

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE MEDICINA**

FABRICIO JOSE ALENCAR MESQUITA

**AÇÃO DA TESTOSTERONA EM MODELO DE DOR AGUDA
PÓS-OPERATÓRIA EM ROEDORES**

**São Luís
2016**

FABRICIO JOSE ALENCAR MESQUITA

**AÇÃO DA TESTOSTERONA EM MODELO DE DOR AGUDA
PÓS-OPERATÓRIA EM ROEDORES**

Artigo apresentado ao curso de Medicina da
Universidade Federal do Maranhão como
requisito à obtenção do Grau de Médico
Orientador: Prof. Dr. João Batista Santos
Garcia

São Luís

2016

Mesquita, Fabrício José Alencar

Ação da testosterona em modelo de dor aguda pós-operatória em roedores. / Fabrício José Alencar Mesquita. - São Luis, 2016.

30 f.

Orientador: Prof. Dr. João Batista Santos Garcia
Artigo (Graduação) Curso de Medicina, Universidade Federal do Maranhão, 2016

1. Testosterona 2. Dor pós-operatória 3. Flutamida
I.Santos Garcia, João Batista (Orient.). II. Título

CDU 616.8-009.7:577.17

FABRICIO JOSE ALENCAR MESQUITA

**AÇÃO DA TESTOSTERONA EM MODELO DE DOR AGUDA
PÓS-OPERATÓRIA EM ROEDORES**

Artigo apresentado ao Curso de Medicina da
Universidade Federal do Maranhão como
requisito à obtenção do Grau de Médico

Orientador: Prof. Dr. João Batista Santos
Garcia

Aprovado em:/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr. João Batista Santos Garcia – Orientador
Universidade Federal do Maranhão

Prof^a. Dr^a. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes – Examinador 1
Universidade Federal do Maranhão

Prof^a. Ms. Lyvia Maria Rodrigues de Sousa Gomes – Examinador 2
Universidade Federal do Maranhão

Prof^a. Ms. Tereza Cristina Monteiro de Melo Prazeres – Examinador 3
Universidade Federal do Maranhão

A Deus, pelo seu imenso amor e cuidado, dando-me ânimo e direcionando meus passos nessa jornada.

Aos meus pais Irineide Mesquita e José Mesquita e meu irmão, Paulo Mesquita. Como uma rocha firme, minha família me deu suporte e amor incondicional em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por a cada dia abrir os meus olhos para enxergar a sua maravilhosa graça e por guiar os meus passos pelos caminhos dessa vida. Por me dar ânimo nos momentos mais difíceis e esperança diante de um futuro incerto.

À minha mãe, Irineide Mesquita, por todo o carinho, dedicação e orientação. Por todo seu amor em me disciplinar nos momentos necessários e tranquilizar nos momentos difíceis. À ela, meu exemplo de vida, minha eterna gratidão.

Ao meu pai e grande mentor, José Mesquita, por todo amor e orientação durante toda minha vida. Por todo esforço em garantir a minha formação e sustento em todos os momentos.

Ao meu irmão, Paulo Mesquita, por todo o companheirismo, amizade e suporte durante minha graduação. Por todos os conselhos e piadas compartilhadas que trouxeram sabedoria e alegria a minha vida.

Ao meu grande amigo, Victor César de Souza Marques, por todos os conselhos e companheirismo. Um exemplo de pessoa que me ajudou em vários momentos durante minha caminhada.

Ao meu orientador, Profº Drº João Batista Santos Garcia, um verdadeiro exemplo de profissional e professor. Agradeço por todos os ensinamentos e direcionamento na minha vida acadêmica e na execução do trabalho.

Ao meu amigo José Osvaldo Barbosa Neto, por me acolher em seu projeto de pesquisa e me direcionar durante a execução do trabalho. Sou grato por sua disponibilidade e companheirismo.

Aos meus amigos Prof^a Dr^a. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes, Prof^a. Anamada Carvalho e Prof. André Rossano por todos os ensinamentos transmitidos com tanta dedicação. Sou muito grato pela oportunidade de aprender como aluno e pessoa com esses mentores.

A todos os funcionários e colaboradores do Laboratório Experimental de Estudo da Dor (LEED) da Universidade Federal do Maranhão por todo o suporte oferecido.

À Liga Acadêmica de Dor do Maranhão (LAD) por todos os anos de aprendizado e pela oportunidade de participar de um grupo dedicado a pesquisa, ensino e atendimento a pessoas tão necessitadas de cuidados médicos.

Aos amigos que fiz no curso de Medicina, em especial aos alunos da turma 92. Sou grato pelo companheirismo e por ajudarem nessa caminhada tão difícil.

À Universidade Federal do Maranhão, pela minha formação científica e pessoal.

MUITO OBRIGADO

“A batalha é quase sempre ganha na mente. É pela renovação de nossa mente que nosso caráter e comportamento se transformam.”

John Stott

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema Ilustrativo do Protocolo Experimental	16
Figura 2. Fórmula para Cálculo da Distribuição de Peso.....	18
Figura 3. Avaliação do Comportamento Doloroso Não Evocado.....	18
Figura 4. Avaliação da Alodinia Mecânica.....	19
Figura 5. Avaliação da incapacitação estática	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Escore de Posicionamento da Pata.....	17
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IASP	Associação Internacional para o Estudo da Dor
PPA	Peso da pata afetada
PPC	Peso da pata contralateral
F	Grupo Flutamida
T	Grupo Controle
PO	Pós-operatório

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	ix
ARTIGO A SER SUBMETIDO	11
RESUMO	12
ABSTRACT	13
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. MATERIAL E MÉTODO.....	15
2.1 Animais.....	15
2.2 Protocolo Experimental.....	15
2.3 Avaliação Clínica.....	16
2.3.1 Avaliação do Comportamento Doloroso Não Evocado (Guarding Pain).....	16
2.3.2 Avaliação da Alodinia Mecânica (Von Frey Test)	17
2.3.3 Teste de Incapacitância Estática (Weight Bearing).....	17
2.6 Análises Estatísticas	18
3. RESULTADOS	18
3.1 Efeito da Testosterona no Comportamento Doloroso Não Evocado	18
3.2 Efeito da Testosterona na Alodinia Mecânica	19
3.3 Efeito da Testosterona na Distribuição do Peso das Patas Posteriores	19
4. DISCUSSÃO	20
5. REFERÊNCIAS.....	21
ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	24
ANEXO 2 - NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA	26

ARTIGO A SER SUBMETIDO**AÇÃO DA TESTOSTERONA EM MODELO DE DOR AGUDA
PÓS-OPERATÓRIA EM ROEDORES**

Testosterone action in rodents in
the postoperative acute pain model
(Revista Brasileira de Anestesiologia)

Fabício José Alencar Mesquita¹
João Batista Santos Garcia²

Trabalho realizado no Laboratório Experimental de Estudo da Dor (LEED) da Universidade Federal do Maranhão, em São Luís, Brasil. Curso de Medicina.

