugerindo que a ativação inflamatória sustentada também pode ocorrer no período interictal.

A CCL3/MIP-1 α coordena respostas inflamatórias agudas e crônicas pelo recrutamento de monócitos, células T, células dendríticas, e células NK. Essa quimiocina está envolvida na fisiopatologia de muitas doenças inflamatórias, incluindo doenças neuroinflamatórias, como a esclerose múltipla (MAURER & VON STEBUT, 2004). Este estudo foi o primeiro a mostrar aumento nos níveis de CCL3/MIP-1 α na migrânea.

Considerando o papel pró-inflamatório das quimiocinas, os achados deste estudo são consistentes com estudos prévios que mostram um perfil de citocinas pró-inflamatórias em pacientes com migrânea (UZAR *et al.*, 2011; FIDAN *et al.*, 2006; PERINI *et al.*, 2005; ISHIZAKI *et al.*, 2005; SARCHIELLI *et al.*, 2006a). Níveis aumentados de IL-6 e TGF- β e reduzido de IL-2 foram previamente descritos em

pacientes com migrânea no período interictal, quando comparados com controles (KOÇER *et al.*, 2009; FIDAN *et al.*, 2006, ISHIZAKI *et al.*, 2005; PERINI *et al.*, 2005). Alterações na expressão de citocinas, não apenas durante a crise, mas também no período interictal, sugere que uma ativação inflamatória crônica possa existir em migranosos, contribuindo com o aumento da suscetibilidade do SNC a gatilhos internos e externos que, em última análise, poderia provocar crises de migrânea. O aumento de quimiocinas pró-inflamatórias no presente estudo é consistente com essa hipótese.

Processo inflamatório e aumento de quimiocinas também estão relacionados com a percepção da dor e modulação da nocicepção (GOSSELIN *et al.*, 2008). Níveis de quimiocinas elevados podem determinar um aumento na nocicepção, favorecendo o sintoma de alodinia (ABBADIE, 2005).

A primeira quimiocina associada à dor foi a CXCL8/IL-8. Cunha e colaboradores (1991) demonstraram que CXCL8/IL-8, administrada intradermicamente na pata de rato, provocou hiperalgesia mediada pelo sistema nervoso simpático, e independente de prostaglandina. Posteriormente, também foi verificado que CXCL8/IL-8 induz hipersensibilidade de nociceptores mecânicos persistente resultante da liberação endógena de aminas simpáticas (SACHS *et al.*, 2002).

A CCL3/MIP-1 α também tem sido associada à dor. Oh e colaboradores (2001) demonstraram que sua injeção, assim como de CXCL12/SDF-1 (Fator derivado de células estromais) e CCL5/RANTES, na pata de rato, produz alodinia tátil dose-dependente. Foi demonstrado que, durante inflamação CCL3/MIP-1 α , através da ligação aos receptores CCR1 em neurônios sensoriais periféricos, é capaz de dessensibilizar receptores μ -opióides (deprimindo o efeito analgésico dos opióides), e que outras citocinas, dentre elas CXCL8/IL-8, exibe efeito inibitório similar (ZHANG *et al.*, 2004). CCL3/MIP-1 α também tem se mostrado capaz de promover sensibilização de TRPV1, crítico para a sensação da dor de origem inflamatória, em neurônios do gânglio da raiz dorsal (ZHANG *et al.*, 2005).

Outra quimiocina muito estudada e relacionada com nocicepção é a CCL2/MCP-1 (GAO & JI, 2010; ABBADIE, 2005). Neste estudo, além do aumento de CXCL8/IL-8 e CCL3/MIP-1 α , também houve, na análise univariada, um aumento de CCL2/MCP-1 no grupo migrânea, porém a diferença não persistiu após o ajustamento dos dados por análise de regressão logística. Apesar de não ter sido

observada correlação entre os escores de alodinia e os níveis de quimiocinas interictais, não se pode descartar que tais associações não ocorram na vigência da crise e que o aumento dessas quimiocinas não possa, de alguma forma, influenciar na dor da migrânea.

A causa dessa ativação inflamatória crônica, mesmo na ausência de crise, ainda é desconhecida, mas é possível que o sistema de trigeminovascular, através da produção de neuropeptídeos e consequente inflamação neurogênica possam desempenhar um papel (RADDANT & RUSSO, 2011; WELCH, 1987; PIETROBON & STRIESSNIG, 2003). De fato, níveis elevados de substância P e CGRP já foram evidenciados em indivíduos com migrânea (JANG *et al.*, 2011; SARCHIELLI *et al.*, 2001; GOADSBY, EDVINSON & EKMAN, 1988) inclusive no período interictal (FUSAYASU *et al.*, 2007). Estudos têm demonstrado que a substância P é capaz de induzir a expressão de várias citocinas e quimiocinas, inclusive de CXCL8/IL-8 e CCL3/MIP-1 α por mastócitos e neutrófilos (KULKA *et al.*, 2008; SUN, RAMNATH & BHATIA, 2007). É possível, portanto, que esses neuropeptídeos possam ativar células do sistema imune, estimulando a produção de mediadores pró-inflamatórios mesmo no período interictal.

Outra possível explicação para o aumento de quimiocinas em indivíduos migranosos na ausência de cefaleia pode estar relacionada com a interação entre estresse e resposta inflamatória. Estresse emocional é comumente relatado em associação com migrânea (YAVUZ *et al.*, 2013), exercendo importante papel não apenas no início das crises, sendo o gatilho mais frequentemente relatado por indivíduos com migrânea (ANDRESS-ROTHROCK, KING & ROTHROCK, 2010), mas também na transformação de migrânea episódica para crônica (LIPTON, 2009).

Estresse recorrente ou crônico pode alterar o funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, aumentando, dessa forma, as respostas pró-inflamatórias. Há consideráveis evidências demonstrando que o aumento na produção de biomarcadores inflamatórios ocorre em resposta ao estresse, e isso pode ser identificado mesmo na fase prodrômica de distúrbios neuropsiquiátricos (WALKER *et al.*, 2014). Há relato de aumento de CXCL8/IL-8 em mulheres climatéricas com sintomas de estresse psicológico (YASUI *et al.*, 2007), e de indução de secreção de CXCL8/IL-8 em local de inflamação crônica após episódio de estresse psicológico agudo (WEIK *et al.*, 2008). Portanto, o aumento de citocinas pode ser parte da resposta ao estresse, porém essa hipótese requer confirmação

futura.

Uma explicação alternativa para os níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, incluindo quimiocinas, na migrânea, é que estas moléculas estejam aumentadas devido a comorbidades da migrânea, especialmente distúrbios psiquiátricos. Níveis alterados de quimiocinas têm sido encontrados em diferentes comorbidades psiquiátricas, como a depressão (GRASSI-OLIVEIRA *et al.*, 2012; SIMON *et al.*, 2008), o transtorno bipolar (BARBOSA *et al.*, 2013a) e os distúrbios de ansiedade (JANELIDZE *et al.*, 2014; FONTENELLE *et al.*, 2012; HOGE *et al.*, 2009). Aumento de CCL3/MIP-1 α (SIMON *et al.*, 2008) já foi descrito na depressão, e de CCL3/MIP-1 α e CXCL8/IL-8 em transtornos de ansiedade (FONTENELLE *et al.*, 2012; HOGE *et al.*, 2009).

No presente estudo, pacientes com migrânea apresentaram maiores escores de depressão e de ansiedade do que controles, e a única correlação encontrada entre os níveis de quimiocinas e as medidas psicopatológicas neste estudo foi uma correlação negativa entre CCL3/MIP-1 α e ansiedade, não sendo encontrado relato prévio na literatura. No entanto, considerando que neste estudo os níveis de quimiocinas não se diferenciaram entre os indivíduos com e sem depressão e ansiedade, e que as diferenças nos níveis de CXCL8/IL-8 e CCL3/MIP-1 α persistiram após análise ajustada pelos escores de depressão e ansiedade, o aumento das quimiocinas provavelmente não resultou dessas comorbidades psiquiátricas.

Outro possível fator de confusão para nossos resultados seria o uso de medicação profilática, no entanto, não foram observadas diferenças nos níveis de quimiocinas entre aqueles em uso ou não dessa medicação; portanto, sugere-se que tal fator não tenha interferido nos resultados. Além disso, não foi encontrado na literatura nenhum estudo que relatasse alterações nos níveis das quimiocinas estudadas em decorrência dos medicamentos utilizados em nossa amostra de pacientes.

Não foram encontradas diferenças nos níveis de quimiocinas entre migrânea episódica e crônica, nem correlação entre a frequência de crises e o escore de impacto da migrânea com os níveis de quimiocinas. Isso sugere que, embora alterados, os níveis interictais de quimiocinas não estão associados com a gravidade da doença. Estudos futuros são necessários para investigar se há alguma correlação entre esses parâmetros clínicos e quimiocinas no período ictal.

O presente estudo foi o primeiro a investigar os níveis de CCL11/eotaxina, CCL24/eotaxina 2 e CXCL10/IP-10 em pacientes com migrânea. Das quais, CCL11/Eotaxina e CCL24/Eotaxina 2 têm importante papel nas afecções alérgicas (KAPLAN, 2001). Apesar de algumas linhas de evidência sugerirem a associação entre migrânea e alergia (MEHLE, 2012), nossos resultados não sugerem tal associação. Em relação a CXCL10/IP-10, de fato, nenhum dos estudos publicados até hoje, em pacientes com migrânea, demonstrou alterações significativas nos níveis de interferon gama, principal citocina a estimular a secreção de CXCL10/IP-10 (FIDAN *et al.*, 2006; MUNNO *et al.*, 2001; MARTELLETTI *et al.*, 2001; MUNNO *et al.*, 1998).

Uma limitação deste estudo é que, por ser um estudo transversal, não é possível estabelecer nenhuma associação causal. Outra limitação é que não houve o acompanhamento dos pacientes nos dias seguintes à avaliação, de modo que não se pode descartar que os pacientes estivessem em fase prodrômica. O intervalo de tempo entre a última crise de cefaleia e a avaliação também foi muito variável no presente estudo. No entanto, considerando que não foi encontrada nenhuma correlação entre este intervalo e os níveis de quimiocinas, sugere-se que esta variabilidade não interferiu nos resultados. Além disso, a proporção de pacientes com migrânea crônica foi pequena, podendo ter impedido a demonstração de diferenças significativas nos níveis de quimiocinas nas diferentes formas de migrânea.

5.4. Níveis de Fatores Neurotróficos

Neste estudo, os níveis de fatores neurotróficos não se diferenciaram entre indivíduos com migrânea e controles, e também não se diferenciaram segundo o tipo de migrânea (episódica e crônica), a presença ou não de aura, e o uso ou não de medicação profilática.

