

**FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO
NA SÍNDROME DA FIBROMIALGIA**



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
Faculdade de Biociências
Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular

**FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO NA SÍNDROME DA
FIBROMIALGIA**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Biologia Celular e
Molecular como requisito para obtenção
do grau de Mestre.

Lisete Haas

Orientador:

Prof. Dr. Diogo Rizzato Lara

Porto Alegre/RS

Janeiro 2008

Dedicatória

Clara,

***Te agradeço por iluminar as nossas vidas...
minha estrelinha***

André (*in memoriam*)

Por todos momentos que juntos vivemos...

AGRADECIMENTOS

Ao meu marido, eterno companheiro de todos os maravilhosos dias e das difíceis horas que compartilhamos durante esta trajetória. Obrigado pela paciência, pelo carinho e pelo apoio.

Ao meu Orientador Professor Diogo Rizzato Lara, por tudo... Compreensão, dedicação, conhecimento, simplicidade e acima de tudo, pela presença em todos os momentos.

A meus pais, que me ensinaram os eternos valores da vida, exemplos de coragem, amparo, muito amor e amizade.

A minha alma gêmea, que sem ela ninguém seria...

Ao meu colega César que me incentivou durante esta caminhada.

Ao pessoal do laboratório de Biomedicina da Feevale pelo auxílio nas coletas de sangue e pelo espaço cedido.

Ao Roska pelo auxílio na mensuração dos dados e ao Prof. Renato Dutra Dias por me receber e acreditar nas minhas idéias.

E, em especial a todas as mulheres que participaram desta pesquisa, sem elas nada seria possível.

RESUMO

O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) é uma proteína endógena responsável por regular a sobrevivência neuronal e a plasticidade sináptica do sistema nervoso periférico e central, O BDNF tem sido estudado em situações patológicas incluindo condições como a depressão e a dor crônica, e tem sido citado nos estímulos sensoriais nociceptivos e na hipersensibilidade à dor. Resultados recentes da literatura mostraram aumento do BDNF no soro e líquido de pacientes com fibromialgia (FM). Neste estudo mensuramos os níveis séricos do BDNF em 30 pacientes com FM e 30 controles saudáveis pareados por sexo e idade analisados por enzima imunoensaio. Os pacientes com FM apresentaram níveis numericamente superiores do BDNF (FM= $167,1 \pm 171,2$ ng/ml) quando comparados com o grupo controle (Controles= $113,8 \pm 149,6$ ng/ml), chegando perto do limite de significância estatística ($p=0.056$; teste de Mann-Whitney). No entanto, somente 6 dos 30 controles apresentaram valores superiores à mediana (15/15) dos pacientes com fibromialgia (129 ng/ml) ($p= 0,029$, teste exato de Fisher bi-caudal). Não houve correlação entre os níveis de BDNF no soro e idade, tempo de doença, escore de dor, pontos de dor e escore da HAM-D. Quanto ao tratamento com antidepressivos não encontramos diferenças significativas entre os grupos. Os nossos resultados confirmaram os achados de estudos recentes do aumento dos níveis séricos do BDNF em pacientes com FM, sugerindo que o BDNF pode estar envolvido na fisiopatologia da FM, mesmo com elevados níveis de depressão.

Palavras-chaves: BDNF; fibromialgia; dor; depressão; antidepressivos.

ABSTRACT

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is an endogenous protein involved in neuronal survival and synaptic plasticity of the central and peripheral nervous system. BDNF has been studied in pathological situations, including depression and chronic pain conditions, and appears to modulate nociceptive sensory inputs and pain hypersensitivity. Serum BDNF levels have been shown to be increase in serum and CSF of patients with fibromyalgia (FM). In the present study, we assessed serum BDNF levels in 30 female patients with FM and 30 healthy age- and gender-matched volunteers using an enzyme immunoassay. FM patients showed numerically higher levels of BDNF (FM= 167.1 ± 171.2 ng/ml) when compared with the control group (control = 113.8 ± 149.6 ng/ml), close to the limit of statistical significance ($p=0.056$; Mann-Whitney test). However, only 6 out of 30 controls presented superior values to the median (15/15) of the patients with fibromyalgia (129 ng/ml) ($p = 0.029$, Fisher exact test). There was no correlation between serum BDNF levels and age, disease duration, pain score, number of pain points and HAM-D score. There was no significant difference in BDNF levels regarding current antidepressant treatment. Our results confirm previous findings of increased serum BDNF levels in patients with FM, suggesting that BDNF may be involved in the pathophysiology of Fibromyalgia, despite high levels of depression.

Keywords: BDNF, fibromyalgia, pain, depression, antidepressant.

LISTA DE ABREVIATURAS

FM – Fibromialgia

5HT – Serotonina

BDNF – Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro

DM – Depressão Maior

DRG – Raiz dos gânglios dorsais

GABA – Ácido gama-aminobutírico

GABA R - Receptor do ácido gama-aminobutírico

HAM-D – Escala de Depressão de Hamilton

HPA – Eixo Adreno-pituitário ou hipófise-adrenal

IgG – Imunoglobulina G

NA – Noradrenalina

NGF – Fator de Crescimento Neural

NK-1 – Receptor neurocinina – 1

NMDA – N – metil – D – aspartato

P75NTR – Receptor neurotrofina p75

PKC – Proteína cinase C

SNC – Sistema Nervoso Central

SP – Substância P

Trk – Tirosina cinase

TrkA – receptor da tirosina cinase A

TrkB – receptor da tirosina cinase B

VAS – Escala Analógica Visual da dor

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	10
1.1 INTRODUÇÃO	10
1.1.1 FIBROMIALGIA	10
1.1.2 O FATOR NEUROTROFICO DERIVADO DO CÉREBRO	13
1.1.3 O BDNF E A DOR	15
1.1.4 O BDNF E DEPRESSÃO	19
1.1.5 O BDNF E O TRATAMENTO ANTIDEPRESSIVO	20
1.1.6 O BDNF E A FIBROMIALGIA	22
1.2 OBJETIVOS DO ESTUDO	23
CAPÍTULO 2	24
2.1 ARTIGO CIENTÍFICO	24
CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
CONCLUSÕES	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

1 . CAPÍTULO 1

1.1 Introdução

A FIBROMIALGIA

Estudos epidemiológicos indicam que cerca de 3-5% da população sofrem atualmente de Fibromialgia (FM) e 90% dos pacientes são mulheres, com estimativas abrangendo de 1,0% a 4.9%, comparados com 0,0% a 1.6% em homens (Gran, 2003). A clínica reumatológica enfatiza a importância das síndromes da dor crônica como a FM em pacientes ambulatoriais, sendo 3,7 e 10,9% dos novos casos de FM primária ou secundária respectivamente (Bernatsky et al., 2004).