1- Graduando do Curso de Medicina da Universidade Federal do Maranhão

2- Professor Adjunto Doutor da Disciplina de Anestesiologia da Universidade Federal do Maranhão. Responsável pelo Serviço de Dor do Hospital Universitário (HU - UFMA)

RESUMO

Justificativa e objetivos: A testosterona é um hormônio esteroide que confere caracteres sexuais masculinos e pode interferir na percepção da dor, entretanto, até os dias atuais pouco se sabe sobre esta propriedade. O objetivo deste estudo foi verificar se a testosterona, por meio do bloqueio dos receptores de androgênio nos tecidos periféricos, pode alterar a resposta comportamental de ratos expostos a dor aguda pós-operatória. **Método:** Os animais foram subdivididos em dois grupos com 10 ratos cada (n=20): O grupo F foi tratado com um antagonista de receptores de androgênio (Flutamida) na dose de 50mg/kg/dia durante todo o experimento e o grupo T não recebeu medicação. No 7º dia após o início do experimento todos os ratos foram submetidos a uma incisão plantar em pata posterior direita. Os animais foram avaliados quanto aos sinais comportamentais de dor aguda antes da incisão plantar (basal), duas horas após incisão plantar, no 1º, 2º, 3º e 7º dia pós-operatório nos testes de comportamento doloroso não evocado (*Guarding Pain*), alodinia mecânica (*Von Frey*) e distribuição do pesos nas patas posteriores (*Weight Bearing*). **Resultados:** A incisão plantar causou alodinia e incapacidade estática significativa nos animais. O tratamento com Flutamida aumentou a percepção de dor no animais no 2º, 3º e 7º dia pós-operatório no teste de incapacitância estática, *Weight Bearing*. Além disso, na 2ª hora após a incisão plantar, os animais submetidos ao tratamento com Flutamida apresentaram maior comportamento doloroso não evocado, observado pelo *Guarding Pain*, e menor limiar de retirada de pata, pelo teste de *Von Frey*. **Conclusões:** Esses resultados apontam que a menor biodisponibilidade de testosterona contribui para uma maior percepção de dor em ratos em um modelo experimental de dor aguda pós-operatória.

Palavras-chave: Testosterona, Dor pós-operatória, Flutamida

ABSTRACT

Rationale and objectives: Testosterone is a steroid hormone that confers male sexual characters and may interfere with pain perception, but to this day little is known about this property. The aim of this study was to verify whether testosterone, by blocking androgen receptors in peripheral tissues, may alter the behavioral response of rats exposed to acute postoperative pain. **Method:** The animals were subdivided into two groups with 10 rats each (n = 20): F group was treated with an androgen receptor antagonist (Flutamide) at a dose of 50mg/kg/day throughout the experiment and the T group Received no medication. On the 7th day after the start of the experiment all rats were submitted to a plantar incision on the right hind paw. The animals were evaluated for behavioral signs of acute pain before the plantar incision (baseline), two hours after plantar incision, at the 1st, 2nd, 3rd and 7th postoperative day in the tests of non-evoked pain behavior (*Guarding Pain*), mechanical allodynia (Von Frey) and weight distribution of the hind limbs (Weight Bearing). **Results:** The plantar incision caused allodynia and significant static disability in the animals. Flutamide treatment increased the perception of pain in the animals on the 2nd, 3rd and 7th postoperative day in the static impairment test, Weight Bearing. In addition, at the 2nd hour after the plantar incision, the animals submitted to Flutamide treatment presented greater unevoked painful behavior, observed by Guarding Pain, and lower paw withdrawal threshold, by the Von Frey test. **Conclusions:** These results indicate that the lower bioavailability of testosterone contributes to a greater perception of pain in rats in an experimental model of acute postoperative pain.

Keywords: Testosterone, Post-operative pain, Flutamide

1. INTRODUÇÃO

O estudo das diferenças relacionadas a prevalência de dor entre homens e mulheres tem tido destaque na literatura científica¹. Estudos epidemiológicos tem demonstrado que o sexo feminino é mais susceptível a desordens que causam dor como artrite, cistite intersticial e fibromialgia^{2,3,4}. Os fatores biológicos, sociais e culturais têm sido apontados como justificativas para tal diferença. Entretanto, ainda não é possível definir as diferenças exatas que se relacionam com a percepção da dor entre os sexos.⁵

Além de um maior predomínio de condições dolorosas no sexo feminino, as mulheres apresentam uma menor tolerância a dor, maior suscetibilidade a estímulos nociceptivos e uso mais frequente de medicamentos analgésicos^{2,6}. Estudos realizados em laboratório observaram diferenças em aspectos estruturais e funcionais das vias de dor entre os sexos, mostrando maior suscetibilidade de ratas do sexo feminino para dor inflamatória e desenvolvimento de neuropatia^{1,7}.

Embora fatores socioculturais, ambientais e genéticos devam ser considerados como fatores responsáveis na diferença da percepção de dor entre os sexos, acredita-se que fatores biológicos, como os hormônios sexuais, desempenhem um papel importante na modulação da dor e no desenvolvimento de condições relacionadas a dor¹. Autores demonstram que o limiar de dor varia durante o ciclo menstrual (maiores na fase folicular)³, apontam que crianças tem o mesmo limiar de dor antes da puberdade⁸ e, além disso, gestantes apresentam maior limiar de dor e maior nível de analgesia. Por fim, há evidencias de que o sistema nervoso central abriga diversos receptores para hormônios sexuais onde ele podem modular transmissões nociceptivas e sistemas endógenos de modulação da dor⁸.

Androgênio e estrogênio, são considerados hormônios sexuais masculinos e femininos, respectivamente. Apesar disso, estão presentes em ambos os sexos em níveis detectáveis e têm efeitos significativos na manutenção da homeostase fisiológica, desenvolvimento e diferenciação sexual⁹. A testosterona, um andrógeno, é considerado um pró-hormônio, uma vez que seus substratos são responsáveis pela maioria de suas ações. A testosterona pode ser reduzida a dihidrotestosterona, agindo através dos receptores de andrógeno ou aromatizado ao estradiol⁵.

Do ponto de vista experimental, estudos com o estrogênio apontam para uma ação neuroprotetora, entretanto, mostram resultados contraditórios quanto aos efeitos sobre a nocicepção^{1,10}. A testosterona, quando testada em um modelo de dor provocada por formalina em ratos (dor nociceptiva e inflamatória), mostrou um papel protetor na percepção de dor⁸. Outro estudo, comparando animais com diferentes níveis fisiológicos de testosterona, mostrou que os hormônios gonadais masculinos têm um efeito inibitório e adaptativo sobre as respostas comportamentais e neuronais à estimulação nociceptiva repetida¹¹.

O adequado estudo dos efeitos dos hormônios sexuais na modulação da dor promoverá o desenvolvimento de terapêuticas capazes de contribuir para a otimização do manejo da dor. O objetivo deste estudo foi verificar se o bloqueio dos receptores de androgênio nos tecidos periféricos pode alterar a resposta comportamental de ratos expostos a dor aguda pós-operatória.