Alterações nos níveis de fatores neurotróficos na migrânea têm sido sugeridas em estudos prévios. Dois estudos evidenciaram aumento de NGF em pacientes com migrânea (SARCHIELLI *et al.*, 2001; JANG *et al.*, 2011), no entanto, ambos foram conduzidos exclusivamente com pacientes com cefaleia crônica e não consideraram a presença de cefaleia como um critério de exclusão para o estudo. Além disso, no estudo de Sarchielli e colaboradores (2001), os níveis de NGF são líquóricos. Já

neste estudo, há um predomínio de migrânea episódica e foram excluídos os indivíduos que apresentavam cefaleia no momento da coleta.

Considerando que não encontramos diferença significativa nos níveis de NGF entre as formas episódica e crônica de migrânea, acreditamos que a grande diferença entre o nosso resultado dos estudos anteriores se deva, principalmente, à ausência de indivíduos com cefaleia em nossa amostra. Portanto, é provável que o aumento nos níveis NGF ocorra somente na vigência de cefaleia. De fato, no estudo de Jang e colaboradores (2011), os autores encontraram forte correlação entre os níveis plasmáticos de NGF e a intensidade da dor relatada pelos pacientes com migrânea. Visto que o NGF tem sido envolvido na nocicepção periférica, principalmente relacionada a processos inflamatórios agudos (MALIN & DAVIS, 2008; MENDELL, ALBERS & DAVIS, 1999), pode-se hipotetizar que o aumento de NGF possa ocorrer durante a crise de migrânea, mas retornar aos níveis basais no período interictal.

Estudos prévios também evidenciaram alterações nos níveis de BDNF no soro de indivíduos com migrânea, durante a crise. Tanure e colaboradores (2010) encontraram aumento nos níveis séricos de BDNF em pacientes com migrânea episódica durante a crise em comparação com fora da crise. Nesse estudo, não foram feitas comparações com grupo controle. Fischer e colaboradores (2012) evidenciaram aumento nos níveis de BDNF em migranosos durante a crise em relação a fora de crise e em relação a controles. Assim como neste estudo, também não observaram diferenças nos níveis de BDNF em indivíduos com migrânea fora de crise em relação a controles.

Sarchielli e colaboradores (2007) demonstram aumento nos níveis líquidos de NGF e BDNF em pacientes com migrânea crônica em relação a controles. Novamente, cabe ressaltar as diferenças metodológicas com nosso estudo tendo em vista que a mensuração foi feita em líquido, com amostra exclusiva de migrânea crônica e, muito provavelmente, com inclusão de indivíduos em crise no momento da coleta.

Similar aos resultados obtidos neste trabalho, Blandini e colaboradores (2006) também não encontraram diferenças significativas nos níveis plasmáticos, tanto de NGF quanto BDNF, em pacientes com migrânea no período interictal, quando comparados a controles. Assim como nós, os autores também não encontraram diferenças nos níveis plasmáticos de ambas as NTs entre as formas episódica e

crônica de migrânea. Esses resultados reforçam a hipótese de que o aumento de fatores neurotróficos se restrinja ao período de dor.

Através de qual mecanismo esses fatores neurotróficos poderiam exercer seu papel hiperalgésico, na crise de migrânea, ainda não está claro. É bem aceito atualmente que, durante a crise de migrânea, ocorra ativação do sistema trigeminovascular e subsequente liberação de peptídeos vasoativos como o CGRP e substância P (GOADSBY, EDVINSON & EKMAN, 1988). O NGF tem papel na regulação de genes precursores dos neuropeptídeos CGRP e substância P em neurônios do gânglio da raiz dorsal (LINDSAY & HARMAR, 1989), e, *in vitro*, pode diretamente induzir a expressão de CGRP em neurônios do gânglio da raiz dorsal de camundongos (ERNSBERGER, 2009). Esses neuropeptídeos estão aumentados na crise de migrânea (GOADSBY, EDVINSON & EKMAN, 1988) e exercem papel importante em sua Fisiopatologia (RADDANT & RUSSO, 2011).

O CGRP é liberado em resposta à ativação do TRPV1 (ASSAS, PENNOCK & MIYAN, 2014), receptor que tem sido envolvido na dor da migrânea. Há evidências de que os fatores neurotróficos, especialmente o NGF, BDNF e GDNF, atuam nos processos de dor através da regulação da expressão e atividade do TRPV1 (SHU & MENDELL, 1999a; CIOBANU, REID & BABES, 2009). Recentemente, Del Fiacco e colaboradores (2014) demonstraram aumento significativo de fibras nervosas imunorreativas à TRPV1 em segmentos de artéria do couro cabeludo de pacientes com migrânea crônica em comparação a controles. O efeito hiperalgésico dos fatores neurotróficos na migrânea, se presente, pode envolver, portanto, a produção de neuropeptídeos e ativação do TRPV1.

Em relação ao GDNF, Sarchielli e colaboradores (2006b) verificaram redução significativa dos níveis líquóricos em indivíduos com migrânea crônica, em relação a controles, assim como de somatostatina, e correlação positiva entre os níveis de ambas as substâncias, discutindo o provável papel analgésico do GDNF nesses pacientes. A redução tanto do GDNF quanto da somatostatina poderia estar contribuindo para a sensibilização central sustentada na cefaleia crônica.

Há grande controvérsia em relação ao papel do GDNF na dor. Por um lado, estudos relatam sua contribuição na hiperalgisia inflamatória (FANG *et al.*, 2003; MALIN & DAVIS, 2008), por outro lado, há várias evidências do seu possível papel analgésico. Há vários estudos com modelos de dor neuropática em que a administração de GDNF significativamente foi capaz de reduzir a alodinia cutânea

(TAKASU *et al.*, 2011; HUBBARD *et al.*, 2009; ADLER *et al.*, 2009).

Acredita-se que este seja o primeiro estudo a investigar os níveis de NT-3 e NT-4/5 em pacientes com migrânea. Estas NTs são menos estudadas e relacionadas com nocicepção que as demais.

Estudos relacionando NT-3 e dor sugerem seu provável papel analgésico. A NT-3 age de forma a antagonizar o efeito do NGF visto que é capaz de reduzir a expressão do receptor Trk A, o receptor de alta afinidade para o NGF (GRATTO & VERGE, 2003), e é capaz de reverter a hiperalgesia térmica induzida por constrição crônica do nervo ciático de ratos por reduzir a expressão de receptores TRPV1 (WILSON-GERWING *et al.*, 2005)

A NT-4/5 também foi pouco estudada no contexto da dor, e as evidências são contraditórias. Foi demonstrado que ela é capaz de induzir hiperalgesia térmica em modelo experimental (SHU, LLINAS & MENDELL, 1999) e que facilita correntes evocadas pela capsaicina, sugerindo sua ação direta na ativação de TRPV1. Por outro lado, há evidências de que a NT-4/5 possa exercer papel analgésico, visto que a ativação de receptores de opióides aumenta a liberação de NT-4/5, via Trk B, e que o NT-4/5 pode atuar como modulador da resposta analgésica da morfina, potencializando seus efeitos (LUCAS *et al.*, 2003). Neste estudo, foi encontrada uma única associação entre os níveis de NTs e parâmetros clínicos, que foi uma correlação negativa entre os níveis de NT-4/5 e o escore de alodinia, favorecendo a hipótese sobre seu possível papel analgésico.

Nos resultados deste trabalho, encontrou-se, inicialmente, um aumento significativo nos níveis de GDNF e NT-4/5 nos pacientes com migrânea em relação aos controles. No entanto, tais diferenças não persistiram após análise de regressão logística com ajustamento para os escores de depressão e ansiedade, indicando provável interferência de tais fatores nas diferenças encontradas.

Alterações nos níveis de fatores neurotróficos são relatadas em pacientes com distúrbios neuropsiquiátricos. Pacientes com depressão tem menores níveis BDNF e GDNF (GRASSI-OLIVEIRA *et al.*, 2008; DE AZEVEDO CARDOSO *et al.*, 2014) e maiores níveis de NGF, NT-3 e NT-4/5 (DE AZEVEDO CARDOSO *et al.*, 2014; LOCH *et al.*, 2015) que controles saudáveis. O polimorfismo Val66Met do BDNF (HASHIMOTO, 2007) e o rs3812047 e rs3096140 do GDNF têm sido associados à ansiedade (KOTYUK *et al.*, 2013). Assim, é possível que os aumentos de fatores neurotróficos encontrados no presente estudo tenham se dado em função

da presença de comorbidades psiquiátricas.

Acredita-se que o uso de medicação profilática por alguns dos pacientes com migrânea não tenha interferido nos resultados. O único estudo que relatou interferência das medicações em uso sobre os níveis de fatores neurotróficos foi o de Hellweg e colaboradores (2008), com aumento de 13% nos níveis de BDNF após tratamento com amitriptilina, sem interferência sobre os níveis de NGF. Para descartar esse fator de confusão, foi refeita a análise, excluindo os nove pacientes em uso dessa medicação sem mudança nos resultados.

Portanto, nossos resultados indicam que os níveis de fatores neurotróficos não estão alterados em indivíduos com migrânea na ausência de cefaleia, quando comparados a controles, independente do tipo e da gravidade da doença. Estudos futuros com quantificação de fatores neurotróficos durante e fora da crise, e em diferentes substratos, como líquido, poderão aumentar a compreensão acerca do papel dos fatores neurotróficos na Fisiopatologia da migrânea.

6 CONCLUSÃO

Em conclusão, os achados do presente trabalho corroboram com a idéia de que mecanismos inflamatórios estão envolvidos na fisiopatologia da migrânea, demonstrados pelo aumento dos níveis séricos de adiponectina e das quimiocinas CXCL8/IL-8 e CCL3/MIP-1 α em indivíduos com migrânea, na ausência de cefaleia, independente da presença de sintomas de ansiedade e de depressão, da forma de migrânea e da severidade da mesma. Os níveis de fatores neurotróficos não estão alterados em pacientes com migrânea no período interictal. Como este é um estudo transversal, não é possível determinar o papel fisiopatológico exato desses mediadores inflamatórios na migrânea. Além disso, considerando que as diferenças encontradas nos níveis de mediadores foram pequenas, com baixos ORs, e com alguma sobreposição de valores entre os grupos, novos estudos são necessários para confirmar sua participação na fisiopatologia da migrânea. Além de contribuir para a melhor compreensão da doença, o estudo de tais mediadores pode indicar potenciais alvos para o desenvolvimento de novos tratamentos para esta condição altamente incapacitante.

7 REFERÊNCIAS

ABBADIE, C. Chemokines, chemokine receptors and pain. **Trends in Immunology**. v. 26, n.10, p. 529-534, 2005.

ABBADIE, C. *et al.* Chemokines and pain mechanisms. **Brain Research Reviews**. v. 60, n. 1, p. 125-134, 2009.

ADLER, J.E. *et al.* Modulation of neuropathic pain by a glial-derived factor. **Pain Medicine**. v. 10, n. 7, p. 1229-1236, 2009.