A FM é uma síndrome que apresenta padrão clínico complexo de origem desconhecida e consiste em dor músculo-esquelética difusa, sono não restaurador, fadiga, rigidez matinal, além de outras manifestações clínicas como depressão, sintomas gastrointestinais e cefaléia (de Gier et al., 2003; Julien et al., 2005). Wood (2004) caracteriza a FM como um distúrbio relacionado ao estresse no qual o início e a exacerbação dos sintomas estão relacionados a eventos ligados a traumas. Waylonis (1992) mostra a existência de correlações significativas entre situações de estresse e a exacerbação de sintomas da FM, incluindo a amplificação da dor. Os aspectos cognitivos e emocionais e a suas

relações em aumentar a intensidade da dor foram descritas por Martin (1996), Hasset (2000), Geisser (2003) e Meeus (2007).

A teoria mais aceita no momento integra uma disfunção no sistema nervoso central (SNC) em regular a sensibilidade dolorosa nos centros moduladores de dor nos níveis medular e cerebral. Pela diminuição dos níveis de serotonina (5HT) e elevação da substância P, haveria aumento da sensibilidade dolorosa, alteração de sono e fadiga (Dias et al., 2003). Raphael et al. (2004) descrevem a importância de fatores psicossociais e psiquiátricos em pacientes com FM que frequentemente apresentam história de depressão maior (DM).

Para fins de investigação o Colégio Americano de Reumatologia estabeleceu critérios para o diagnóstico de FM, incluindo dor por mais de três meses em todos os quatro quadrantes do corpo, dor esquelética axial e dor à dígito-pressão de no mínimo 11 pontos dos 18 pontos bilaterais específicos. O aumento da sensibilidade de dor pela pressão é descrito como hipervigilância e reflete um distúrbio de adaptação de dor, sugerindo associação com dor de origem psicológica (Ernberg et al., 2003).

A dor é um fenômeno dinâmico que resulta do balanço entre as atividades dos sistemas de modulação endógena inibitória e facilitatória. Deficiências no sistema inibitório de dor endógena podem contribuir para algumas condições de dores crônicas, entre elas a FM (Julien et al., 2005). Geisser et al. (2003) afirmam que as alterações no processo dos mecanismos periférico e central na FM não estão limitadas somente à dor. As correlações destas anormalidades relacionadas a traumas emocionais reforçam o conceito de que há uma ampla relação

neurofisiológica entre aspectos discriminativos, límbicos e cognitivos na experiência de dor.

Gendreau et al. (2005) e Ernberg et al. (2003) apontam o papel crucial de aminoácidos como a glutamina e neuropeptídeos como a substância P no processo de sensibilização central na subsequente experiência de dor. Julien et. al (2005) encontraram anormalidades bioquímicas no líquido cérebro-espinhal dos pacientes com FM. Baixas concentrações dos metabólitos de serotonina (5HT) e noradrenalina (NA), elevadas concentrações de substância P e fator de crescimento neural (NGF) sugerem associações com alguns sintomas presentes na FM, como distúrbio do sono e a depressão.

Duric e McCarron (2006) sugerem que os receptores de neurocinina-1 (NK-1) estão envolvidos no estresse e na depressão, modificando a plasticidade do SNC, particularmente no sistema límbico. Anormalidades na neurotransmissão monoaminérgica central parecem comuns à FM e à DM. Estudos recentes têm identificado a importância dos polimorfismos genéticos ligados à serotonina na FM e DM mediadas pela vulnerabilidade genética e/ou biológica de resposta a eventos de estresse ou traumáticos (Raphael et al., 2004).

Berber et al. (2005) afirmam que a prevalência de alterações psicológicas, particularmente a depressão, é elevada entre pacientes com FM, variando de 49% a 80%. Além disto, a depressão e a ansiedade são comuns e freqüentemente graves em casos de FM (Gran, 2003). Pacientes depressivos freqüentemente relatam perda cognitiva associada a seus sintomas depressivos. As queixas subjetivas de memória e concentração são comuns em pacientes com dor crônica, sugerindo que a influência de variáveis psicológicas como a depressão, a dor e a

fadiga podem ser considerados fatores que contribuem para a presença da FM (Suhr, 2003).

Baker et al. (2005) consideram que o tratamento da FM envolve uma abordagem multidisciplinar individualizada devido à complexidade da sintomatologia. Krell et al. (2005) sugerem que o tratamento farmacológico possa atenuar a dor, os distúrbios do sono, a fadiga e os distúrbios de humor, sendo que os antidepressivos são amplamente utilizados no tratamento de dor crônica e depressão. Recentemente, Kingsley et al. (2005) descrevem a importância da administração de drogas opióides no tratamento de dores crônicas.

O FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF)

Os fatores neurotróficos são proteínas solúveis endógenas que regulam a sobrevivência, o crescimento, a plasticidade morfológica e a síntese de novos neurônios com funções diferenciadas. Estas proteínas de similar funcionalidade e estrutura são chamadas de neurotrofinas. O NGF foi a primeira neurotrofina a ser caracterizada, seguida pela identificação de várias outras, incluindo o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). O BDNF é uma proteína de 27 kDa, sendo a mais abundante no cérebro e responsável pelo desenvolvimento e manutenção do sistema neuronal. Atua como modulador da plasticidade sináptica do sistema nervoso central e periférico e dos neurotransmissores, regulando a excitabilidade neuronal (Zhao et al. 2005; Szapacs et al., 2004; Shimizu et al., 2003; Bimonte 2003).