2. MATERIAL E MÉTODO

O estudo foi realizado no Laboratório Experimental de Estudo da Dor (LEED), localizado no campus do Bacanga da Universidade Federal do Maranhão. Foi submetido à análise e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Universidade Federal do Maranhão (ANEXO 1).

2.1 Animais

Foram utilizados 20 *Rattus norvegicus* (Wistar), machos, com idade de 120 dias, provenientes do Biotério da Universidade Federal do Maranhão, pesando entre 250 e 300g. Os animais foram acondicionados em gaiolas (n=5/gaiola) no Biotério Setorial do Prédio de Pós graduação (CCBS) abrigados com ciclo circadiano de 12 horas, em um ambiente com temperatura controlada ($23 \pm 2^\circ\text{C}$), com fornecimento de água e ração *ad libitum*. Os animais foram ambientados aos testes comportamentais diariamente, sete dias antes de iniciar a fase experimental.

2.2 Protocolo Experimental

Seguindo as recomendações da IASP¹² para experimentos que envolvem dor em animais conscientes, foi realizado um modelo experimental de dor aguda em ratos. Os animais foram subdivididos em dois grupos com 10 ratos cada: O grupo Flutamida (F) foi tratado com Flutamida e o grupo Testosterona (T) não recebeu a medicação.

Os animais do grupo F receberam Flutamida (50mg/kg/dia), que é um antagonista da testosterona, por sete dias antes da indução da dor pós-operatória e mantiveram-se tratados durante todo o protocolo. Esta medicação foi administrada regularmente no período da manhã, por via subcutânea.

O grupo Testosterona (T) foi considerado o grupo controle para as análises comparativas, pois o mesmo não teve nenhuma alteração exógena no seu metabolismo hormonal.

No 7º dia após o início do experimento, todos os ratos foram submetidos a uma incisão plantar em pata posterior direita conforme modelo já descrito¹³. Os animais foram anestesiados com Isoflurano 2 a 3% via cone nasal. A região plantar da pata posterior direita foi preparada com solução de Povidine, de maneira estéril. Uma incisão longitudinal de 1 cm foi procedida com uma lâmina nº 11 através da pele e fáscia da pata do rato, iniciando a 0,5 cm do limite proximal do calcanhar até os dedos. O músculo flexor foi elevado e incisado longitudinalmente, mantendo sua origem e inserção intacta. Após hemostasia, a pele foi aproximada por dois pontos de sutura com fio de nylon 5-0.

Durante o experimento os animais foram avaliados periodicamente quanto ao comportamento doloroso não evocado (*Guarding Pain*), distribuição do pesos nas patas posteriores (*Weight Bearing*) e avaliação da alodinia mecânica através do aparelho de *Von Frey* digital. Os animais foram avaliados antes da incisão plantar (basal), 2h após incisão plantar, 1º dia pós-operatório, 2º dia pós-operatório, 3º dia pós-operatório e 7º dia pós-operatório. (Figura 1) A partir do 7º dia pós-operatório os animais foram mortos com dose letal do anestésico Isoflurano.

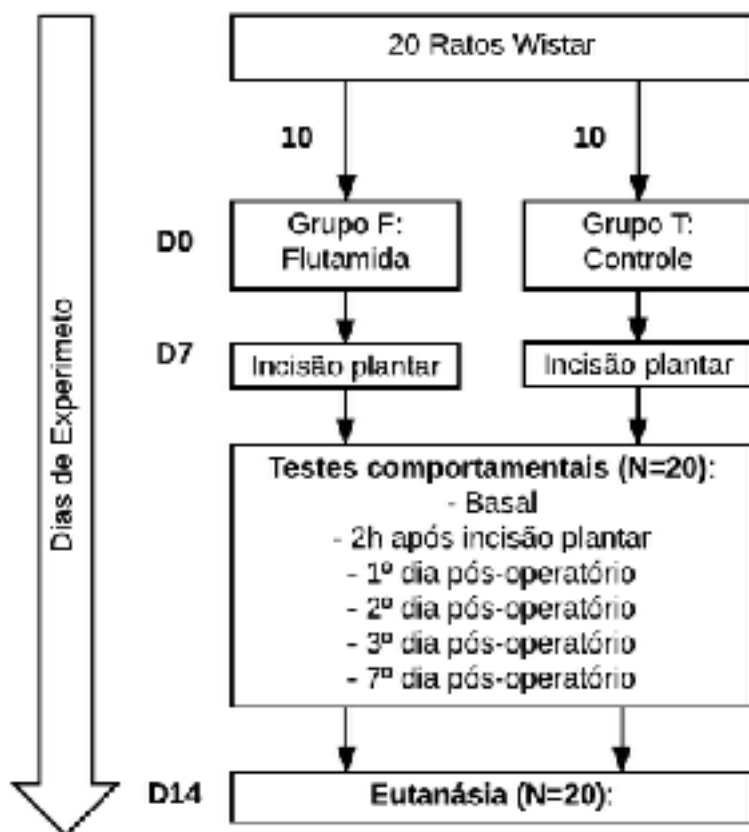


Figura 1. Esquema Ilustrativo do Protocolo Experimental

2.3 Avaliação Clínica

2.3.1 Avaliação do Comportamento Doloroso Não Evocado (*Guarding Pain*)

Foi utilizado um escore cumulativo para avaliar o comportamento doloroso não evocado. Os animais foram colocados livremente sobre uma rede plástica (com orifícios de aproximadamente 8x8cm) elevada e coberta por uma gaiola plástica translúcida (21x27x15cm).

As patas, incisada e não incisada, foram visualizadas. Cada animal teve ambas as patas observadas atentamente durante um período de 1 minuto, este procedimento foi repetido a cada 5 minutos por 1 hora.

Foi atribuída uma nota, que variou de 0-2, para o posicionamento adotado por cada pata do animal a maior parte do tempo durante este período de observação (Tabela 1).

Tabela 1. Escore de Posicionamento da Pata

0	A ferida operatória da pata do animal esta totalmente em contato, esbranquiçada ou mesmo distorcida, pela rede.
1	A pata do animal toca gentilmente a rede, porém sem distorção da ferida operatória ou não estando esbranquiçada.
2	A pata não faz contato com a rede.

Fonte: Brennan; 2011

O somatório das 12 notas (0-24) obtidas durante 1 hora de observação foi registrado. A diferença entre as notas obtidas entre a pata saudável e a operada representou o score de dor cumulativa no período de 1 hora¹⁴.

2.3.2 Avaliação da Alodinia Mecânica (*Von Frey Test*)

A avaliação da alodinia mecânica ou resposta dolorosa a um estímulo que normalmente é indolor foi realizada pelo teste de *Von Frey*. Neste teste foi utilizado um analgesímetro digital (Modelo Insight São Paulo, Brasil), que consiste em um transdutor de pressão conectado a um contador digital de força expressa em gramas (g). O aparelho mantém a precisão de 0,1 g até a força de 80 e é calibrado para registrar uma força máxima de 150 g. Os animais foram colocados em caixas de acrílico, com dimensão de 17x12x20cm, cujo assoalho consiste em um rede de malha igual a 5mm², constituída de arame não maleável de 1mm de espessura, durante 15 minutos antes do experimento. Por entre as malhas da rede e por meio de uma ponteira descartável de polipropileno com 0.5mm de diâmetro, o experimentador aplicou uma pressão linearmente crescente no centro da planta da pata do rato até o animal produzir uma resposta caracterizada como sacudida da pata estimulada (*“flinch”*). Os estímulos foram repetidos por até seis vezes, até o animal apresentar três medidas semelhantes com uma clara resposta de *“flinch”* após a retirada da pata¹⁵.