D'AGOSTINO, V.C. *et al.* Clinical and personality features of allodynic migraine. **Neurological Sciences**. v. 31, suppl 1. S159-161, 2010.

AGUGGIA, M.; SARACCO, M.G. Pathophysiology of migraine chronification. **Neurological Sciences**. v. 31, suppl 1. S15-17, 2010.

AGUGGIA, M. *et al.* Sensitization and pain. **Neurological Sciences**. v. 34, suppl 1. S37-40, 2013.

ALLEN, S.J.; DAWBARN, D. Clinical relevance of the neurotrophins and their receptors. **Clinical Science (Lond)**. v. 110, n. 2, p. 175-191, 2006.

ALOE, L. *et al.* Nerve growth factor: from the early discoveries to the potential clinical use. **Journal Translational Medicine**. v. 10, p. 239, 2012.

ALSTADHAUG, K.B. Migraine and the hypothalamus. **Cephalalgia**. v. 29, n. 8, p. 809-817, 2009.

AMAYA, F. *et al.* NGF and GDNF differentially regulate TRPV1 expression that contributes to development of inflammatory thermal hyperalgesia. **The European Journal of Neuroscience**. v. 20, n. 9, p. 2303-2310, 2004.

ANDRESS-ROTHROCK, D.; KING, W.; ROTHROCK, J. An analysis of migraine triggers in a clinic-based population. **Headache**. v. 50, n. 8, p. 1366-1370, 2010.

ANGELUCCI, F.; BRENE, S.; MATHE, A.A. BDNF in schizophrenia, depression and

corresponding animal models. **Molecular Psychiatry**. v. 10, p. 345-352, 2005.

ANTTILA, V. *et al.* Genome-wide association study of migraine implicates a common susceptibility variant on 8q22.1. **Nature Genetics**. v. 42, n. 10, p. 869-873, 2010.

ASSAS, B.M.; PENNOCK, J.I.; MIYAN, J.A. Calcitonin gene-related peptide is a key neurotransmitter in the neuro-immune axis. **Frontiers in Neuroscience**. v. 8, p. 23, 2014.

AURORA, S.K.; KULTHIA, A.; BARRODALE, P.M. Mechanism of chronic migraine. **Current Pain and Headache Reports**. v. 15, n. 1, p. 57-63, 2011.

AYATA, C. Cortical spreading depression triggers migraine attack: pro. **Headache**. v. 50, n. 4, p. 725-730, 2010.

BAG, B.; HACIHASANOGLU, R.; TUFEKCI, F.G. Examination of anxiety, hostility and psychiatric disorders in patients with migraine and tension-type headache. **International Journal of Clinical Practice**. v. 59, n. 5, p. 515-521, 2005.

BAJETTO, A. *et al.* Chemokines and their receptors in the central nervous system. **Frontiers in Neuroendocrinology**. v. 22, n. 3, p. 147-184, 2001.

BALKOWIEC-ISKRA, E.; VERMEHREN-SCHMAEDICK, A.; BALKOWIEC, A. Tumor necrosis factor- α increases brain-derived neurotrophic factor expression in trigeminal ganglion neurons in an activity-dependent manner. **Neuroscience**. v. 180, p. 322-333, 2011.

BARBOSA, I.G. *et al.* Circulating levels of GDNF in bipolar disorder. **Neuroscience Letters**. v. 502, n. 2, p. 103-106, 2011.

BARBOSA, I.G. *et al.* Chemokines in bipolar disorder: trait or state? **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**. v. 263, n. 2, p. 159-165, 2013a.

BARBOSA, I.G. *et al.* Increased BDNF levels in long-term bipolar disorder patients.

Revista Brasileira de Psiquiatria. v. 35, n. 1, p. 67-69, 2013b.

BARBOSA, I.G. *et al.* Increased levels of adipokines in bipolar disorder. **Journal of Psychiatric Research.** v. 46, n. 3, p. 389-393, 2012.

BECK, A.T. *et al.* An inventory for measuring clinical anxiety: psychometric properties. **Journal Consulting and Clinical Psychology.** v. 56, n. 6, p. 893-897, 1988.

BECK, A.T. *et al.* An inventory for measuring depression. **Archives of General Psychiatry.** v. 4, p. 53-63, 1961.

BENEMEI, S. *et al.* CGRP receptors in the control of pain and inflammation. **Current Opinion in Pharmacology.** v. 9, p. 9-14, 2009.

BENNETT, D.L. Neurotrophic factors: important regulators of nociceptive function. **The Neuroscientist.** v. 7, n. 1, p. 13-17, 2001.

BERNECKER, C. *et al.* GLP-2 and leptin are associated with hyperinsulinemia in non-obese female migraineurs. **Cephalalgia.** v. 30, n. 11, p. 1366-1374, 2010.

BIGAL, M.E.; LIBERMAN, J.N.; LIPTON, R.B. Obesity and migraine: A population study. **Neurology.** v. 66, n. 4, p. 545-550, 2006.

BIGAL, M.E.; LIPTON, R.B. Concepts and mechanisms of migraine chronification. **Headache.** v. 48, n. 1, p. 7-15, 2008.

BIGAL, M.E.; LIPTON, R.B. The epidemiology, burden, and comorbidities of migraine. **Neurologic Clinics.** v. 27, n. 2, p. 321-334, 2009.

BIGAL, M.E. *et al.* Obesity, migraine, and chronic migraine. Possible mechanisms of interaction. **Neurology.** v. 68, n. 21, p. 1851-1861, 2007a.

BIGAL, M.E. *et al.* Body mass index and episodic headaches - A population-based study. **Archives of Internal Medicine.** v. 167, n. 18, p. 1964-1970, 2007b.

BLANDINI, F. *et al.* Peripheral levels of BDNF and NGF in primary headaches. **Cephalalgia**. v. 26, n. 2, p. 136-142, 2006.

BO, S.H. *et al.* Cerebrospinal fluid cytokine levels in migraine, tension-type headache and cervicogenic headache. **Cephalalgia**. v. 29, n. 3, p. 365-372, 2009.

BOND, D.S. *et al.* Migraine and obesity: epidemiology, possible mechanisms, and the potential role of weight loss treatment. **Obesity Reviews**. v. 12, n. 5, p. e362-371, 2011.

BORISH, L.C.; STEINKE, J.W. Cytokines and chemokines. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**. v. 111, suppl 2. S460-75, 2003.

BOYD, J.G.; GORDON, T. Neurotrophic factors and their receptors in axonal regeneration and functional recovery after peripheral nerve injury. **Molecular Neurobiology**. v. 27, n. 3, p. 277-324, 2003.

BRESLAU, N. *et al.* Comorbidity of migraine and depression: investigating potential etiology and prognosis. **Neurology**. v. 60, n. 8, p. 1308-1312, 2003.

BRUNO, P.P. *et al.* An overview on immune system and migraine. **European Review for Medical Pharmacological Sciences**. v. 11, n. 4, p. 245-248, 2007.

BULDYREV I. *et al.* Calcitonin gene-related peptide enhances release of native brain-derived neurotrophic factor from trigeminal ganglion neurons. **Journal of Neurochemistry**. v. 99, n. 5, p. 1338-1350, 2006.

BURING, J.E. *et al.* Migraine and subsequent risk of stroke in the physicians health study. **Archives of Neurology**. v. 52, p. 129-134, 1995.

BURSTEIN, R.; JAKUBOWSKIA, M.; RAUCH, S.D. The science of migraine. **Journal of Vestibular Research**. v. 21, n. 6, p. 305–314, 2011.

BUSE, D.C. *et al.* Psychiatric comorbidities of episodic and chronic migraine. **Journal of Neurology**. v. 260, n. 8, p. 1960-1969, 2013.

BUZZI, M.G.; TASSORELLI, C.; NAPPI, G. Peripheral and central activation of trigeminal pain pathways in migraine: data from experimental animal models. **Cephalalgia**. v. 23, suppl 1. p. 1-4, 2003.

CANANZI, A.R. *et al.* Platelet and plasma levels of glutamate and glutamine in migraine with and without aura. **Cephalalgia**. v. 15, n. 2, p.132-135, 1995.

CAPUANO, A. *et al.* Correlation between algogenic effects of calcitonin-gene-related peptide (CGRP) and activation of trigeminal vascular system, in an in vivo experimental model of nitroglycerin-induced sensitization. **European Journal of Pharmacology**. v. 740, p. 97-102, 2015.

CARBONE, F.; LA ROCCA, C.; MATARESE, G. Immunological functions of leptin and adiponectin. **Biochimie**. v. 94, n. 1, p. 2082-2088, 2012.

CARVALHO, A.F. *et al.* Adipokines as emerging depression biomarkers: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Psychiatric Research**. No prelo 2014.

CHAO, M.V. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways. **Nature Reviews. Neuroscience**. v. 4, n. 4, p. 299-309, 2003.

CHARO, I.F.; RANSOHOFF, R.M. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. **The New England Journal of Medicine**. v. 354, n. 6, p. 610-621, 2006.

CHASMAN, D.I. *et al.* Genome-wide association study reveals three susceptibility loci for common migraine in the general population. **Nature Genetics**. v. 43, n. 7, p. 695-698, 2011.

CHENG, X. *et al.* Adiponectin induces pro-inflammatory programs in human macrophages and CD4+ T cells. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 287, n. 44, p. 36896-36904, 2012.

CIOBANU, C.; REID, G.; BABES, A. Acute and chronic effects of neurotrophic factors

BDNF and GDNF on responses mediated by thermo-sensitive TRP channels in cultured rat dorsal root ganglion neurons. **Brain Research**. v. 1284, p. 54-67, 2009.

CNOP, M. *et al.* Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. **Diabetologia**. v. 46, n. 4, p. 459-469, 2003.

COLAFRANCESCO, V.; VILLOSLADA, P. Targeting NGF-pathway for developing neuroprotective therapies for multiple sclerosis and other neurological diseases. **Archives Italiennes de Biologie**. v. 149, n. 2, p. 183-192, 2011.

COMBADIÈRE, C. *et al.* Common CX3CR1 alleles are associated with a reduced risk of headaches. **Headache**. v. 48, n. 7, p. 1061-1066, 2008.

CORRÊA, J.D. *et al.* Chemokines in CSF of Alzheimer's disease patients. **Arquivos de Neuropsiquiatria**. v. 69, n. 3, p. 455-459, 2011.

CUNHA, F.Q. *et al.* Interleukin-8 as a mediator of sympathetic pain. **British Journal of Pharmacology**. v. 104, n. 3, p. 765-767, 1991.

DANESE E.; MONTAGNANA M.; LIPPI G. Platelets and migraine. **Thrombosis Research**. v. 134, n. 1, p. 17-22, 2014.