As neurotrofinas interagem com duas categorias de receptores de *trk*: uma delas com receptores de alta afinidade ligados à tirosina cinase e a outra com receptores de baixa afinidade ligados à neurotrofina p75 (p75NTR). Todas as neurotrofinas se ligam ao receptor p75NTR, sendo que o NGF liga-se ao receptor *trkA* e o BDNF, ao receptor *trkB* (Obata, 2006).

O BDNF é sintetizado nos corpos celulares dos neurônios sensoriais primários e expresso pelos neurônios sensoriais de pequeno diâmetro no corno dorsal (Emfors et al., 1990). É transportado do terminal central pelos aferentes primários, liberado no corno dorsal espinhal e se liga ao receptor *trkB* por neurônios sensoriais de segunda ordem (Mannion et al., 1999; Lever et al., 2001). A estimulação dolorosa aumenta a fosforilação do *TrkB* no corno dorsal de ratos, o que é consistente com a liberação do BDNF e com o aumento da auto fosforilação no corno dorsal superficial (Zhao et al. 2005; Obata et al. 2003). O BDNF é produzido pré-sinápticamente nos corpos celulares dos neurônios sensoriais projetados no corno dorsal, enquanto que no hipocampo é produzido predominantemente pelos dendritos pós-sinápticos. O BDNF exógeno facilita a liberação do glutamato no hipocampo e GABA na medula espinhal (Malcangio, 2003). O BDNF sintetizado nos neurônios dos gânglios da base dorsal é transportado para a terminação central por vias aferentes primárias para o corno espinhal dorsal e é liberado, agindo nos receptores *trkB* nos neurônios sensoriais de segunda ordem. Por outro lado, o sistema GABA apresenta grande importância na inibição pré-sináptica de aferência primária (Rudomin, 1990; Sluka et al. 1994)

Obata (2006) considera o BDNF como neuromodulador da transmissão sináptica e nocicepção espinhal. Malcangio (2003) descreve a importância dos fatores neurotróficos na eficiência da regulação sináptica através de dois mecanismos principais. Primeiro, os fatores neurotróficos têm influência indireta na liberação de vários neuromoduladores que estão relacionados à modificação da força sináptica. Segundo, a atividade neural libera os fatores tróficos no interior da fenda sináptica, podendo liberar transmissores por ação pré-sináptica ou regular a sua função pós-sináptica.

O BDNF e DOR

A dor persistente inicia mudanças na arquitetura celular e na sua expressão genética. Duric e McCarson (2006), Schumacher et al. (2005) e Pezet et al. (2005) afirmam que as modificações no sistema nervoso central contribuem para a plasticidade e a transmissão sináptica do hipocampo, modulando os mecanismos de dor.

A ação do BDNF como neuromodulador no corno dorsal da medula espinhal tem sido proposta em vários modelos de dor, incluindo a inflamação periférica, axotomia, lesão nervosa e dor neuropática (Pezet et al. 2002; Zhao et al. 2005). A ativação dos receptores trkB pelo BDNF modula a sinapse da dor primária na medula espinhal e a sinapse liberando glutamato na área CA1 do hipocampo. Evidências obtidas utilizando a neutralização do receptor TrkB sugerem a ação do BDNF como neuromodulador quando liberado de neurônios

nociceptivos de pequeno diâmetro, tendo importante função nas vias de dor (Malcangio, 2003. Zhao et al. 2005).

No corno dorsal a ativação dos receptores pelo BDNF endógeno parece contribuir para hiperalgesia, sugerindo que o BDNF contribui para a sensibilização dos neurônios dorsais (*wind up*), facilitando a ativação dos receptores NMDA. A estimulação dolorosa aguda ou crônica aumenta a fosforilação de várias subunidades do receptor (NMDAR) na medula espinhal (Kerr et al. 1999; Heppenstall e Lewin 2001). O BDNF exógeno pode agir como modulador da fosforilação do NR1, apesar de outros estudos contradizerem os efeitos do BDNF na função dos receptores do NMDA (Malcangio, 2003; Zhao et al. 2005).

O NGF também tem sido citado no envolvimento das condições nociceptivas e patológicas da dor. A ação do NGF não está somente limitada aos efeitos periféricos, pois enquanto parte substancial da ação hiperalgésica é mediada pelo BDNF liberado no corno dorsal, outros mecanismos e mediadores necessitam estar envolvidos. A hiperalgesia secundária mostrada pelo NGF pode ser parcialmente atribuída a efeitos extrassinápticos do BDNF (Zhao et al. 2005). Foi mostrado que a aplicação exógena de NGF resulta na produção de BDNF em grande parte dos neurônios sensoriais (Michael et al. 1997)

O BDNF tem sido citado no envolvimento da patofisiologia da dor e Djouhri (2001) destacou a importância do NGF na modulação às respostas hiperálgicas. Fukuoka (2001) observou diminuição da hiperalgesia mecânica e térmica através de anticorpos anti-BDNF em modelos de ressecção nervosa em ratos. A remoção do anticorpo trkB-IgG reduz significativamente as respostas nociceptivas mostradas após a injeção de formalina e carragenina na pata traseira de ratos,

sugerindo o envolvimento do BDNF nesse mecanismo de hiperalgesia (Kerr et al., 1999; Thompson et al., 1999). O BDNF exógeno, assim como o NGF, levam à persistente alodínia quando são direcionados diretamente na raiz dos gânglios dorsais (Zhou et al., 2000). Os achados do aumento da expressão de neurotrofinas sugerem seu envolvimento em modelos de dor em animais e pacientes (Narita et al., 2000; Fukuoka et al., 2001; Pezet et al., 2002).