2.3.3 Teste de Incapacitância Estática (*Weight Bearing*)

Utilizou-se um teste de Incapacitância Estática *“Weight Bearing”* (modelo IITC Life Science, Califórnia, Estados Unidos) que determina a distribuição do peso do animal nas patas posteriores. Os animais foram colocados em uma câmara de acrílico angulada, posicionados, de modo que, cada pata posterior repousasse sobre plataformas diferentes. O peso em gramas exercido sobre cada pata posterior foi avaliado em um período de cinco segundos. A aferição final da distribuição do peso foi dada por uma média de três aferições. As alterações na distribuição do peso nas patas posteriores foram calculadas por meio da fórmula de distribuição de peso em

percentual (Figura 2) em que PPC é o peso da pata contralateral e PPA é o peso da pata afetada¹⁶.

Figura 2. Fórmula para Cálculo da Distribuição de Peso

$$\text{Distribuição de peso (\%)} = \frac{\text{PPA}}{\text{(PPA+ PPC)}} \times 100$$

Fonte: Bove; 2003

2.6 Análises Estatísticas

Os dados coletados foram analisados utilizando-se o software Graphpad Prism 5® (GraphPad software, San Diego, CA). A comparação das médias entre os grupos experimentais foi realizada através do Teste de T para as variáveis numéricas. O valor de $P < 0,05$ foi considerado como indicativo de significância.

3. RESULTADOS

3.1 Efeito da Testosterona no Comportamento Doloroso Não Evocado

Duas horas após a incisão plantar, os grupos apresentaram uma diferença estatisticamente significativa ($P < 0.001$) no escore de posicionamento da pata. O grupo F (n=10) apresentou escore 2.2 vezes maior que o grupo T (n=10); Nos outros períodos os grupos não apresentavam diferença no comportamento doloroso não evocado. (Figura 3).

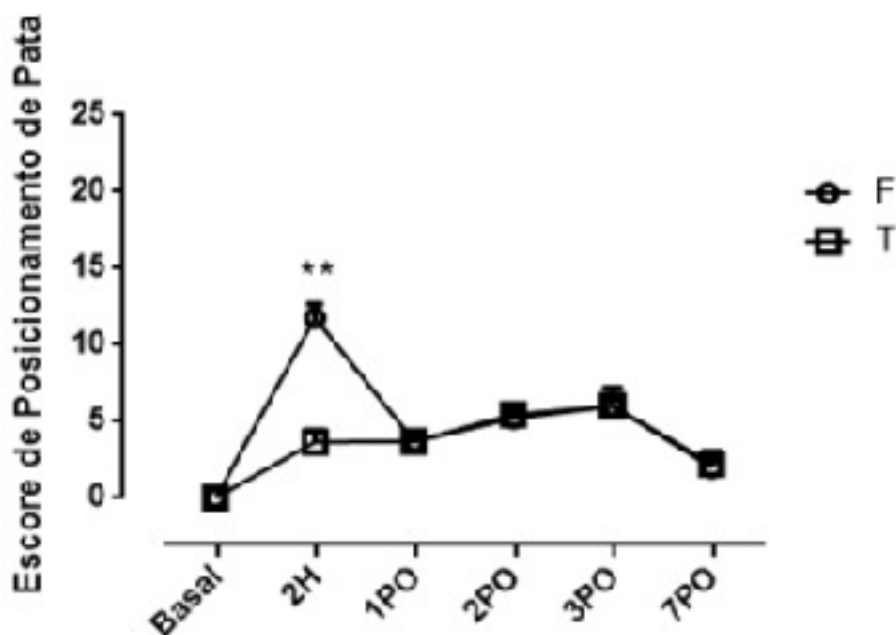


Figura 3. Avaliação do comportamento doloroso não evocado em ratos dos grupos Flutamida (F) e Testosterona (T) aferido antes e após incisão plantar. Os símbolos e linhas verticais indicam a média \pm erro padrão das médias. * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$.

3.2 Efeito da Testosterona na Alodinia Mecânica

A incisão plantar induziu alodinia mecânica nos animais, conforme demonstrado no limiar nociceptivo de retirada da pata dos animais através do teste de *Von Frey* digital, mostrando uma diminuição nos grupos após a 2ª hora em relação ao seu respectivo momento basal (n=10). Na comparação entre os grupos, o grupo F (n=10) apresentou um limiar maior no momento basal e no 3º dia pós-operatório de 15% ($P<0,05$) e 82% ($P<0,001$), respectivamente. No entanto, na 2ª hora pós-operatória, o grupo F (n=10) apresentou um limiar 26% menor ($P<0,05$) (Figura 4).

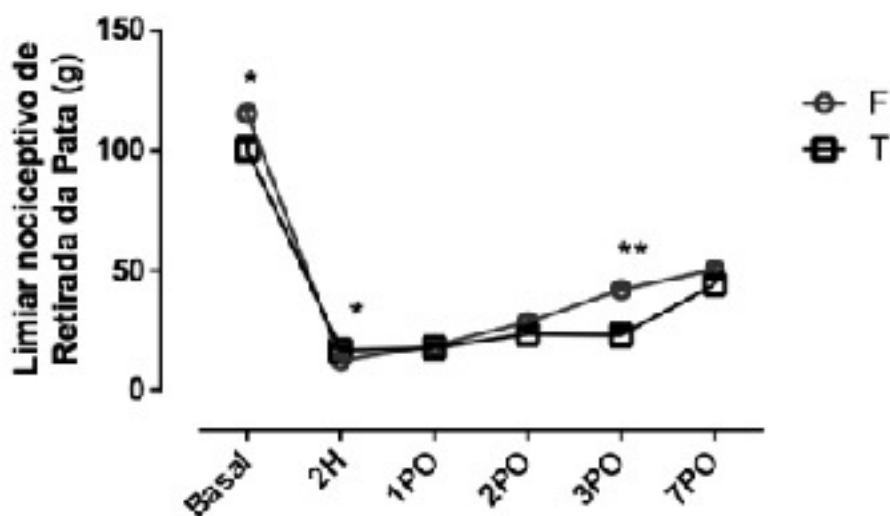


Figura 4. Avaliação da alodinia mecânica em ratos dos grupos Flutamida (F) e Testosterona (T) aferida antes e após incisão plantar. Os símbolos e linhas verticais indicam a média \pm erro padrão das médias. * $P<0,05$, ** $P<0,001$.