DE AZEVEDO CARDOSO, T. *et al.* Neurotrophic factors, clinical features and gender differences in depression. **Neurochemical Research**. v. 39, n. 8, p. 1571-1578, 2014.

DEL FIACCO, M. *et al.* TRPV1, CGRP and SP in scalp arteries of patients suffering from chronic migraine. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**. No prelo 2014.

DELAIGLE, A.M. *et al.* Induction of adiponectin in skeletal muscle by inflammatory cytokines: in vivo and in vitro studies. **Endocrinology**. v. 145, n. 12, p. 5589-5597, 2014.

DENUELLE, M.; FABRE, N. Functional neuroimaging of migraine. **Revue Neurologique**. v. 169, n. 5, p. 380-389, 2013.

DENUELLE, M. *et al.* Hypothalamic activation in spontaneous migraine attacks. **Headache**. v. 47, n. 10, p. 1418-1426, 2007.

DE TOMMASO, M. *et al.* Clinical features of headache patients with fibromyalgia comorbidity. **The Journal of Headache and Pain**. v. 12, n. 6, p. 629-638, 2011.

DOMINGUES, R.B. *et al.* Correlation between migraine subtypes and depression. **Arquivos de Neuropsiquiatria**. v. 66, n. 3A, p. 485-487, 2008.

ERASLAN, D. *et al.* The relation of sexual function to migraine-related disability, depression and anxiety in patients with migraine. **The Journal of Headache and Pain**. v. 15, p. 32, 2014.

ERNSBERGER, U. Role of neurotrophin signalling in the differentiation of neurons from dorsal root ganglia and sympathetic ganglia. **Cell and Tissue Research**. v. 336, n. 3, p. 349-384, 2009.

EVANS, R.W. *et al.* The association of obesity with episodic and chronic migraine. **Headache**. v. 52, n. 4, p. 663-671, 2012.

FANG, M. *et al.* Glial cell line-derived neurotrophic factor contributes to delayed inflammatory hyperalgesia in adjuvant rat pain model. **Neuroscience**. v. 117, n. 3, p. 503-512, 2003.

FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**. v. 115, n. 5, p. 911-919, 2005.

FANTUZZI, G. Adiponectin and inflammation: Consensus and controversy. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**. v. 121, n. 2, p. 326-330, 2008.

FANTUZZI, G. Adiponectin in inflammatory and immune-mediated diseases. **Cytokine**. v. 64, n. 1, p. 1-10, 2013.

FAUCHAIS, A.L. *et al.* Serum and lymphocytic neurotrophins profiles in systemic lupus erythematosus: a case-control study. **PLoS One**. v. 8, n. 11, p. e79414, 2013.

FERRARI, L.F.; BOGEN, O.; LEVINE, J.D. Nociceptor subpopulations involved in hyperalgesic priming. **Neuroscience**. v. 165, n. 3, p. 896-901, 2010.

FIDAN, I. *et al.* The importance of cytokines, chemokines and nitric oxide in pathophysiology of migraine. **Journal of Neuroimmunology**. v. 171, n. 1-2, p. 184-188, 2006.

FISCHER, M. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor in primary headaches. **The Journal of Headache and Pain**. v. 13, p. 469–475, 2012.

FLORENCIO, L.L. *et al.* 12 item allodynia symptom checklist/Brasil: cross-cultural adaptation, internal consistency and reproducibility. **Arquivos de Neuropsiquiatria**. v. 70, n. 11, p. 852-856, 2012.

FONTENELLE, L.F. *et al.* A cytokine study of adult patients with obsessive-compulsive disorder. **Comprehensive Psychiatry**. v. 53, n. 6, p. 797-804, 2012.

FREILINGER, T. *et al.* Genome-wide association analysis identifies susceptibility loci for migraine without aura. **Nature Genetics**. v. 44, n. 7, p. 777-782, 2012.

FROTA, E.R. *et al.* Increased plasma levels of brain derived neurotrophic factor (BDNF) after multiple sclerosis relapse. **Neuroscience Letters**. v. 460, n. 2, p. 130-132, 2009.

FUSAYASU, E. *et al.* Increased plasma substance P and CGRP levels, and high ACE activity in migraineurs during headache-free periods. **Pain**. v. 128, n. 3, p. 209-214, 2007.

GALLAI, V. *et al.* Glutamate and nitric oxide pathway in chronic daily headache: evidence from cerebrospinal fluid. **Cephalalgia**. v. 23, n. 3, p. 166-174, 2003.

GAO, Y.J.; JI, R.R. Chemokines, neuronal-glia interactions, and central processing

of neuropathic pain. **Pharmacology & Therapeutics**. v. 126, n. 1, p. 56-68, 2010.

GARDNER, K.L. Genetics of migraine: an update. **Headache**. v. 46, suppl 1. S19-24, 2006.

GASPARINI, C.F.; SUTHERLAND, H.G.; GRIFFITHS, L.R. Studies on the pathophysiology and genetic basis of migraine. **Current Genomics**. v. 14, p. 300-315, 2013.

GILFILLAN, A.M.; AUSTIN, S.J.; METCALFE, D.D. Mast cell biology: introduction and overview. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. v. 716, p. 2-12, 2011.

GOADSBY, P.J.; EDVINSON, L.; EKMAN, R. Release of vasoactive peptides in the extracerebral circulation of humans and the cat during activation of the trigeminovascular system. **Annals of Neurology**. v. 23, p. 193-196, 1988.

GORESTEIN, C.; ANDRADE, L. Inventário de depressão de Beck: propriedades psicométricas da versão em português. **Revista de Psiquiatria Clínica**. v. 25, n.5, p. 245-250, 1998.

GOSSELIN, R.D. *et al.* Chemokine network in the nervous system: a new target for pain relief. **Current Medicinal Chemistry**. v. 15, n. 27, p. 2866-2875, 2008.

GRASSI-OLIVEIRA, R. *et al.* Peripheral chemokine levels in women with recurrent major depression with suicidal ideation. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v. 34, n. 1, p. 71-75, 2012.

GRASSI-OLIVEIRA, R. *et al.* Low plasma brain-derived neurotrophic factor and childhood physical neglect are associated with verbal memory impairment in major depression - a preliminary report. **Biological Psychiatry**. v. 64, n. 4, p. 281-285, 2008.

GRATTO, K.A.; VERGE, V.M. Neurotrophin-3 down-regulates trkA mRNA, NGF high-affinity binding sites, and associated phenotype in adult DRG neurons. **The**

European Journal of Neuroscience. v. 18, n. 6, p. 1535-1548, 2003.

HAAS, L. *et al.* Increased plasma levels of brain derived neurotrophic factor (BDNF) in patients with fibromyalgia. **Neurochemical Research.** v. 35, n. 5, p. 830-834, 2010.

HAMED, S.A. The vascular risk associations with migraine: relation to migraine susceptibility and progression. **Atherosclerosis.** v. 205, p. 15-22, 2009.

HAMELSKY, S.W.; LIPTON, R.B. Psychiatric comorbidity of migraine. **Headache.** v. 46, n. 9, p. 1327-1333, 2006.

HANSEN, J.M. *et al.* Calcitonin gene-related peptide triggers migraine-like attacks in patients with migraine with aura. **Cephalalgia.** v. 30, n. 10, p. 1179-1186, 2010.

HASHIMOTO K. BDNF variant linked to anxiety-related behaviors. **BioEssays.** v. 29, n. 2, p. 116-119, 2007.

HEADACHE CLASSIFICATION COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL HEADACHE SOCIETY (IHS). The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition (beta version). **Cephalalgia.** v. 33, n. 9, p. 629-808, 2013.

HEADACHE CLASSIFICATION SUBCOMMITTEE OF THE INTERNATIONAL HEADACHE SOCIETY. The international classification of headache disorders, 2nd ed. **Cephalalgia.** v. 24, suppl 1. S24-S101, 2004.

HELLWEG, R. *et al.* Serum concentrations of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in depressed patients before and after antidepressant treatment. **Pharmacopsychiatry.** v. 41, n. 2, p. 66-71, 2008.

HOGGE, E.A. *et al.* Broad spectrum of cytokine abnormalities in panic disorder and posttraumatic stress disorder. **Depression and Anxiety.** v. 26, n. 5, p. 447-455, 2009.

HOU, R.; BALDWIN, D.S. A neuroimmunological perspective on anxiety disorders.

Human Psychopharmacology. v. 27, n. 1, p. 6-14, 2012.

HUBBARD, R.D. *et al.* Controlled release of GDNF reduces nerve root-mediated behavioral hypersensitivity. **Journal of Orthopaedic Research**. v. 27, n. 1, p. 120-127, 2009.

ISHIZAKI, K. *et al.* Increased Plasma Transforming Growth Factor- β 1 in Migraine. **Headache**. v. 45, n. 9, p. 1224-1228, 2005.

JANELIDZE, S. *et al.* Low IL-8 is associated with anxiety in suicidal patients: genetic variation and decreased protein levels. **Acta Psychiatrica Scandinavica**. No prelo 2014.

JANG, M.U. *et al.* Plasma and saliva levels of nerve growth factor and neuropeptides in chronic migraine patients. **Oral Diseases**. v. 17, p. 187-193, 2011.

KADOWAKI, T.; YAMAUCHI, T.; KUBOTA, N. The physiological and pathophysiological role of adiponectin and adiponectin receptors in the peripheral tissues and CNS. **FEBS Letters**. v. 582, n. 1, p. 74-80, 2008.

KAPLAN, A.P. Chemokines, chemokine receptors and allergy. **International Archives of Allergy and Immunology**. v. 124, n. 4, p. 423-431, 2001.

KATSARAVA, Z. *et al.* Defining the differences between episodic migraine and chronic migraine. **Current Pain and Headache Reports**. v. 16, n. 1, p. 86-92, 2012.

KATSARAVA, Z. *et al.* Incidence and predictors for chronicity of headache in patients with episodic migraine. **Neurology**. v. 62, n. 5, p. 788-790, 2004.

KEITH, S.W. *et al.* BMI and headache among women: results from 11 epidemiologic datasets. **Obesity (Silver Spring)**. v. 16, n. 2, p. 377-383, 2008.

KERSCHENSTEINER, M. *et al.* Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions: a neuroprotective role of inflammation? **The Journal of Experimental Medicine**. v.

189, p. 865-870, 1999.

KITAHARA, K. *et al.* Adiponectin stimulates IL-8 production by rheumatoid synovial fibroblasts. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 378, n. 2, p. 218-223, 2009.

KLINGER, M.H.F. Platelets and inflammation. **Anatomy and embryology**. v. 196, n. 1, p. 1–11, 1997.

KOH, K.K. *et al.* Distinct vascular and metabolic effects of different classes of anti-hypertensive drugs. **International Journal of Cardiology**. v. 140, n. 1, p. 73-81, 2010.

KOÇER, A. *et al.* IL-6 Levels in migraine patients receiving topiramate. **Pain Practice**. v. 9, n. 5, p. 375-379, 2009.