A liberação do BDNF durante a modulação da dor é mediada pela ativação dos receptores NMDA pelo glutamato, juntamente com a substância P, agindo como neurotransmissores rápidos e moduladores lentos nas sinapses de dor primária (Lever et al., 2001). Nos neurônios sensoriais a concentração do BDNF e da substância P dependem da disponibilidade do NGF, que é produzido na periferia, alcançando os gânglios dorsais após a ligação nos receptores trkA das fibras terminais que contêm substância P e o BDNF. O aumento da concentração do NGF nos tecidos periféricos em processos inflamatórios promove a expressão do BDNF e da substância P nos neurônios sensoriais (Lever et al., 2001; Malcangio, 2003).

Yajima (2002) mostrou que a inibição da atividade do receptor Trk-B pode abolir completamente a alodinia e hiperalgesia térmica do nervo ciático em modelos de dor neuropática. Inibidores da atividade da TRK tirosina cinase e inibidores da proteína cinase C (PKC) também bloquearam a dor neuropática. Sendo assim, BDNF apresenta importante função na regulação da dor inflamatória e hiperalgesia secundária, porém o BDNF liberado somente dos nociceptores não tem importância no desenvolvimento da dor neuropática (Zhao et al. 2005).

A ativação da PKC é um importante passo para os efeitos nociceptivos causado por numerosos estímulos estressantes. A PKC é conhecida por fosforilar vários componentes celulares, incluindo enzimas, canais de íons e receptores de membrana que são reguladores chaves no processo de excitação e sensibilização nociceptivas (Ferreira et al., 2005). A PKC é capaz de modular a atividade de vários processos celulares importantes na produção da dor, incluindo a liberação de mediadores pro-nociceptivos e a subsequente ação nas vias dos receptores e sinalização. As vias de sinalização da PKC parecem ter importante função na modulação da excitabilidade dos neurônios sensoriais, contribuindo enormemente para a sensibilidade neuronal observada em certas condições de dor inflamatória e neuropática. Entretanto, a elucidação dos padrões modulados pela PKC e a sua relação com os níveis de BDNF podem ser particularmente interessantes para o melhor entendimento de alguns mecanismos das disfunções da dor (Ferreira et al., 2005). Garraway et al. (2003) descreveu que o BDNF a nível espinhal aumenta a eficácia das sinapses no receptor NMDA via PKC, reforçando a idéia de que o BDNF pode estar relacionado com os estágios exagerados de dor.

A dor crônica é um quadro clínico incapacitante caracterizada pela alteração das vias nociceptivas central e periférica. A expressão do BDNF é conhecida por ser plástica e pode estar alterada em diferentes estágios de dor. A dor também possui um forte componente similar ao estresse, refletindo os aspectos afetivos-cognitivos. Este conceito encontra suporte em dados sugerindo que a maioria de pacientes que sofrem de dores crônicas também expressam vários sintomas de depressão clínica (Duric e McCarson, 2006, Zhao, 2005).

BDNF e DEPRESSÃO

Dados clínicos estimam que mais da metade de pacientes com dor crônica apresentam também sintomas de depressão clínica (Fishbain et al., 1997; Montoya et al., 2004). A dor e o estresse são conhecidos como ativadores do eixo hipófise-adrenal (HPA) e a estimulação deste sistema pode contribuir para a plasticidade do hipocampo (Duric e McCarson, 2006). Blackburn (2004) comparou o estresse crônico em modelos animais com a depressão em seres humanos, revelando mecanismos similares na função do eixo HPA. Tsigos (2002) relacionou a disfunção do eixo HPA com os sintomas de fadiga, depressão e hiperalgesia, Ehlert et al. (2001) com vários distúrbios psiquiátricos e Ochs et al. (2000) com os níveis de serotonina.

O hipocampo é um componente central do sistema límbico envolvido na regulação do humor e afeto, e é uma das várias regiões do cérebro capaz de manter a proliferação celular e a neurogênese em humanos e animais adultos (Duric e McCarson, 2006).

Estudos sobre as propriedades antidepressivas dos antagonistas de receptores NK-1 demonstraram que estes neuromoduladores podem ser importantes no contexto do processo dos aspectos emocionais da dor crônica nos centros superiores, sugerindo que o estímulo de dor e de estresse alteram a expressão do receptor NK-1 e do gene BDNF no hipocampo (Duric e McCarson, 2005). Achados adicionais evidenciaram que o BDNF e os receptores NK-1 estão

envolvidos na dor e estresse, evocando mudanças plásticas no SNC (Duric e McCarson, 2006).

Foi demonstrado que experiências de estresse apresentam efeito inibitório na formação de novos neurônios granulares no giro denteado do hipocampo em várias espécies de mamíferos. O estresse crônico pode ocasionar atrofia e morte celular nos neurônios CA3 do hipocampo (Duman, 2006). Em adição à diminuição da neurogênese, ocorrem outras mudanças morfológicas, como a redução do volume do hipocampo observada em estudos de imagens cerebrais em casos de depressão e estresse pós-traumático (Hashimoto et al., 2004). Baixos níveis séricos de BDNF e redução do volume estriatal e do hipocampo foram encontrados em pacientes com depressão maior quando comparados a controles normais (Tsai 2003, Haynes, 2004). Esses estudos sugerem que a deficiência dessa neurofina contribui nos processos celulares e moleculares envolvidos na patofisiologia da depressão crônica (Duric e McCarson, 2006; Sheline et al., 2000, Bremner et al., 2000; Karege et al. 2002).

Recentemente Filus e Rybakowski (2005) observaram em estudos clínicos de estresse crônico alteração da expressão do BDNF confirmando a sua influência na patogênese da depressão.

O BDNF e ANTIDEPRESSIVOS

As mudanças nos níveis de serotonina no cérebro mostram associação com a depressão e as drogas serotoninérgicas são freqüentemente utilizadas no tratamento da depressão (Mamounas et al., 1995). Mattson et al. (2004)

descreveram a importância da serotonina no aumento da expressão nos níveis do BDNF em distúrbios de depressão e ansiedade.

Enquanto animais submetidos ao estresse apresentaram níveis de BDNF significativamente diminuídos (Russo-Neustadt et al., 2001), a infusão do BDNF no cérebro produziu efeitos antidepressivos em modelos de comportamento depressivo (Siuciak et al., 1997; Shirayama et al., 2002). Além disso, os níveis do BDNF em pacientes depressivos sem tratamento farmacológico eram significativamente menores do que em pacientes tratados e no grupo controle (Shimizu et al., 2003).