3.3 Efeito da Testosterona na Distribuição do Peso das Patas Posteriores

Após duas horas da incisão plantar, os animais dos grupos F (n=10) e T (n=10) passaram a apresentar sinais de desconforto, distribuindo o peso predominantemente na pata saudável. Os ratos tratados com a Flutamida apresentaram um deficit maior no 2º(30%), 3º(23%) e 7º(36 %) dia pós-operatório em comparação ao grupo T (n=10). (Figura 5).

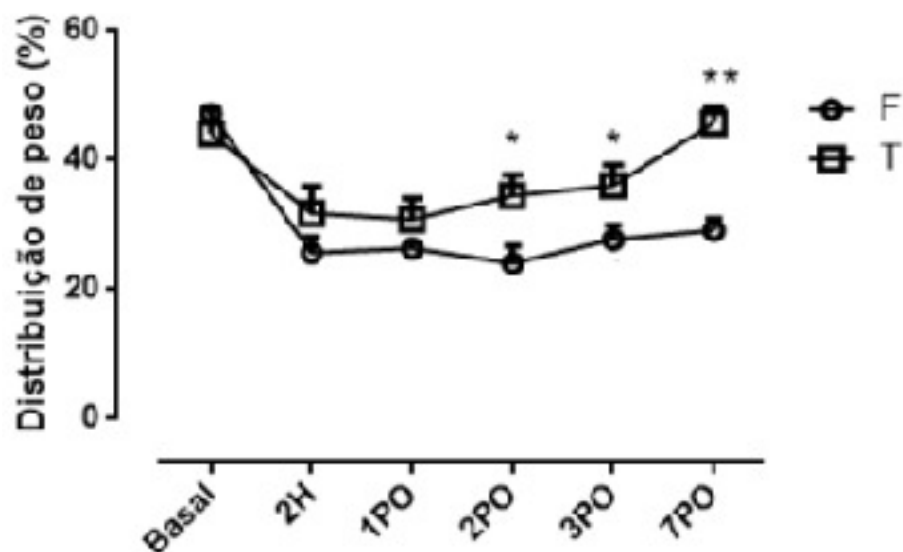


Figura 5. Avaliação da incapacitância estática em ratos dos grupos Flutamida (F) e Testosterona (T) aferida antes e após incisão plantar. Os símbolos e linhas verticais indicam a média \pm erro padrão das médias.* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$.

4. DISCUSSÃO

Estudos clínicos e experimentais demonstram que os hormônios gonadais afetam as respostas induzidas pela dor^{1,2}. O presente estudo demonstra que a testosterona tem propriedades antinociceptivas em ratos machos submetidos a um modelo de dor aguda pós-operatória.

Nesta avaliação, os resultados mostram que o comportamento doloroso não evocado e a distribuição do peso das patas posteriores dos animais, avaliados pelo método *Guarding Pain* e pelo medidor de incapacidade estática, respectivamente, apontam para um papel protetor da testosterona na percepção de dor (figuras 3 e 5). Esta é uma descrição sem precedentes do uso desses testes para avaliar o papel da testosterona em um modelo de dor aguda pós-operatória, a despeito disso, os resultados obtidos encontram fundamentação na literatura.

Um estudo que avaliou o efeito da reposição hormonal em ratos gonadectomizados em um modelo de dor nociceptiva e inflamatória demonstrou que a testosterona desempenha um papel protetor na percepção da dor.⁸ Outro experimento, que investigou o papel da testosterona na mediação dos efeitos antinociceptivos da clonidina na região do nervo trigêmeo de ratos machos, apontou que a testosterona atua de forma relevante na expressão dos efeitos antinociceptivos da clonidina por meio da indução do receptor adrenérgico alfa-2.¹⁷ O receptor semelhante ao receptor de opioides 1 (ORL1), outro receptor relacionado a nocicepção, também foi apontado como um receptor que pode ser modulado pelos hormônios gonadais. Foi demonstrado que a testosterona é necessária para os efeitos antinociceptivos da Orfanina FQ, um ligante endógeno do ORL1, em ratos machos¹⁸.

A sensibilização periférica faz parte da patogênese da incisão plantar devido a uma ação aumentada nos terminais de nociceptores, decorrentes do efeito de

neuromediadores inflamatórios, levando a alodinia, uma diminuição do limiar da dor¹⁴. Neste estudo o bloqueio de receptores de androgênio apontou resultados contraditórios nos limiares de retirada de pata no teste de *Von Frey*, exibindo um efeito pró-nociceptivo da Flutamida no momento basal e no 3º dia pós-operatório; e um efeito antinociceptivo duas horas após a incisão plantar (figura 4). Tais achados podem ser justificados pela utilização de aparelho de *Von Frey* manual que pode apresentar viés de aferição entre os dias de avaliação. Um meio de evitar esse tipo de erro seria o uso do teste de *Von Frey* eletrônico que tem como vantagem a diminuição do número de tentativas necessárias para avaliar o limiar nociceptivo e supressão de problemas relativos à uniformização dos filamentos¹⁹. O uso de testes comportamentais evocados podem ser pouco efetivos em capturar a atividade latente em vias nociceptivas¹⁴. A opção por usar testes não evocados, além dos testes evocados, neste estudo visou amenizar essa limitação.

Já é bem estabelecido na literatura que os hormônios gonadais atuam em diferentes níveis sobre as vias nociceptivas. Uma vez que os receptores de estrogênio e androgênio têm uma distribuição tanto em estruturas centrais como periféricas, os hormônios gonadais podem ter ação direta na modulação da dor nas fibras aferentes, na medula espinhal ou no sistema nervoso central²⁰. Entretanto, com o conhecimento atual, ainda não é possível indicar com precisão o local de sua ação. Além disso, esse efeito modulador tem se tornado algo cada vez mais complexo de se entender, considerando-se que os efeitos mediados por hormônios gonadais envolvem não somente a biodisponibilidade de hormônios e receptores, mas também de outros elementos, como co-ativadores de receptores nucleares²¹. Portanto, novos estudos relacionando os hormônios gonadais à nocicepção devem ser realizados, com o objetivo de ampliar o conhecimento e desfazer as divergências que existem na literatura.

Ao final desse estudo, podemos concluir que o bloqueio de receptores de androgênio, e consequente diminuição da biodisponibilidade da testosterona, contribui para uma maior percepção de dor em ratos testados para o comportamento doloroso não evocado e para a distribuição do peso das patas posteriores dos animais em um modelo experimental de dor aguda pós-operatória.


5. REFERÊNCIAS

1. Vacca, V, Marinelli, S, Pieroni, L et al. Higher pain perception and lack of recovery from neuropathic pain in females: a behavioural, immunohistochemical, and proteomic investigation on sex-related differences in mice. *Pain*. 2014;155(2),388-402.
2. Fillingim, RB, King, CD, Ribeiro-Dasilva, MC et al. Sex, gender, and pain: a review of recent clinical and experimental findings. *J Pain*. 2009;10(5):447-85.
3. Teixeira MJ, Teixeira WGJ, de Souza Santos, FP et al. Epidemiologia clínica da dor músculo-esquelética. *Rev Med (São Paulo)* 2001; 80(spe1), 1-21.