KOEVA, Y.A. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor and its serum levels in schizophrenic patients. **Folia Medica (Plovdiv)**. v. 56, n. 1, p. 20-23, 2014.

KOTYUK, E. *et al.* Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) as a novel candidate gene of anxiety. **PLoS One**. v. 8, n. 12, p. e80613, 2013.

KRYSIK, R. *et al.* The role of adipokines in connective tissue diseases. **European Journal of Nutrition**. v. 51, n. 5, p. 513-528, 2012.

KULKA, M. *et al.* Neuropeptides activate human mast cell degranulation and chemokine production. **Immunology**. v. 123, n. 3, p. 398-410, 2008.

KUSHI, H. *et al.* IL-8 is a key mediator of neuroinflammation in severe traumatic brain injuries. **Acta Neurochirurgica. Supplement**. v. 86, p. 347-350, 2003.

LAGO, F. *et al.* The emerging role of adipokines as mediators of inflammation and immune responses. **Cytokine & Growth Factor Reviews**. v. 18, n. 3-4, p. 313-325, 2007.

LAGO, R. *et al.* A new player in cartilage homeostasis: adiponectin induces nitric oxide synthase type II and pro-inflammatory cytokines in chondrocytes. **Osteoarthritis and Cartilage**. v. 16, n. 9, p. 1101-1109, 2008.

LANTERI-MINET, M. Economic burden and costs of chronic migraine. **Current Pain and Headache Reports**. v. 18, n. 1, p. 385, 2014.

LANTÉRI-MINET, M. *et al.* Anxiety and depression associated with migraine: influence on migraine subjects' disability and quality of life, and acute migraine management. **Pain**. v. 118, n. 3, p. 319-326, 2005.

LASSEN, L.H. *et al.* CGRP may play a causative role in migraine. **Cephalalgia**. v. 22, p. 54–61, 2002.

LEAO, A.A.P. Spreading depression of activity in cerebral cortex. **Journal of Neurophysiology**. v. 7, n. 3, p. 359-390, 1944.

LEONARDI, M. *et al.* The global burden of migraine: Measuring disability in headache disorders with WHO's Classification of Functioning, Disability and Health (ICF). **The Journal of Headache and Pain**. v. 6, n. 6, p. 429-440, 2005.

LEVY, D. Migraine pain, meningeal inflammation, and mast cells. **Current Pain and Headache Reports**. v. 13, n. 3, p. 237–240, 2009.

LEVY, D.; BURSTEIN, R.; STRASSMAN, A.M. Mast cell involvement in the pathophysiology of migraine headache: A hypothesis. **Headache**. v. 46, suppl 1. S13-8, 2006.

LIGTHART, L. *et al.* Meta-analysis of genome-wide association for migraine in six population-based European cohorts. **European Journal of Human Genetics**. v. 19, n. 8, p. 901-907, 2011.

LINDSAY, R.M.; HARMAR, A.J. Nerve growth factor regulates expression of neuropeptide genes in adult sensory neurons. **Nature**. v. 337, n. 6205, p. 362-364, 1989.

LIPPI, G. *et al.* Adiponectin and migraine: systematic review of clinical evidence. **Neurological Sciences**. v. 35, n. 8, p. 1167-1171, 2014.

LIPTON, R.B. Tracing transformation: chronic migraine classification, progression, and epidemiology. **Neurology**. v. 72, suppl 5. S3-7, 2009.

LIPTON, R.B.; BIGAL, M.E. Migraine: epidemiology, impact, and risk factors for progression. **Headache**. v. 45, suppl 1. S3-S13, 2005.

LIPTON, R.B. *et al.* Cutaneous allodynia in the migraine population. **Annals of Neurology**. v. 63, p. 148-158, 2008.

LOCH, A.A. *et al.* Elevated neurotrophin-3 and neurotrophin 4/5 levels in unmedicated bipolar depression and the effects of lithium. **Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry**. v. 56, p. 243–246, 2015.

LONGONI, M.; FERRARESE, C. Inflammation and excitotoxicity: role in migraine pathogenesis. **Neurological Sciences**. v. 27, suppl 2. S107-10, 2006.

LUCAS, G. *et al.* Neurotrophin-4 mediated TrkB activation reinforces morphine-induced analgesia. **Nature Neuroscience**. v. 6, n. 3, p. 221-222, 2003.

LUCCHETTI, G. *et al.* Generalized anxiety disorder, subthreshold anxiety and anxiety symptoms in primary headache. **Psychiatry and Clinical Neuroscience**. v. 67, n. 1, p. 41-49, 2013.

MCWILLIAMS, L.A.; GOODWIN, R.D.; COX, B.J. Depression and anxiety associated with three pain conditions: results from a nationally representative sample. **Pain**. v. 111, n. 1-2, p. 77-83, 2004.

MAGNOUX, E.; FREEMAN, M.A.; ZLOTNIK, G. MIDAS and HIT-6 French translation: reliability and correlation between tests. **Cephalalgia**. v. 28, p. 26–34, 2008.

MALIN, S.A.; DAVIS, B.M. Postnatal roles of gdnf family members in nociceptors

plasticity. **Sheng Li Xue Bao**. v. 60, n. 5, p. 571-578, 2008.

MARCUS, D.A.; BHOWMICK, A. Fibromyalgia comorbidity in a community sample of adults with migraine. **Clinical Rheumatology**. v. 32, n. 10, p. 1553-1556, 2013.

MARTELLETTI, P. *et al.* Inhibition of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), soluble ICAM-1 and interleukin-4 by nitric oxide expression in migraine patients. **Journal of Molecular Medicine**. v. 75, n. 6, p. 448-453, 1997.

MARTELLETTI, P. *et al.* Expression of NOS-2, COX-2 and Th1/Th2 cytokines in migraine. **The Journal of Headache and Pain**. v. 2, suppl 1. S51–S56, 2001.

MARTIN, M. *et al.* The Short-Form Headache Impact Test (HIT-6) was psychometrically equivalent in nine languages. **Journal of Clinical Epidemiology**. v. 57, n. 12, p. 1271-1278, 2004.

MASHAYEKHI, F.; SALEHI, Z.; JAMALZADEH, H.R. Quantitative analysis of cerebrospinal fluid brain derived neurotrophic factor in the patients with multiple sclerosis. **Acta Medica (Hradec Kralove)**. v. 55, n. 2, p. 83-86, 2012.

MAURER, M.; VON STEBUT, E. Macrophage inflammatory protein-1. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**. v. 36, n. 10, p. 1882-1886, 2004.

MAVROCONSTANTI, T.; HALMOY, A.; HAAVIK, J. Decreased serum levels of adiponectin in adult attention deficit hyperactivity disorder. **Psychiatry Research**. v. 216, n. 1, p. 123-130, 2014.

MEHLE, M.E. Migraine and allergy: a review and clinical update. **Current Allergy and Asthma Reports**. v.12, n. 3, p. 240-245, 2012.

MENDELL, L.M.; ALBERS, K.M.; DAVIS, B.M. Neurotrophins, nociceptors, and pain. **Microscopy Research and Technique**. v. 45, n. 4-5, p. 252-261, 1999.

MERCANTE, J.P. *et al.* Disease progression to chronic migraine: onset of symptoms

of headaches, anxiety and mood disorders. **Headache Medicine**. v.2, n. 1, p. 5-9, 2011.

MERIKANGAS, K.R. et al. Association between migraine and stroke in a large-scale epidemiological study of the United States. **Archives of Neurology**. v. 52, p. 129-134, 1997.

MERIKANGAS, K.R.; STEAVENS, D.E. Comorbidity of migraine and psychiatric disorders. **Neurologic Clinics**. v. 15, n. 1, p. 115-123, 1997.

MONTERO, L.A.Z. et al. Sistema trigémino vascular y cefalea. **Universitas Médica**. v. 54, n. 1, p. 92-103, 2013

MOREIRA, M.A. et al. Chemokines in the cerebrospinal fluid of patients with active and stable relapsing-remitting multiple sclerosis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 39, n. 4, p. 441-445, 2006.

MOSKOWITZ, M.A. Pathophysiology of headache-past and present. **Headache**. v. 47, suppl 1. S58-63, 2007.

MUNNO, I. et al. Cytokines and migraine: increase of IL-5 and IL-4 plasma levels. **Headache**. v. 38, n. 6, p. 465-467, 1998.

MUNNO, I. et al. Immunological aspects in migraine: increase of IL-10 plasma levels during attack. **Headache**. 2001 Sep;41(8):764-7.

MUSABAK, U. et al. Serum adiponectin, TNF- α , IL-12p70, and IL-13 levels in multiple sclerosis and the effects of different therapy regimens. **Neuroimmunomodulation**. v. 18, n. 1, p. 57-66, 2011.

NAGANO, M. et al. Decreased expression of glial cell line-derived neurotrophic factor signaling in rat models of neuropathic pain. **British Journal of Pharmacology**. v. 140, n. 7, p. 1252-1260, 2003.

NEUMANN, F.J. et al. Induction of cytokine expression in leukocytes by binding of

thrombin-stimulated platelets. **Circulation**. v. 95, p. 2387–2394, 1997.

NEUMEIER, M. *et al.* Different effects of adiponectin isoforms in human monocytic cells. **Journal of Leukocyte Biology**. v. 79, n. 4, p. 803-808, 2006.

NOSEDA, R.; BURSTEIN, R. Migraine pathophysiology: Anatomy of the trigeminovascular pathway and associated neurological symptoms, cortical spreading depression, sensitization, and modulation of pain. **Pain**. v. 154, suppl 1. S44-53, 2013.

OH, S.B. *et al.* Chemokines and Glycoprotein120 Produce Pain Hypersensitivity by Directly Exciting Primary Nociceptive Neurons. **The Journal of Neuroscience**. v. 21, n. 14, p. 5027-5035, 2001.

OLESEN, J. The role of nitric oxide (NO) in migraine, tension-type headache and cluster headache. **Pharmacology & Therapeutics**. v. 120, p. 157-171, 2008.

OMOIGUI, S. The biochemical origin of pain--proposing a new law of pain: the origin of all pain is inflammation and the inflammatory response. Part 1 of 3 - a unifying law of pain. **Medical Hypotheses**. v. 69, n. 1, p. 70-82, 2007.

PANG, T.T.; NARENDRAN, P. The distribution of adiponectin receptors on human peripheral blood mononuclear cells. **Annals of the New York Academy of Sciences**. v. 1150, p. 143-145, 2008.

PARKASH, V. *et al.* The structure of the glial cell line-derived neurotrophic factor-coreceptor complex: insights into RET signaling and heparin binding. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 283, n. 50, p. 35164-35172, 2008.

PERES, M.F. *et al.* Primary headaches in obese patients. **Arquivos de Neuropsiquiatria**. v. 63, n. 4, p. 931-933, 2005.