Nibuya et al (1995) foram os primeiros a demonstrar que a administração crônica de vários tipos de antidepressivos, incluindo os inibidores seletivos de serotonina, aumentam a expressão do BDNF no hipocampo. Outro estudo mostrou que a administração central do BDNF produz atividade antidepressiva em dois modelos animais de depressão (Tsai, 2003). Estes achados sugerem que o BDNF tem efeitos antidepressivos e podem estar relacionados na patogênese da depressão maior (Bremner et al., 2000) Adicionalmente, a administração crônica de antidepressivos pode elevar os níveis de BDNF, regulando a neurogênese e conseqüentemente revertendo muito dos efeitos causados pelo estresse no hipocampo (Tsai, 2003; Duric e McCaaron, 2006). Os antidepressivos tricíclicos, os inibidores da monoamino oxidase e inibidores seletivo da serotonina, via CREB, aumentam os níveis do fator neurotrófico derivado do cérebro (Haynes et al. 2004).

Os efeitos de drogas antidepressivas têm sido atribuídas ao aumento da proliferação das células neuronais através de mecanismos envolvendo regulação

dos níveis do BDNF no hipocampo (Duric e Mc Carson, 2006). Shimizu et al. (2003) e Chen et al. (2001) observaram aumento da concentração do BDNF no soro de pacientes após tratamento antidepressivo e aumento da imunorreação do BDNF no hipocampo em pacientes em tratamento antidepressivo.

FIBROMIALGIA E BDNF

Ao iniciar essa dissertação, não havia estudos de avaliação dos níveis de BDNF na FM. Por um lado, a alta comorbidade com DM e estresse nos inclinava a pensar que o BDNF estaria diminuído na FM. Por outro, seu papel nos processos dolorosos sugeriam que estaria aumentado. Recentemente dois estudos envolvendo BDNF e FM foram publicados e estão resumidos na Tabela 1. Ambos encontraram aumento dos níveis de BDNF na FM.

Tabela 1 – Resumo dos estudos sobre os níveis do fator neurotrófico derivado do cérebro na Fibromialgia.

Autor/Ano	Métodos	Achados
Laske, 2007	Níveis do BDNF no soro de 41 pacientes com FM com baixas doses de antidepressivos comparados a 45 voluntários do grupo controle sem história de depressão e utilização de antidepressivo.	Níveis séricos do BDNF aumentados em pacientes com FM. Não houve diferenças dos níveis do BDNF entre os grupos de pacientes com história de depressão e entre os pacientes que utilizaram baixas doses de antidepressivos
Sarchielli, 2007	Níveis do BDNF no líquido em 20 pacientes com enxaqueca, 20 pacientes com FM primária e 20 indivíduos controles.	Aumento significativo dos níveis do BDNF no líquido em pacientes com FM e enxaqueca.

1.2. OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL:

- Investigar a concentração sérica do BDNF em pacientes com Fibromialgia.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Avaliar os níveis séricos da proteína BDNF em pacientes com síndrome da Fibromialgia e controles saudáveis.
- Verificar a correlação do quadro algico e os níveis de proteína BDNF.
- Identificar a presença de transtornos psiquiátricos e sua correlação com o tratamento farmacológico e os níveis de BDNF em pacientes com síndrome da fibromialgia.
- Verificar a correlação entre o tratamento farmacológico com antidepressivos e os níveis séricos de BDNF.

2. CAPÍTULO 2

2.1. ARTIGO

Increased Serum Levels of Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Patients with Fibromyalgia

Lisete Haas¹, Luis V.C. Portela², Ana Elisa Böhmer², Jean Pierre Oses², Diogo R. Lara¹

¹ Departamento de Biologia Celular e Molecular, Faculdade de Biociências, PUCRS, Porto Alegre, Brazil

² Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS, Porto Alegre, Brazil

Corresponding author:

Diogo R. Lara, M.D., Ph.D.

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Av. Ipiranga, 6681 – Pd 12

Porto Alegre – RS – Brazil

90619-900

Fone: 55 51 33203545

Fax: 55 51 33203612

E-mail: drlara@pucrs.br

ABSTRACT

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is an endogenous protein involved in neuronal survival and synaptic plasticity of the central and peripheral nervous system (CNS and PNS) that has been studied in pathological situations, including chronic pain conditions and major depression. BDNF appears to modulate nociceptive sensory inputs and pain hypersensitivity. Serum BDNF levels have been recently suggested to be involved in fibromyalgia (FM). In the present study, we assessed serum BDNF levels in 30 female patients with FM and 30 healthy age- and gender-matched volunteers using an enzyme immunoassay. FM patients showed numerically higher levels of BDNF (FM= 167.1 ± 171.2 ng/ml) when compared with the control group (control= 113.8 ± 149.6 ng/ml), close to the limit of statistical significance ($p=0.056$; Mann-Whitney test). However, only 6 out of 30 controls presented superior values to the medium (15/15) of the patients with fibromyalgia (129 ng/ml) ($p = 0.029$, Fisher exact test). There was no correlation between serum BDNF levels and age, disease duration, pain score, number of pain points and HAM-D score. There was no significant difference in BDNF levels regarding current antidepressant treatment. Our results confirm previous findings of increased serum BDNF levels in patients with FM, suggesting that BDNF may be involved in the pathophysiology of Fibromyalgia, despite high levels of depression.

Keywords: BDNF, fibromyalgia, pain, depression, antidepressant.

Introduction

Fibromyalgia syndrome (FM) affects at least 2% of the adult population, females being significantly more often affected than males. Prevalence rates in some regions have not been ascertained and may be influenced by differences in cultural norms regarding the definition and attribution of chronic pain states (Gran, 2003; Mease, 2005a; Mease, 2005b).

FM is a common condition with a complex clinical pattern of unknown origin, consisting of diffuse musculoskeletal pain and muscle tenderness, accompanied by sleep disturbance, fatigue, anxiety and by other clinical manifestations such as depression, gastrointestinal symptoms and headache (Arnold et al., 2005; de Gier et al., 2003; Julien et al., 2005).