4. Van Hecke, O, Torrance, N, & Smith, BH. Chronic pain epidemiology and its clinical relevance. *Br J Anaesth*. 2013;111(1),13-18.
5. Palmeira, CCDA, Ashmawi, HA, & Posso, IDP. Sex and pain perception and analgesia. *Rev Bras Anesthesiol*. 2011;61(6),820-828.
6. Wiesenfeld-Hallin Z. Sex differences in pain perception. *Gend Med*. 2005;2:137–45.
7. Aloisi AM, Affaitati G, Ceccarelli I et al. Estradiol and testosterone differently affect visceral pain-related behavioural responses in male and female rats. *Eur J Pain* 2010;14:602–7.
8. Gaumont I, Arsenault P, Marchand S. Specificity of female and male sex hormones on excitatory and inhibitory phases of formalin-induced nociceptive responses. *Brain Res*. 2005;1052:105-111.
9. Affaitati G, Ceccarelli I, Fiorenzani P et al. Sex differences in the analgesic effects of ICI 182,780 and Flutamide on ureteral calculosis in rats. *Horm behav*. 2011;59(1),9-13.
10. Coulombe MA, Spooner MF, Gaumondi I et al. Estrogen receptors beta and alpha have specific pro and anti-nociceptive actions. *Neuroscience*. 2011;184:172–82.
11. Ceccarelli, I, Scaramuzzino, A, Massafra, C et al. The behavioral and neuronal effects induced by repetitive nociceptive stimulation are affected by gonadal hormones in male rats. *Pain*. 2003;104(1),35-47.
12. Zimmermann M – Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*. 1983;16(2):109-10.
13. Brennan TJ, Vandermeulen EP, Gebhart GF. Characterization of a rat model of incisional pain. *Pain*. 1996;64:493–501
14. Brennan, TJ – Pathophysiology of postoperative pain. *Pain*. 2011;152(3 Suppl),S33.
15. Cunha, TM, Verri Jr, WA, Vivancos, GG et al – An electronic pressure-meter nociception paw test for mice. *Braz J Med Biol Res*. 2004; 37(3), 401-407.
16. Bove SE, Calcaterra SL, Brooker RM et al – Weight bearing as a measure of disease progression and efficacy of anti-inflammatory compounds in a model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil*. 2003;11(11): 821-830.
17. Nag S, Mokha SS – Testosterone is essential for alpha-2-adrenoceptor-induced antinociception in the trigeminal region of the male rat. *Neurosci Lett*. 2009; 467:48-52.
18. Claiborne J, Nag S, Mokha SS – Activation of opioid receptor like-1 receptor in the spinal cord produces sex-specific antinociception in the rat: estrogen attenuates antinociception in the female, whereas testosterone is required for the expression of antinociception in the male. *J Neurosci*, 2006;26:13048-13053.
19. Vivancos GG, Verri Jr WA, Cunha TM et al . An electronic pressure-meter nociception paw test for rats. *Braz J Med Biol Res* 2004;37(3), 391-399.

20. Lu CL, Hsieh JC, Dun NJ et al. Estrogen rapidly modulates 5-hydroxytryptophan-induced visceral hypersensitivity via GPR30 in rats. *Gastroenterology*. 2009;137,1040–1050.
21. Tetel, MJ – Modulation of steroid action in the central and peripheral nervous systems by nuclear receptor coactivators. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34,S9-S19.

ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

 UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	
PARECER CONSUBSTANCIADO INICIAL	Nº do parecer: 02
PROJETO DE PESQUISA	Registro da CEUA: 02/14
INFLUÊNCIA DA TESTOSTERONA NA EXPRESSÃO DE CANAIS DE SÓDIO VOLTAGEM DEPENDENTES Nav1.7 EM MODELO DE DOR AGUDA PÓS-OPERATÓRIA	Nº do Protocolo: 23115.004874/2014-58
	Data de entrada na CEUA: 02/14
	Parecer: APROVADO

I – Identificação

Título do projeto: INFLUÊNCIA DA TESTOSTERONA NA EXPRESSÃO DE CANAIS DE SÓDIO VOLTAGEM DEPENDENTES Nav1.7 EM MODELO DE DOR AGUDA PÓS-OPERATÓRIA		
Identificação da equipe executora: João Bastista Santos Garcia Hazem Adel Ashmawi, José Osvaldo Barbosa Neto, Maria do Socorro de Sousa Cartágenes		
Instituição onde será realizado: UFMA		
Área temática: Não se aplica	Multicêntrico: Não	Data de recebimento: 02/2014
Cooperação estrangeira:		Data de devolução: 11/2014

II – Objetivos:

Objetivo geral:

Estudar a expressão do canal de sódio voltagem-dependente Nav 1.7 em modelo experimental de dor aguda pós-operatória em animais gonadectomizados com e sem a reposição de testosterona. Determinando assim o mecanismo pelo qual os animais expressam comportamento doloroso diferente entre gêneros diferentes da mesma espécie.

III – Sumário do projeto:

Este projeto trata-se de um estudo experimental sobre dor pós-operatória realizado com ratos machos expostos ou não à testosterona. Serão utilizados ratos adultos, machos Wistar, entre 2-3 meses de idade, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão, pesando entre 250 e 300g e abrigados com ciclo circadiano de 12h. Comida e água estarão disponíveis por livre demanda, e todos os animais serão sacrificados no fim do experimento respeitando os preceitos éticos de pesquisa em animais. Todos os animais serão submetidos à orquiectomia bilateral. Posteriormente serão divididos em dois grupos: com reposição de testosterona e sem reposição de testosterona. Os animais serão submetidos à incisão plantar na pata posterior direita e testados para limiar de retirada da pata após estímulo mecânico e proteção do membro ou “guarding pain”. Ao final dos experimentos, os animais serão anestesiados com isoflurano e amostra de sangue será coletada por punção cardíaca para determinação dos níveis plasmáticos hormonais de testosterona. Após a coleta de sangue os animais serão sacrificados por excesso de CO₂, sendo levados ao setor de descarte de animais da Universidade Federal do Maranhão. A dosagem destes hormônios tem como o objetivo registrar se houve adequado controle em suas respectivas manipulações, de acordo

técnica já descrita previamente.

No modelo de dor pós-operatório utilizado, os animais serão submetidos a orquiectomia sob anestesia geral, sendo posteriormente divididos em dois grupos. O primeiro grupo receberá diariamente reposição de testosterona, enquanto o segundo grupo será mantido com baixos níveis de testosterona. Na segunda etapa, após cicatrização da ferida operatória do saco escrotal do animal (4 dias), será feita incisão da fáscia plantar D da pata traseira, dos animais de ambos os grupos, sob anestesia geral. A partir daí, uma parte dos animais será utilizada para avaliação comportamental de expressão do comportamento doloroso através do uso de algesímetro digital-Von Frey (Insight Ltda, Ribeirão Preto, SP, Brasil), e do teste do “*guarding pain*”. Os demais animais serão utilizados para obtenção de material genético proveniente do gânglio da raiz dorsal de L4 e L5. Para obtenção, os animais serão sacrificados e submetidos a laminectomia dos respectivos níveis, e extração completa do gânglio de cada raiz. Em seguida, esse material será congelado em nitrogênio líquido para que possa ser analisado por método de PCR.