PERINI, F. *et al.* Plasma cytokine levels in migraineurs and controls. **Headache**. v. 45, p. 926-931, 2005.

PETERLIN, B.L. The role of the adipocytokines adiponectin and leptin in migraine. **The Journal of American Osteopathic Association**. v. 109, n. 6, p. 314-317, 2009.

PETERLIN, B.L. *et al.* Oligomerization state-dependent elevations of adiponectin in chronic daily headache. **Neurology**. v. 70, n. 20, p. 1905-1911, 2008.

PETERLIN, B.L. *et al.* Episodic migraine and obesity and the influence of age, race, and sex. **Neurology**. v. 81, n. 15, p. 1314-1321, 2013a.

PETERLIN, B.L. *et al.* Ictal adiponectin levels in episodic migraineurs: a randomized pilot trial. **Headache**. v. 53, n. 3, p. 474-490, 2013b.

PETERLIN, B.L.; WARD, T.N. Neuropsychiatric aspects of migraine. **Current Psychiatry Reports**. v. 7, n. 5, p. 371-375, 2005.

PEZET, S.; MALCANGIO, M.; MCMAHON, S.B. BDNF: a neuromodulator in nociceptive pathways? **Brain Research. Brain Research Reviews**. v. 40, n. 1-3, p. 240-249, 2002.

PEZET, S.; MCMAHON, S.B. Neurotrophins: Mediators and modulators of pain. **Annual Review of Neuroscience**. v. 29, p. 507-538, 2006.

PEZET, S. *et al.* Differential regulation of NGF receptors in primary sensory neurons by adjuvant-induced arthritis in the rat. **Pain**. v. 90, n. 1-2, p. 113-125, 2001.

PIETROBON, D.; STRIESSNIG, J. Neurobiology of migraine. **Nature Reviews. Neuroscience**. v. 4, n. 5, p. 386–398, 2003.

PÖYHÖNEN-ALHO, M.K. *et al.* Central sympatholytic therapy has anti-inflammatory properties in hypertensive postmenopausal women. **Journal of Hypertension**. v. 26, n. 12, p. 2445-2449, 2008.

QUEIROZ, L.P. *et al.* Chronic daily headache in Brazil: a nationwide population-based study. **Cephalalgia**. v. 28, n. 12, p. 1264-1269, 2008.

QUEIROZ, L.P. *et al.* A nationwide population-based study of migraine in Brazil. **Cephalalgia**. v. 29, n. 6, p. 642-649, 2009.

RADDANT, A.C.; RUSSO, A.F. Calcitonin gene-related peptide in migraine: intersection of peripheral inflammation and central modulation. **Expert Reviews in Molecular Medicine**. v. 13, p. e36, 2011.

REICHARDT, L.F. Neurotrophin-regulated signalling pathways. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences**. v. 361, n. 1473, p. 1545-1564, 2006.

REIS, HJ. *et al.* Increased serum levels of brain-derived neurotrophic factor in chronic institutionalized patients with schizophrenia. **Neuroscience Letters**. v. 439, n. 2, p. 157-159, 2008.

ROBINSON, K.; PRINS, J.; VENKATESH, B. Clinical review: adiponectin biology and its role in inflammation and critical illness. **Critical Care**. v. 15, n. 2, p. 221, 2011.

RUSSELL, M.B.; ISELIUS, L.; OLESEN, J. Migraine without aura and migraine with aura are inherited disorders. **Cephalalgia**. v. 16, n. 5, p. 305-309, 1996.

SACHS, D. *et al.* Tumour necrosis factor-alpha, interleukin-1beta and interleukin-8 induce persistent mechanical nociceptor hypersensitivity. **Pain**. v. 96, n. 1-2, p. 89-97, 2002.

SARCHIELLI, P. *et al.* Proinflammatory cytokines, adhesion molecules, and lymphocyte integrin expression in the internal jugular blood of migraine patients without aura assessed ictally. **Headache**. v. 46, n. 2, p. 200-207, 2006a.

SARCHIELLI, P. *et al.* Glial cell line-derived neurotrophic factor and somatostatin levels in cerebrospinal fluid of patients affected by chronic migraine and fibromyalgia. **Cephalalgia**. v. 26, n. 4, p. 409-415, 2006b.

SARCHIELLI, P. *et al.* Platelet-activating factor (PAF) in internal jugular venous blood of migraine without aura patients assessed during migraine attacks. **Cephalalgia**. v.

24, p. 623–630, 2004a.

SARCHIELLI, P. *et al.* Levels of nerve growth factor in cerebrospinal fluid of chronic daily headache patients. **Neurology**. v. 57, n. 1, p. 132-134, 2001.

SARCHIELLI, P. *et al.* Chemokine levels in the jugular venous blood of migraine without aura patients during attacks. **Headache**. v. 44, n. 10, p. 961-968, 2004b.

SARCHIELLI, P. *et al.* Increased levels of neurotrophins are not specific for chronic migraine: evidence from primary fibromyalgia syndrome. **The Journal of Pain**. v. 8, n. 9, p. 737-745, 2007.

SAVARIN-VUAILLAT, C.; RANSOHOFF, R.M. Chemokines and chemokine receptors in neurological disease: raise, retain, or reduce? **Neurotherapeutics**. v. 4, n. 4, p. 590-601, 2007.

SEMPLE, B.D.; KOSSMANN, T.; MORGANTI-KOSSMANN, M.C. Role of chemokines in CNS health and pathology: a focus on the CCL2/CCR2 and CXCL8/CXCR2 networks. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**. v. 30, n. 3, p. 459-473, 2010.

SCHAUTZ, B. *et al.* Impact of age on leptin and adiponectin independent of adiposity. **The British Journal of Nutrition**. v. 108, n. 2, p. 363-370, 2012.

SCHER, A.I. *et al.* Factors associated with the onset and remission of chronic daily headache in a population-based study. **Pain**. v. 106, n. 1-2, p. 81-89, 2003.

SCHER, A.I. *et al.* Cardiovascular risk factors in migraine: the GEM population based study. **Neurology**. v. 19, p. 683-692, 2005.

SHERWOOD, E.R.; PROUGH, D.S. Interleukin-8, neuroinflammation, and secondary brain injury. **Critical Care Medicine**. v. 28, n. 4, p. 1221-1223, 2000.

SHIMOMURA, T. *et al.* Decreased serum interleukin-2 level in patients with chronic headache. **Headache**. v. 31, n. 5, p. 310-313, 1991.

SHU, X.; MENDELL, L.M. Nerve growth factor acutely sensitizes the response of adult rat sensory neurons to capsaicin. **Neuroscience Letters**. v. 274, n. 3, p. 159-162, 1999b.

SHU, X.Q.; MENDELL, L.M. Neurotrophins and hyperalgesia. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 96, n. 14, p. 7693-7696, 1999a.

SHU, X.Q.; LLINAS, A.; MENDELL, L.M. Effects of trkB and trkC neurotrophin receptor agonists on thermal nociception: a behavioral and electrophysiological study. **Pain**. v. 80, n. 3, p. 463-470, 1999.

SILBERSTEIN, S.D.; DODICK, D.W. Migraine genetics: Part II. **Headache**. v. 53, n. 8, p. 1218-1229, 2013.

SILVA, JR. A.A. *et al.* Frequency of types of headache in the tertiary care center of the Hospital das Clínicas of the Universidade Federal de Minas Gerais, MG, Brazil. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v. 58, n. 6, p. 709-713, 2012.

SIMON, N.M. *et al.* A detailed examination of cytokine abnormalities in major depressive disorder. **European Neuropsychopharmacology**. v. 18, n. 3, p. 230-233, 2008.

SPRANGER, J. *et al.* Adiponectin does not cross the blood-brain barrier but modifies cytokine expression of brain endothelial cells. **Diabetes**. v. 55, n. 1, p. 141-147, 2006.

STEINER, T.J.; STOVNER, L.J.; BIRBECK, G.L. Migraine: the seventh disabler. **The Journal of Headache and Pain**. v. 14, n. 1, p. 1, 2013.

STOFKOVA, A. Leptin and adiponectin: from energy and metabolic dysbalance to inflammation and autoimmunity. **Endocrine Regulations**. v. 43, n. 4, p. 157-168, 2009.

STRASSMAN, A.M.; LEVY, D. Response properties of dural nociceptors in relation to

headache. **Journal of Neurophysiology**. v. 95, p. 1298–1306, 2006.

SUN, J.; RAMNATH, R.D.; BHATIA, M. Neuropeptide substance P upregulates chemokine and chemokine receptor expression in primary mouse neutrophils. **American Journal of Physiology. Cell Physiology**. v. 293, n. 2, p. C696-704, 2007.

TAJTI, J. *et al.* Migraine is a neuronal disease. **Journal of Neural Transmission**. v. 118, n. 4, p. 511-524, 2011.

TAKASU, K. *et al.* Overexpression of GDNF in the uninjured DRG exerts analgesic effects on neuropathic pain following segmental spinal nerve ligation in mice. **The Journal of Pain**. v. 12, n. 11, p. 1130-1139, 2011.

TANURE, M.T. *et al.* Increased serum levels of brain-derived neurotrophic factor during migraine attacks: a pilot study. **The Journal of Headache and Pain**. v. 11, n. 5, p. 427-430, 2010.

TEIXEIRA, A.L. *et al.* Decreased levels of circulating adiponectin in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. **Neuromolecular Medicine**. v. 15, n. 1, p. 115-121, 2013.

THOMPSON, S.W. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor is an endogenous modulator of nociceptive responses in the spinal cord. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 96, p. 7714-7708, 1999.

TIETJEN, G.E. Migraine and ischaemic heart disease and stroke: potential mechanisms and treatment implications. **Cephalalgia**. v. 27, n. 8, p. 981-987, 2007.

TIETJEN, GE. The risk of stroke in patients with migraine and implications for migraine treatment. **CNS Drugs**. v. 19, p. 683-692, 2005.

TIETJEN, G.E. *et al.* Adiponectin and inflammatory cytokines in young women with migraine. **Headache**. v. 50, suppl1. S71-79, 2010.

TILG, H.; MOSCHEN, A.R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. **Nature Reviews. Immunology**. v. 6, n. 10, p. 772-783, 2006.

TRAYHURN, P.; WOOD, I.S. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. **The British Journal of Nutrition**. v. 92, n. 3, p. 347-355, 2004.

ULRICH, V. *et al.* The inheritance of migraine with aura estimated by means of structural equation modelling. **Journal of Medical Genetics**. v. 36, n. 3, p. 225-227, 1999.

UZAR, E. *et al.* Serum cytokine and pro-brain natriuretic peptide (BNP) levels in patients with migraine. **European Review for Medical Pharmacological Sciences**. v. 15, n. 10, p. 1111-1116, 2011.