In clinical trials and observational research studies, fibromyalgia is usually diagnosed by application of the American College of Rheumatology (ACR) criteria. These criteria require the concurrent presence of widespread pain of at least 3 months' duration and tenderness on palpation in at least 11 of 18 tender points sites, which are characterized by decreased pressure-pain thresholds that result in hyperalgesia or allodynia (Katz et al., 2006; Montoya et al., 2004; Palomino et al., 2007).

Neuroplasticity and subsequent central nervous system (CNS) sensitization include altered function of chemical, electrophysiological and pharmacological systems. These changes cause exaggerated perception of painful stimuli (hyperalgesia), a

perception of innocuous stimuli as painful (allodynia) and may be involved in the generation of referred pain and hyperalgesia across multiple spinal segments (Meeus and Nijs, 2007). Several biochemical abnormalities that may contribute to this scenario have been reported in the cerebrospinal fluid of FM patients, including low concentrations of the metabolites of serotonin (5HT) and noradrenaline (NA), high concentrations of substance P and of nerve growth factors suggest a pathogenesis of central origin (Julien et al., 2005; Schwarz et al., 1999).

Some studies have identified the pain thresholds in FM vary according to emotional contexts and it is frequently comorbid with psychiatric disorders such as major depression, dysthymia, anxiety and somatoform disorders (Kassam and Patten, 2006; Laske et al., 2007). In fact, existing data suggest that the influence of psychological variables such as depression, pain, and fatigue must be considered as factor contributing to neuropsychological presentation in FM (Suhr, 2003).

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) enhances the growth and maintenance of several neuronal systems, and may be a neurotransmitter modulator. BDNF also acts as a regulator of neuronal excitability and modulator of synaptic plasticity in the CNS. BDNF is transported anterogradely to the central terminals of sensory neurons in the dorsal horn and the released BDNF binds to trkB receptors. Current evidence suggest that BDNF modulates both pre- and postsynaptic mechanisms (Malcangio and Lessman, 2003; Shimizu et al., 2003; Wu et al., 2004a; Wu et al., 2004b; Zhao et al., 2005).

Recently, the role of BDNF in pain states has received more attention as a neuromediator of hyperalgesia and spinal central sensitization (Delafoy et al., 2006; Duric and McCarson, 2006a; Duric and Mc Carson, 2006b; Groth and Aanonsen, 2002). Increased release of BDNF has been reported in animal models of neuropathic pain by sciatic nerve transection (Tsai et al., 2003a; Tsai et al., 2003b; Tsai, 2005a; Tsai, 2005b). Moreover, BDNF induced hyperalgesia is dependent on an NMDA receptor-mediated mechanism (Allen et al., 2004).

There is growing evidence indicating that BDNF also play a crucial role in major depressive disorder (MDD) (Yoshimura et al., 2007) and bipolar disorder (BD) (Hashimoto et al., 2004). Aydemir et al. (2005) have reported that serum BDNF levels are lower in depressed patients and Karege et al. (2002) have also shown lower BDNF levels in drug-free depressed patients. Moreover, Shimizu et al. (2003) reported that antidepressant treatment increased the levels of serum BDNF in depressed patients and, from findings in animal and human studies, it seems that antidepressant treatments could increase central as well as peripheral BDNF levels (Piccinni et al., 2007; Tsai et al., 2003a; Tsai et al., 2003b; Tsai, 2005a; Tsai, 2005b).

Recent results have shown that patients with FM have increased levels of BDNF in serum and cerebrospinal fluid (Laske et al., 2007; Sarchielli et al., 2007). In this study, our aim was to investigate serum BDNF levels in patients with FM in comparison with a strictly matched control group.

Materials and Methods

Subjects

Patients with FM ($n = 30$, all female, age 46.3 ± 9.3 years) were recruited from the Physical Therapy Clinic of Feevale University. Diagnosis of FM was made according to the American College of Rheumatology (ACR) Criteria (Wolfe, 1990a; Wolfe and Cathey, 1990b; Wolfe et al., 1990c). The variables evaluated in the patients group were: illness duration, pain intensity measured with the Visual Analogue Scale (VAS) from (no pain) to 10 (worst imaginable pain), number of tender points, a careful exploration of the medications history, severity of depressive symptoms assessed with the Hamilton Rating Scale for Depression (HDRS) (Hamilton, 1960). Exclusion criteria were: a) neurologic illness; b) psychotic or other serious psychiatric conditions; c) low cognitive performance; d) pregnancy. Healthy subjects were matched ($n = 30$, all female, age 46.3 ± 9.3 years) and selected through an interview including a medical history. Exclusion criteria were: a) past or current chronic physical or mental diseases; b) regular medication intake; c) pregnancy; d) chronic pain. The study was approved by the Institutional Review Board and written informed consent was obtained from each individual.

Measurement of serum BDNF concentration

Peripheral venous blood samples (10 ml) were collected in anticoagulant tubes using vacutainer system from all patients and controls between 10:00 – 12:00 AM and kept at 4° C during no more than 2 hours. To minimize the source of platelets,

we centrifuged the serum for 2000g for 15 minutes and stored it at – 18° C until further analysis. Serum levels of BDNF were measured using enzyme immunoassay – the commercial available BDNF immunoassay system kit (Chemikine by Chemicon, Temecula, CA, USA). All samples and standards were measured in duplicates and the coefficient of variation was less than 5%.

Statistical analysis

For comparisons of BDNF levels between the FM patients and control group two-tailed Mann-Whitney *U*-test was used given the non-symmetric distribution of the data. Fisher exact test was used to evaluate the frequency of BDNF values in relation to the median of FM patients. The correlation analysis between BDNF levels and demographic characteristics of patients were analyzed by means of Spearman's correlation coefficient. To compare the three groups according to antidepressant treatment, a nonparametric Kruskal-Wallis analysis was used. Significance for the results was set as $p < 0.05$. The statistic package SPSS 15.0 was used.