IV – Comentário do relator frente à resolução 779 de 26 de agosto de 2010 e complementares em particular sobre:

O atual projeto será realizado nas dependências do Laboratório experimental para o estudo da dor (LEED), no Prédio da Pós-Graduação em Ciências da Saúde. A sua vigência será de 12 meses a iniciar após a aprovação desta comissão. O valor do projeto está orçado em cerca de vinte mil reais e será utilizado financiamento anteriormente obtido pelo grupo. O projeto está conciso e coerente quanto aos seus objetivos. Serão utilizados ratos, machos, com peso entre 250 e 300 g. Segundo o cálculo amostral do pesquisador, serão utilizados 76 ratos provenientes do Biotério Central da UFMA. Os métodos a serem utilizados estão claros e são baseados em artigos publicados em revistas conceituadas, mas não estão muito claros os grupos a serem utilizados. Os animais serão eutanasiados por dessangramento seguido de anestesia e os animais remanescentes não serão usados para outro fim.

V – Pendências

Não há pendências

VI – Recomendações:

VII – Parecer consubstanciado da CEUA

O projeto intitulado **INFLUÊNCIA DA TESTOSTERONA NA EXPRESSÃO DE CANAIS DE SÓDIO VOLTAGEM DEPENDENTES Nav1.7 EM MODELO DE DOR AGUDA PÓS-OPERATÓRIA** utilizará 76 ratos, no período de um ano, e foi considerado APROVADO pela CEUA/UFMA.

São Luís, _26_/_03_/_15_



Profa Dra Lucilene Amorim Silva

Presidente da CEUA / UFMA

ANEXO 2 - NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

NORMAS AOS AUTORES

Os artigos para publicação deverão ser encaminhados com exclusividade para a Revista Brasileira de Anestesiologia pelo site <http://ees.elsevier.com/bjan>. Não serão aceitos artigos já publicados em outros periódicos. São aceitos apenas artigos submetidos em inglês ou português; e os artigos aceitos serão publicados apenas na versão em inglês e na versão em português.

A Revista Brasileira de Anestesiologia classifica os artigos nas seguintes categorias:

- a) **Artigos Científicos:** Novas informações de pesquisa clínica ou experimental.
- b) **Revisões:** Artigos de síntese, de assuntos bem estabelecidos, com análise crítica das referências bibliográficas consultadas e conclusões, revisões sistemáticas.
- c) **Informações Clínicas:** Relatos de casos clínicos, apresentação de novas técnicas, métodos e equipamentos.
- d) **Artigos Diversos:** Aqueles que não se enquadram nas categorias anteriores, de interesse para a Anestesiologia.
- e) **Artigos Especiais:** Revisões de assuntos de interesse da especialidade.
- f) **Cartas ao Editor:** Críticas à matéria publicada, de maneira construtiva, objetiva e educativa. As discussões de assuntos específicos da Anestesiologia serão publicadas a critério do Editor.
- g) **Editoriais.**

Aprovação para Publicação: Todos os artigos propostos à publicação serão previamente submetidos à apreciação de dois ou mais membros do Conselho Editorial ou outros Consultores Especializados no assunto. Quando aceitos, estarão sujeitos a pequenas correções ou modificações que não alterem o estilo do autor. Eventuais modificações na forma, no estilo ou na interpretação só ocorrerão após consulta prévia. Quando recusados, os artigos serão devolvidos com a justificativa do Editor-Chefe.

OBS: O autor e os coautores devem enviar, no momento da submissão, o Termo de Cessão de Direitos Autorais à Sociedade Brasileira de Anestesiologia e à Elsevier Editora Ltda. Devem ser anexados à submissão os Termos, em formato PDF, para cada um dos autores do artigo.

O modelo a ser usado está disponível para download em: <http://ees.elsevier.com/bjan/>, no quadro lateral Author Information.

Correção Final: Os artigos para publicação serão encaminhados ao autor para as correções cabíveis e devolução no menor prazo possível. Se houver atraso na devolução da prova, o Editor-Chefe reserva-se o direito de publicar, independentemente da correção final.

A prova do artigo será enviada ao autor cujo endereço eletrônico foi indicado para correspondência, ficando o mesmo responsável pela apreciação final da matéria, estando os demais de acordo com a publicação da mesma.

Formas de Apresentação dos Trabalhos: Os manuscritos devem estar de acordo com as especificações apresentadas no quadro a seguir.

Tipo de manuscrito	Número de palavras	Referências
Artigos científicos	3000	25
Artigos de revisão	5000	50
Cartas ao editor	500	2
Relatos de caso/Informações clínicas	1500	5

Título: O título do artigo deve ser curto, claro e conciso para facilitar sua classificação. Quando necessário, pode ser usado um subtítulo.

Autor(es): O(s) nome(s) completo(s) do(s) autor(es) e seus títulos e filiações à Sociedade ou Instituições. As filiações devem ser apresentadas em ordem hierárquica decrescente (p.ex. Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, Departamento de Pediatria) e na língua original da instituição ou na versão em inglês quando a escrita não é latina (p.ex. Johns Hopkins University, Universidade de São Paulo, Université Paris-Sorbonne). Nomes de outros colaboradores podem ser citados no final, em agradecimentos. Indicar o local onde se realizou o estudo.

Resumo Estruturado: Para artigos científicos destacar: Justificativa e Objetivos, Método, Resultados e Conclusões. Para informações clínicas destacar: Justificativa e Objetivos, Relato do Caso e Conclusões. Para artigos de revisão destacar: Justificativa e Objetivos, Conteúdo e Conclusões.

Para todos os artigos, indicar os Unitermos para a classificação bibliográfica, segundo Greene NM - Key Words in Anesthesiology, 3rd Ed, New York, Elsevier ou mais recente. Ademais, os resumos devem ser compostos por, no máximo, 300 palavras.

Texto: Iniciar o texto, sem indicar o(s) autor(es) nem local onde foi realizado. Os artigos científicos devem apresentar os seguintes capítulos: Introdução, Método, Resultados, Discussão, Resumo e Referências.

Referências: O artigo deve conter apenas as referências consultadas, numeradas conforme a entrada no texto. As outras citações de autores já enumerados deverão indicar exclusivamente o numeral de referência. Evitar a citação do nome do autor em destaque. Não se recomenda a citação de trabalho não publicado ou apresentado em Eventos Médicos. Referências com mais de cinco anos, de livros texto e resumo de congressos, devem limitar-se às que são fundamentais. Incluir referências acessíveis aos leitores. Quando a citação for de artigo já aceito para publicação, incluir "em processo de publicação", indicando a revista e o ano. Comunicações pessoais não são aceitas. Utilize o seguinte modelo:

Revistas: Nome(s) do(s) autor(es), inicial(is) do(s) pré-nome(s). Título do trabalho. Título da revista (abreviado de acordo com o Index Medicus), ano da publicação; volume: número da primeira e última páginas.