VALENÇA, M.M. *et al.* Neuroendocrine dysfunction in fibromyalgia and migraine. **Current Pain and Headache Reports**. v. 13, n. 5, p. 358-364, 2009.

VERRI, W.A. JR. *et al.* Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: Targets for analgesic drug development? **Pharmacology & Therapeutics**. v. 112, n. 1, p. 116-138, 2006.

VILLARREAL-MOLINA, M.T.; ANTUNA-PUENTE, B. Adiponectin: anti-inflammatory and cardioprotective effects. **Biochimie**. v. 94, n. 10, p. 2143-2149, 2012.

WACOGNE, C. *et al.* Stress, anxiety, depression and migraine. **Cephalalgia**. v. 23, n. 6, p. 451-455, 2003.

WAEBER, C.; MOSKOWITZ, M.A. Migraine as an inflammatory disorder. **Neurology**. v. 64, n. 10, suppl 2. S9-15, 2005.

WALKER, A.J. *et al.* Stress, inflammation, and cellular vulnerability during early stages of affective disorders: biomarker strategies and opportunities for prevention and intervention. **Frontiers in Psychiatry**. v. 5, p. 34, 2014.

WALLACE, D.J. Is there a role for cytokine based therapies in fibromyalgia. **Current Pharmaceutical Design**. v. 12, n. 1, p. 17-22, 2006.

WEBER-HAMANN, B. *et al.* Resistin and adiponectin in major depression: the association with free cortisol and effects of antidepressant treatment. **Journal of Psychiatric Research**. v. 41, n. 3-4, p. 344-350, 2007.

WEIK, U. *et al.* Acute stress induces proinflammatory signaling at chronic inflammation sites. **Psychosomatic Medicine**. v. 70, n. 8, p. 906-912, 2008.

WELCH, K.M. *et al.* Periaqueductal gray matter dysfunction in migraine: cause or the burden of illness? **Headache**. v. 41, n. 7, p. 629-637, 2001.

WELCH, K.M. Migraine: a biobehavioral disorder. **Archives of Neurology**. v. 44, n. 3, p. 323-327, 1987.

WILLIAMSON, D.J.; HARGREAVES, R.J. Neurogenic inflammation in the context of migraine. **Microscopy Research and Technique**. v. 53, n. 3, p. 167-178, 2001.

WILSON-GERWING, T.D. *et al.* Neurotrophin-3 suppresses thermal hyperalgesia associated with neuropathic pain and attenuates transient receptor potential vanilloid receptor-1 expression in adult sensory neurons. **The Journal of Neuroscience**. v. 25, n. 3, p. 758-767, 2005.

YANG, M. *et al.* Validation of the Headache Impact Test (HIT-6™) across episodic and chronic migraine. **Cephalalgia**. v. 31, n. 3, p. 357-367, 2011.

YASUI, T. *et al.* Association of serum cytokine concentrations with psychological symptoms in midlife women. **Journal of Reproductive Immunology**. v. 75, n. 1, p. 56-62, 2007.

YAVUZ, B.G. *et al.* Association between somatic amplification, anxiety, depression, stress and migraine. **The Journal of Headache and Pain**. v. 14, p. 53, 2013.

ZELLER, J.A. *et al.* Platelet activation and platelet-leucocyte interaction in patients

with migraine. Subtype differences and influence of triptans. **Cephalalgia**. v. 25, n. 7, p. 536-541, 2005.

ZHANG, N. *et al.* A proinflammatory chemokine, CCL3, sensitizes the heat- and capsaicin-gated ion channel TRPV1. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 102, n. 12, p. 4536-4541, 2005.

ZHANG, N. *et al.* Proinflammatory chemokines, such as C-C chemokine ligand 3, desensitize mu-opioid receptors on dorsal root ganglia neurons. **Journal of Immunology**. v. 173, n. 1, p. 594-599, 2004.

ANEXOS

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Grupo Migrânea)

Você está sendo convidado a participar da pesquisa “**Marcadores inflamatórios e fatores neurotróficos na migrânea**”. A pesquisa tem objetivo de avaliar se existe aumento de inflamação em pessoas que sofrem de enxaqueca, visto que este ainda é um assunto pouco esclarecido na área da saúde. Você deverá responder três questionários, um para confirmar se você sofre de enxaqueca, e outros dois para verificar seu nível de ansiedade e depressão. A seguir, serão colhidos 10 mililitros de sangue através de uma veia de seu braço, em uma sala reservada, por um profissional treinado, seguindo todos os procedimentos recomendados. Você poderá sentir algum constrangimento ao responder aos questionários de ansiedade e de depressão. O único risco envolvido é relacionado à coleta de sangue que poderá causar algum desconforto e um pouco de sangramento, facilmente revertido comprimindo o local da coleta por 1 a 2 minutos. Os benefícios desta pesquisa são o acompanhamento no Ambulatório de dor de cabeça da EMESCAM, e o resultado da pesquisa que poderá ajudar, no futuro, a desenvolver novos medicamentos para o melhor tratamento desta doença.

Sua participação é voluntária e não obrigatória. A qualquer momento você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento não necessitando apresentar nenhuma justificativa, bastando para isso, informar sua decisão aos pesquisadores. Sua recusa não trará nenhum prejuízo. Independentemente de você aceitar ou não participar deste estudo, você poderá ser acompanhado com as consultas de rotina que já fazem parte do funcionamento do ambulatório de dor de cabeça da EMESCAM.

Os seus dados serão confidenciais e asseguramos o sigilo durante toda a pesquisa. As informações serão analisadas junto com as de outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. É garantido o compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado (sangue) somente para a pesquisa. Ao final do estudo o material coletado (sangue) será descartado.

Não há despesas para os participantes em qualquer fase do estudo, incluindo a medicação e as consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional durante a pesquisa, ela será paga pelos próprios pesquisadores. Em caso de dano pessoal diretamente causado pelos procedimentos deste estudo, uma vez que este dano seja comprovado, o participante terá direito à assistência médica nesta instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas. Os procedimentos usados neste estudo são considerados totalmente seguros.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o contato dos pesquisadores para localizá-los a qualquer tempo. Caso você tenha alguma dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da EMESCAM, pelo telefone (27) 3334-3586.

DECLARAÇÃO DO PACIENTE

Eu _____, identidade: _____, endereço _____, declaro ter recebido e entendido todas as informações sobre a pesquisa como seus objetivos, procedimentos, desconfortos, riscos e garantias de confidencialidade e de esclarecimentos. Eu discuti com a Halina Duarte e com o Dr. Renan B. Domingues sobre minha decisão em participar voluntariamente deste estudo. Ficou claro que não haverá despesas para mim e que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízo no meu atendimento neste serviço.

Assinatura do paciente

Assinatura do responsável legal

Data: ___/___/___

DECLARAÇÃO DOS PESQUISADORES

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente para a participação neste estudo.

Dr. Renan B. Domingues (Pesquisador responsável) – tel:
(27) 3212-7264 – R. Dr. João dos Santos Neves, 143, Vila
Rubim – Vitória

Halina Duarte (Aluna pesquisadora) tel: (27)
3335-7536
Local: Ambulatório de Cefaléia EMESCAM

ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Grupo Controle)

Você está sendo convidado a participar da pesquisa “**Marcadores inflamatórios e fatores neurotróficos na migrânea**”. A pesquisa tem objetivo de avaliar se existe aumento de inflamação em pessoas que sofrem de enxaqueca, quando comparadas a pessoas sem dor de cabeça. Você participará do grupo de pessoas sem dores de cabeça, ou seja, grupo controle.

Você deverá responder três questionários, um para confirmar que você não sofre de dor de cabeça, e outros dois para verificar seu nível de ansiedade e depressão. A seguir, serão colhidos 10 mililitros de sangue através de uma veia de seu braço, em uma sala reservada, por um profissional treinado, seguindo todos os procedimentos recomendados.

Você poderá sentir algum constrangimento ao responder aos questionários de ansiedade e de depressão. O único risco envolvido é relacionado à coleta de sangue que poderá causar algum desconforto e um pouco de sangramento, facilmente revertido comprimindo o local da coleta por 1 a 2 minutos. O benefício desta pesquisa é que seu resultado poderá ajudar, no futuro, a desenvolver novos medicamentos para o melhor tratamento da enxaqueca.

Sua participação é voluntária e não obrigatória. A qualquer momento você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento não necessitando apresentar nenhuma justificativa, bastando para isso, informar sua decisão aos pesquisadores. Sua recusa não trará nenhum prejuízo.

Os seus dados serão confidenciais e asseguramos o sigilo durante toda a pesquisa. As informações serão analisadas junto com as dos outros sujeitos, não sendo divulgada a identificação de nenhum indivíduo. É garantido o compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado (sangue) somente para a pesquisa. Ao final do estudo o material coletado (sangue) será descartado.

Não há despesas para os participantes em qualquer fase do estudo. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional durante a pesquisa, ela será paga pelos próprios pesquisadores. Em caso de dano pessoal diretamente causado pelos procedimentos deste estudo, uma vez que este dano seja comprovado, o participante terá direito à assistência médica nesta instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas. Os procedimentos usados neste estudo são considerados totalmente seguros.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o contato dos pesquisadores para localizá-los a qualquer tempo. Caso você tenha alguma dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da EMESCAM, pelo telefone (27) 3334-3586.

DECLARAÇÃO DO PARTICIPANTE

Eu _____, identidade: _____, endereço _____, declaro ter recebido e entendido todas as informações sobre a pesquisa como seus objetivos, procedimentos, desconfortos, riscos e garantias de confidencialidade e de esclarecimentos. Eu discuti com a Halina Duarte e com o Dr. Renan B. Domingues sobre minha decisão em participar voluntariamente deste estudo. Ficou claro que não haverá despesas para mim e que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízos.

Assinatura do participante

Data: __/__/____

Assinatura do responsável legal

DECLARAÇÃO DOS PESQUISADORES

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste indivíduo para a participação neste estudo.

Dr. Renan B. Domingues (Pesquisador responsável) – tel:
(27) 3212-7264 – R. Dr. João dos Santos Neves, 143, Vila
Rubim – Vitória

Halina Duarte (Aluna pesquisadora) tel: (27)
3335-7536
Local: Laboratório do HUCAM

ANEXO C – Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa EMESCAM




DECLARAÇÃO

O projeto de pesquisa “**Avaliação da Atividade Inflamatória e de Fatores Neurotróficos na Migrânea**”, cadastrado com o No **051/2011**, do pesquisador responsável “**Renan Barros Domingues**”, foi analisado e julgado pelo Colegiado do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) desta Instituição.

Declaramos que o referido projeto cumpre plenamente as exigências da resolução 196/96 e resoluções posteriores da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) do Ministério da Saúde e, portanto, foi **APROVADO**, pelo Colegiado do CEP na reunião ordinária de 28/06/2011.