Results

Thirty female patients with FM and thirty female healthy volunteers matched for age were include (46.3 ± 9.3 years for both groups). In the FM group, illness

duration was 6.3 ± 5.7 years, pain scores (0-10) were 8.1 ± 1.6 , number of tender points (maximum 18) was 16.6 ± 2.3 and Hamilton-D score mean 30.4 ± 9.1 . These results indicate that this group is severely ill both in terms of pain and depressive symptoms.

As shown in Figure 1, serum BDNF concentration in FM patients were numerically higher than the control group, close statistical significance (FM patients = 167.1 ± 171.2 ng/ml and healthy controls = 113.8 ± 149.6 ng/ml; $p=0.056$, Mann-Whitney test).

In a secondary analysis, however, we observed that only 6 of 30 healthy controls showed values higher than the median (15/15) of FM patients (129ng/ml) ($p=0.029$, two-tailed Fisher exact test).

We found no significant correlation between serum BDNF levels and age ($r=-0.07$, $p=0.71$), illness duration ($r=-0.05$, $p=0.79$), pain intensity by the VAS ($r=-0.12$, $p=0.50$), number of tender points ($r=-0.02$, $p=0.89$) or HAM-D score ($r=-0.14$, $p=0.44$).

In order to evaluate the role of antidepressants treatments, we stratified patients in 3 groups: 1) antidepressant-naïve group ($n=6$); 2) FM patients receiving low or only analgesic doses of tricyclic antidepressants (≤ 50 mg – $n=9$); 3) patients with antidepressants at therapeutic doses for depression (amitriptyline ≥ 75 mg, fluoxetine ≥ 20 mg or equivalent – $n=15$). As shown in Figure 2, there were no significant differences in BDNF levels between these three groups (group 1 = 130.4 ± 106.2 ; group 2 = 146.6 ± 137.9 ; group 3 = 194.0 ± 210.3 , $p=0.81$, Kruskal Wallis test).

Discussion

In the present study, serum BDNF levels were increased in FM patients as compared to age- and gender matched healthy control. This findings are in line with recent evidence in serum and CSD of FM patients (Laske et al., 2007; Sarchielli et al., 2007). Serum BDNF levels were not correlated to the demographic data or FM clinical features such as age, gender, time of diagnosis, pain scores, number of tender points and levels of depressive symptoms.

Laske et al. (2007) were the first to investigate the concentration of BDNF serum of 41 patients with FM compared to a control group with 45 subjects. BDNF serum levels found in patients with FM (19.6 ng/ml) were significantly increased when compared to the control group (16.8 ng/ml), but BDNF levels were independent of age, gender, illness duration, preexisting recurrent major depression and treatment with low doses of antidepressants. Sarchielli et al. (2007) measured BDNF levels in cerebrospinal fluid in three groups of subjects: 20 patients with FM, 20 with chronic migraine and 20 age-matched control subjects. BDNF values were significantly increased in patients with FM (40.4 ± 4.6 pg/mL), and in with chronic migraine (39.4 ± 6.7 pg/mL) when compared to controls (11.3 ± 3.4 pg/mL). No correlation was found between BDNF levels and pain intensity and number of tender points examined in the migraine and FM groups. However, BDNF levels were significantly correlated with the duration of chronic headache and the duration of chronic pain in

both groups. Thus, in general, our data are in agreement with these recent findings from the literature.

BDNF and depression

In this study we found the mean score of Hamilton-D scale of 30.4 ± 9.1 in patients with FM, which indicates that this group is severely depressed, despite treatment with antidepressants, with no significant correlation with serum BDNF levels. Shimizu et al. (2003) in a first report showed that the serum BDNF levels in patients with depressive symptoms without treatment were significantly lower in relation to treated patients and the control group. Their results also indicated a significant negative correlation between HAM-D scores and serum BDNF levels. Low expression of BDNF levels are observed in cellular and molecular processes contributing to the development of chronic depression and in animal subjected to stress (Bremner et al., 2000; Duric and McCaaron, 2006a; Duric and McCaaron, 2006b; Karege et al., 2002; Sheline, 2000). Lower serum BDNF levels were also associated with a reduction in striatal and hippocampal volume in patients with major depression when compared to normal controls (Haynes et al., 2004; Tsai et al., 2003a; Tsai et al., 2003b; Tsai, 2005a; Tsai and Liao, 2005b). In addition, infusion of BDNF into the brain produced antidepressant effects in behavioral models of depression (Shimizu et al., 2003). Studies in humans suggest that low levels of serum BDNF in depression could be restored by the use of antidepressants (Tsai, 2005a). Thus, it is interesting to note that the levels of BDNF in our patients with FM were increased despite the high level of depressive

symptoms and stress. Laske et al. (2007) compared FM patients with and without major depression and found that BDNF levels were not significantly different between the two groups and the concentration of BDNF in patients with FM was independent of the pre-existence of major depression.

BDNF and antidepressant treatments

Our results showed no relationship between the use of antidepressants and serum BDNF levels. Similarly, no significant differences were found in the concentration of BDNF in patients with FM in the groups with and without treatment with antidepressants in low doses (Laske et al., 2007). Nibuya et al. (1995) were the first to show that chronic administration of various types of antidepressants, including serotonin selective inhibitors, increased BDNF expression in the hippocampus. The therapeutic effects of antidepressant drugs have been attributed to increases in proliferation of neuronal progenitor cells through mechanisms involving up-regulation of hippocampal BDNF levels (Duric and McCarson, 2006a; Duric and McCarson 2006b; Lee et al., 2002; Sairanen et al., 2005). Shimizu et al. (2003), Chen et al. (2001a) and Chen et al. (2001b) also observed an increase in serum BDNF concentrations of patients after antidepressant treatment. Additionally, chronic administration of antidepressants regulated neurogenesis and reverse the effects caused by stress on the hippocampus (Angelucci et al., 2004; Duric and McCarson, 2006a; Duric and McCarson, 2006b; McCarson et al., 2006; Piccinni et al., 2007; Tsai, 2005a). Thus, we can not totally exclude the hypothesis that serum BDNF levels in some of our FM patients were not affected by chronic use of antidepressants.