Pereira E, Vieira ZEG. Visita pré-anestésica, responsabilidade intransferível do anestesiológico. Rev Bras Anesthesiol. 1977;27:337-53.
Livros: Nome(s) do(s) Editor(es), inicial(is) do(s) pré-nome(s). Título do livro (iniciais com letra maiúscula), volume e edição, cidade onde o livro foi editado, Editora, ano de publicação e número(s) da(s) página(s) da citação.

Rigatto M. Fisiopatologia da Circulação Pulmonar, 1ª Ed, São Paulo, Fundo Editorial Prociencx. 1973;53-5.

Capítulos: Nome(s) do(s) autor(es), inicial(is) do(s) pré-nome(s). Título do capítulo. em: nome(s) do(s) editor(es), inicial(is) do(s) pré-nome(s) - Título do livro (iniciais com letra maiúscula), volume e edição, cidade onde foi editado, Editora, ano da publicação e página(s) da citação.

Coelho A. Anatomia do Sistema Específico de Condução, em: Germiniani H – Diagnóstico e Terapêutica das Arritmias Cardíacas. São Paulo, Fundo Editorial Prociencx. 1972;3-10.

Nota: Não se deve colocar pontuação nos nomes ou abreviaturas dos periódicos citados. Quando houver menos de três autores, cite-os todos e quando houver mais de três, cite somente os três primeiros, seguidos de “et al.”.

Ilustrações: Enumerar ilustrações de acordo com a ordem de entrada no texto. Enumerar figuras em algarismos arábicos. Enumerar quadros e tabelas em algarismos romanos. Indicar, no texto, o local preferencial de entrada de cada ilustração (Entra Figura x, por exemplo). Usar fotos em branco e preto. O mesmo resultado não deve ser expresso por mais de uma ilustração.

Uso de Recursos Digitais: Textos obrigatórios em formato DOC (Winword): **Manuscript**, **Title Page** (página com os dados completos do artigo e de seus autores), **Cover Letter** (carta de apresentação do artigo ao Editor), e **Author Agreement** (declaração de ineditismo e não submissão e/ou publicação duplicada); **figuras** em barras ou linhas XLS (padrão Excel); e **fotos e figuras**, com resolução mínima de 300 dpi, em formato JPG. Não inserir títulos e legendas nas ilustrações. Não inserir ilustrações no corpo do texto. Cada ilustração deve ter arquivo individual. O nome dos arquivos deve expressar o tipo e a numeração da ilustração (Figura 1, Tabela II, por exemplo).

Títulos e legendas das ilustrações, devidamente numerados, devem estar no arquivo de texto. Cópias ou reproduções de outras publicações serão permitidas apenas mediante a anexação de autorização expressa da Editora ou do Autor do artigo de origem.

Abreviaturas: As abreviaturas não são recomendáveis, exceto as reconhecidas pelo Sistema Internacional de Pesos e Medidas, ou aquelas consignadas e consagradas nas publicações médicas. Quando as abreviaturas forem em grande número e relevantes utilizar suas definições (Glossário), em nota à parte.

Abreviaturas de termos consagrados pela Medicina deverão seguir as normas internacionais tradicionalmente em uso, de acordo com as abreviaturas padrões aprovadas pelo documento de Montreal, publicado no British Medical Journal, 1979;1:532-535.

Nomes de Fármacos: Não é recomendável a utilização de nomes comerciais de fármacos (marca registrada), mas quando a utilização for imperativa, o nome do produto deverá vir após o nome genérico, entre parênteses, em minúscula, seguido do símbolo que caracteriza marca registrada, em sobrescrito (®).

Considerações Éticas e Legais: de acordo com Exigências para Manuscritos Submetidos a Revistas da área Biomédica (Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas - Fevereiro de 2006).

Conflito de Interesses

O conflito de interesses existe quando um autor (ou a instituição do autor), revisor, ou editor tem relações de financiamento ou pessoais que influenciem de forma negativa (viés) suas ações. Essas relações variam desde com potencial mínimo até de grande potencial de influência sobre o julgamento, e nem todas representam conflito de interesses verdadeiro. O potencial para conflito de interesses pode existir se um indivíduo acredita ou não que suas relações afetam ou podem influenciar negativamente a credibilidade da revista, dos autores, ou da própria ciência. Entretanto conflitos podem ocorrer por outras razões, como relações pessoais, competição acadêmica e intelectual. Com isso, torna-se obrigatório o Author Agreement assinado por todos os autores.

Consentimento Livre e Esclarecido

Os pacientes têm direito à privacidade que não deve ser infringida sem consentimento livre e esclarecido. A identificação de informação, incluindo iniciais dos nomes dos pacientes, número de registro do hospital, não deve ser publicada através de descrições no texto, fotografias ou qualquer outra modalidade, a menos que ela seja essencial para os propósitos científicos e o paciente (ou responsável) forneça consentimento por escrito para publicação. O consentimento livre e esclarecido para esta finalidade exige que o paciente veja o manuscrito que será publicado. Os autores devem identificar indivíduos que deram assistência na elaboração do texto e declarar a origem dos fundos para essa assistência.

Detalhes que facilitem a identificação devem ser omitidos se não forem essenciais. O anonimato completo é difícil de ser atingido, entretanto consentimento livre e esclarecido deve ser obtido se existir qualquer dúvida. Por exemplo, mascarar a região dos olhos em fotografia de pacientes é uma proteção inadequada para o anonimato. Se características de identificação forem alteradas para garantir o anonimato, os autores devem garantir que essas alterações não provocarão distorção do significado científico.

Quando o consentimento livre e esclarecido for obtido esta informação deve constar da publicação.

Ética

Quando estudos em humanos são publicados, os autores devem indicar se os procedimentos obedeceram aos padrões éticos do comitê de pesquisa em humanos (institucional ou nacional) e a Declaração de Helsinki de 1975, revista em 2000. Se existirem dúvidas quanto à

condução de acordo com os padrões da Declaração de Helsinkí, os autores devem explicar o racional para o procedimento e demonstrar que a comissão institucional responsável aprovou explicitamente os aspectos duvidosos do estudo. Quando a publicação for relativa à pesquisa com animais os autores devem indicar se foram obedecidas as normas de cuidados institucionais ou nacionais e o uso de animais de laboratório foi seguido.

Registro de Ensaio Clínico

Ensaio clínico deverão ser registrados de acordo com orientação da OMS no endereço www.who.int/ictcp/en/. A OMS considera ensaios clínicos inclusive ensaios preliminares (fase I), qualquer estudo que recrute prospectivamente sujeitos de pesquisa para serem submetidos a intervenções relacionadas à saúde (fármacos, procedimentos cirúrgicos, aparelhos, terapias comportamentais, dietas, modificações nos cuidados de saúde) com finalidade de avaliar os efeitos sobre desfechos clínicos (qualquer variável biomédica ou relacionada com a saúde, inclusive medidas farmacocinéticas e efeitos adversos).

A revista tem o direito de não publicar estudos clínicos que não estejam de acordo com estes e outros padrões éticos determinados por diretrizes internacionais.