Este projeto de pesquisa não poderá sofrer interrupção ou modificação na forma original apresentada sem o prévio conhecimento e consentimento deste CEP. Cabe esclarecer que o pesquisador responsável tem a obrigação de apresentar relatório dos resultados da pesquisa deste projeto ao CEP na data máxima de **28/06/2012**, sendo que o não cumprimento deste prazo resultará no impedimento do pesquisador responsável submeter novos projetos de pesquisa para análise neste CEP.

Vitória, 29 de junho de 2011


Paulo Augusto Sessa
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa
EMESCAM

ANEXO D – Questionário de Anamnese Semi-padronizada

DATA (entrevista): ____/____/____ N° do prontuário: _____

Dados pessoais:

Nome: _____

Idade: _____

Raça: () branca, () negra, () parda

Estado civil: _____

Sexo: () Fem () Masc

Endereço: _____

Telefone: _____

Atividades profissionais: () sim; () não;

Qual?: _____

1) Idade de início do quadro de dor de cabeça? _____ anos

2) Quando foi a última crise? Há _____ horas Há _____ dias

3) Usou analgésico hoje? **A-Sim, B-Não.** Qual? _____

4) Lado da cabeça: **A-** de um lado apenas **B-** em ambos os lados

6) A dor piora com as atividades rotineiras (andar, subir escadas)?: **A-Sim B-Não**

7) Característica da dor (pode anotar mais que uma):

A-pulsátil (latejante) **B**-em peso **C**-outro

8) A dor é acompanhada de náuseas?:

A-Sim, sempre B-Sim, às vezes C-nunca

9) A dor é acompanhada de vômitos?:

A-Sim, sempre B-Sim, às vezes C-nunca

10) A dor é acompanhada de intolerância à luz?

A-Sim, sempre B-Sim, às vezes C-nunca

11) A dor é acompanhada de intolerância a barulhos?

A-Sim, sempre B-Sim, às vezes C-nunca

12) Quais os medicamentos analgésicos utilizados no **último mês** e qual a quantidade usada?

Comprimidos (ou doses) por mês

- A) _____ ()1; ()2-5; () 6-10, ()11-15; ()>15
B) _____ ()1; ()2-5; () 6-10, ()11-15; ()>15
C) _____ ()1; ()2-5; () 6-10, ()11-15; ()>15
D) _____ ()1; ()2-5; () 6-10, ()11-15; ()>15
E) _____ ()1; ()2-5; () 6-10, ()11-15; ()>15
F) _____ ()1; ()2-5; () 6-10, ()11-15; ()>15

13) Utiliza medicamentos profiláticos (uso contínuo) para dor de cabeça?

- A) _____ Dose: _____ Há quanto tempo _____
B) _____ Dose: _____ Há quanto tempo _____
C) _____ Dose: _____ Há quanto tempo _____
D) _____ Dose: _____ Há quanto tempo _____

14) Uso de outros medicamentos? **A-Sim;** **B-Não.**

Quais os medicamentos em uso? _____

Anexo E – Inventário de Ansiedade de Beck

	Absolutamente Não	Levemente Não me incomodou muito	Moderadamente Foi muito desagradável, mas pude suportar	Gravemente Dificilmente pude suportar
1. Dormência ou formigamento				
2. Sensação de calor				
3. Tremores nas pernas				
4. Incapaz de relaxar				
5. Medo que aconteça o pior				
6. Atordoado ou tonto				
7. Palpitação ou aceleração do coração				
8. Sem equilíbrio				
9. Aterrorizado				
10. Nervoso				
11. Sensação de sufocação				
12. Tremores nas mãos				
13. Trêmulo				
14. Medo de perder o controle				
15. Dificuldade de respirar				
16. Medo de morrer				
17. Assustado				
18. Indigestão ou desconforto no abdômen				
19. Sensação de desmaio				
20. Rosto afogueado				
21. Suor (não devido ao calor)				

ANEXO F - Inventário de Depressão de Beck

Este questionário consiste em 21 grupos de afirmações. Depois de ler cuidadosamente cada grupo, faça um círculo em torno do número (0, 1, 2, ou 3) diante da afirmação, em cada grupo, que melhor descreve a maneira com você tem se sentido nesta semana, incluindo hoje. Se várias afirmações num grupo parecerem se aplicar igualmente bem, faça um círculo em cada uma. Tome o cuidado de ler todas as afirmações, em cada grupo, antes de fazer sua escolha.

1.0 Não me sinto triste.

- 1 Eu me sinto triste.
- 2 Estou sempre triste e não consigo sair disso.
- 3 Estou tão triste ou infeliz que não consigo suportar.

2. 0 Não estou especialmente desanimado quanto ao futuro.

- 1 Eu me sinto desanimado quanto ao futuro
- 2 Acho que nada tenho a esperar.
- 3 Acho o futuro sem esperança e tenho a impressão de que as coisas não podem melhorar.

3. 0 Não me sinto um fracasso.

- 1 Acho que fracassei mais que uma pessoa comum.
- 2 Quando olho para trás, na minha vida, tudo o que posso ver é um monte de fracassos.
- 3 Acho que, como pessoa, sou um completo fracasso.

4. 0 Não tenho prazer em tudo como antes.

- 1 Não sinto mais prazer nas coisas como antes.
- 2 Não encontro um prazer real em mais nada.
- 3 Estou insatisfeito ou aborrecido com tudo.

5. 0 Não me sinto especialmente culpado.

- 1 Eu me sinto culpado às vezes.
- 2 Eu me sinto culpado na maior parte do tempo.
- 3 Eu me sinto sempre culpado.

6. 0 Não acho que esteja sendo punido.

- 1 Acho que posso ser punido.
- 2 Creio que vou ser punido.
- 3 Acho que estou sendo punido.

7. 0 Não me sinto decepcionado comigo mesmo.

1 Estou decepcionado comigo mesmo.

2 Estou enojado de mim.

3 Eu me odeio.

8. 0 Não me sinto de qualquer modo pior do que os outros.

1 Sou crítico em relação a mim devido às minhas fraquezas ou meus erros.

2 Eu me culpo sempre por minhas falhas.

3 Eu me culpo por tudo de mal que acontece.

9. 0 Não tenho quaisquer ideias de me matar.

1 Tenho ideias de me matar, mas não as executaria.

2 Gostaria de me matar.

3 Eu me mataria se tivesse oportunidade.

10. 0 Não choro mais que o habitual.

1 Choro mais agora do que costumava.

2 Agora, choro o tempo todo.

3 Costumava ser capaz de chorar, mas agora não consigo mesmo que o queira.

11. 0 Não sou mais irritado agora do que já fui.

1 Fico irritado ou molestado mais facilmente do que costumava.

2 Atualmente me sinto irritado o tempo todo.

3 Absolutamente não me irrita com as coisas que costumava irritar-me.

12. 0 Não perdi o interesse nas outras pessoas.

1 Interesse-me menos do que costumava pelas outras pessoas.

2 Perdi a maior parte do meu interesse pelas outras pessoas.

3 Perdi todo o meu interesse nas outras pessoas.

13. 0 Tomo decisões mais ou menos tão bem como em outras épocas.

1 Adio minhas decisões mais do que costumava.

2 Tenho maior dificuldade em tomar decisões do que antes.

3 Não consigo mais tomar decisões.

14. 0 Não sinto que minha aparência seja pior do que costumava ser.

1 Preocupo-me por estar parecendo velho ou sem atrativos.

2 Sinto que há mudanças permanentes em minha aparência que me fazem parecer sem atrativos.

3 Considero-me feio.

15. 0 Posso trabalhar mais ou menos tão bem quanto antes.

- 1 Preciso de um esforço extra para começar qualquer coisa.
- 2 Tenho de me esforçar muito até fazer qualquer coisa.
- 3 Não consigo fazer nenhum trabalho.

16. 0 Durmo tão bem quanto de hábito.

- 1 Não durmo tão bem quanto costumava.
- 2 Acordo uma ou duas horas mais cedo do que de hábito e tenho dificuldade para voltar a dormir.
- 3 Acordo várias horas mais cedo do que costumava e tenho dificuldade para voltar a dormir.

17. 0 Não fico mais cansado do que de hábito.

- 1 Fico cansado com mais facilidade do que costumava.
- 2 Sinto-me cansado ao fazer qualquer coisa.
- 3 Estou cansado demais para fazer qualquer coisa.

18. 0 Meu apetite não está pior do que de hábito.

- 1 Meu apetite não é tão bom quanto costumava ser.
- 2 Meu apetite está muito pior agora.
- 3 Não tenho mais nenhum apetite.

19. 0 Não perdi muito peso, se é que perdi algum ultimamente.

- 1 Perdi mais de 2,5 Kg.
- 2 Perdi mais de 5,0 Kg.
- 3 Perdi mais de 7,5 kg.

Estou deliberadamente tentando perder peso, comendo menos: SIM () NÃO ()

20. 0 Não me preocupo mais do que o de hábito com minha saúde.

- 1 Preocupo-me com problemas físicos como dores e aflições ou perturbações no estômago ou prisão de ventre.
- 2 Estou muito preocupado com problemas físicos e é difícil pensar em outra coisa que não seja isso.
- 3 Estou tão preocupado com meus problemas físicos que não consigo pensar em outra coisa.

21. 0 Não tenho observado qualquer mudança recente em meu interesse sexual.

- 1 Estou menos interessado em sexo do que costumava.
- 2 Estou bem menos interessado em sexo atualmente.
- 3 Perdi completamente o interesse por sexo.

ANEXO G - Questionário de Sintomas da Alodínia Cutânea

CHECK LIST SINTOMAS DA ALODÍNIA CUTÂNEA

Mês: _____ Ano: _____

Nome do Paciente: _____

Medicação Preventiva: _____ Dose: _____

_____ Dose: _____

Medicação na Crise: _____ Dose: _____

_____ Dose: _____

Com que frequência você apresenta um aumento da dor ou uma sensação desagradável na pele (durante sua enxaqueca mais severa) ao realizar as seguintes atividades:	Não se aplica	Nunca	Raramente	Menos de metade das vezes	Metade das vezes ou mais
	Pontuação: 0	Pontuação: 0	Pontuação: 0	Pontuação: 1	Pontuação: 2
Penteando o cabelo					
Fazendo a barba					
Usando lentes de contato					
Usando colar					
Tomando banho (quando a água do chuveiro atinge o seu rosto)					
Durante exposição ao calor (cozinhando, lavando o rosto com água quente)					
Usando óculos					
Usando brincos					
Usando roupa justa					
Descansando sua cabeça ou rosto sobre o travesseiro					
Durante exposição ao frio (usando bolsa de gelo, lavando o rosto com água fria)					
Total de pontuação:					

Soma total de pontuação:

Alodínia	Pontuação C.S.A.
SEM	0 a 2
LEVE	3 a 5
MODERADA	6 a 8
SEVERA	9 ou mais