BDNF and Pain

The expression of serum BDNF levels is known for its importance in synaptic plasticity and its action as a neuromodulator in the dorsal horn of the spinal cord has been proposed in various models of pain, including peripheral inflammation, axotomia, nerve damage and neuropathic pain (Pezet et al., 2002a; Pezet et al., 2002b; Zhao et al., 2005). In our study, serum BDNF levels in patients with FM was unrelated to pain intensity and number of tender points. Laske et al. (2007) hypothesized that BDNF levels may be related to many mechanisms of modulation of pain involving the perception of pain and its association with emotional phenomena. The authors suggest that the increase in serum BDNF in the group of patients with FM have involvement in the pathophysiology of pain in FM.

As Sarchielli et al. (2007) found significantly higher levels of BDNF in a cerebrospinal fluid of a group of patients with migraine and a group with FM, and a significant correlation with the duration of chronic pain, their interpretation is that chronic pain conditions can induce anatomical, neurochemical and functional changes of the sensory nervous system. However, they found correlation of BDNF levels with pain scores or intensity of pain.

A positive characteristic of the current study was a strictly matched control group in regard to age and gender. However, the existence of higher levels of depression, as well as the variability in pharmacological treatments, in particular antidepressants, are some limitations that should be mentioned. Thus, stratification

of the data, as in the case of antidepressant use, significantly reduces statistical power.

In summary, we have confirmed previous findings of higher serum BDNF in FM, suggesting that BDNF is involved in the pathophysiology of abnormal pain syndromes. This suggests that the mechanisms related to pain are more relevant for BDNF levels than depression and stress, and that depression is possible in a scenario of high BDNF levels. However, the precise role of BDNF in the pathophysiology of FM and its connections with depression and use of antidepressants should be further investigated.

References

- Allen SJ, DDCrotrnatrCSL-, Angelucci F, MA, Aloe L. Neurotrophic factors and CNS disorders: findings in rodent models of depression and schizophrenia. *Prog Brain Res* 2004; 146:151-65.,
- Angelucci F, Mathe AA, Aloe L. Neurotrophic factors and CNS disorders: findings in rodent models of depression and schizophrenia. *Prog Brain Res* 2004; 146:151-65.
- Arnold LM, Rosen A, Pritchett YL. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of duloxetine in the treatment of women with fibromyalgia with or without major depressive disorder. *Pain* 2005; 119 (1-3):5-15.
- Aydemir O, Deveci A, Taneli F. The effect of chronic antidepressant treatment on serum brain-derived neurotrophic factor levels in depressed patients: a preliminary study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29 (2):261-5.
- Bremner JD, Narayan M, Anderson ER. Hippocampal volume reduction in major depression. *Am J Psychiatry* 2000; 157 (1):115-8.
- Chen AC, Shirayama Y, Shin KH. Expression of the cAMP response element binding protein (CREB) in hippocampus produces an antidepressant effect. *Biol Psychiatry* 2001; 49 (9):753-62.
- Chen B, Dowlatshahi D, MacQueen GM. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biol Psychiatry* 2001; 50 (4):260-5.
- de Gier M, Peters ML, Vlaeyen JW. Fear of pain, physical performance, and attentional processes in patients with fibromyalgia. *Pain* 2003; 104 (1-2):121-30.
- Delafooy L, Gelot A, Ardid D. Interactive involvement of brain derived neurotrophic factor, nerve growth factor, and calcitonin gene related peptide in colonic hypersensitivity in the rat. *Gut* 2006; 55 (7):940-5.
- Duric V, McCarson KE. Effects of analgesic or antidepressant drugs on pain- or stress-evoked hippocampal and spinal neurokinin-1 receptor and brain-derived neurotrophic factor gene expression in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 319 (3):1235-43.
- Duric V, McCarson KE. Persistent pain produces stress-like alterations in hippocampal neurogenesis and gene expression. *J Pain* 2006; 7 (8):544-55.
- Gran JT. The epidemiology of chronic generalized musculoskeletal pain. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2003; 17 (4):547-61.
- Groth R, Aanonsen L. Spinal brain-derived neurotrophic factor (BDNF) produces hyperalgesia in normal mice while antisense directed against either BDNF or trkB, prevent inflammation-induced hyperalgesia. *Pain* 2002; 100 (1-2):171-81.
- Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1960; 23:56-62.
- Hashimoto K, Shimizu E, Iyo M. Critical role of brain-derived neurotrophic factor in mood disorders. *Brain Res Brain Res Rev* 2004; 45 (2):104-14.
- Haynes PL, McQuaid JR, Kelsoe J. Affective state and EEG sleep profile in response to rapid tryptophan depletion in recently recovered nonmedicated depressed individuals. *J Affect Disord* 2004; 83 (2-3):253-62.
- Julien N, Goffaux P, Arsenault P. Widespread pain in fibromyalgia is related to a deficit of endogenous pain inhibition. *Pain* 2005; 114 (1-2):295-302.

- Karege F, Perret G, Bondolfi G. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Res* 2002; 109 (2):143-8.
- Kassam A, Patten SB. Major depression, fibromyalgia and labour force participation: a population-based cross-sectional study. *BMC Musculoskelet Disord* 2006; 7:4.
- Katz RS, Wolfe F, Michaud K. Fibromyalgia diagnosis: a comparison of clinical, survey, and American College of Rheumatology criteria. *Arthritis Rheum* 2006; 54 (1):169-76.
- Laske C, Stransky E, Eschweiler GW. Increased BDNF serum concentration in fibromyalgia with or without depression or antidepressants. *J Psychiatr Res* 2007; 41 (7):600-5.
- Lee J, Duan W, Mattson MP. Evidence that brain-derived neurotrophic factor is required for basal neurogenesis and mediates, in part, the enhancement of neurogenesis by dietary restriction in the hippocampus of adult mice. *J Neurochem* 2002; 82 (6):1367-75.
- Malcangio M, Lessmann V. A common thread for pain and memory synapses? Brain-derived neurotrophic factor and trkB receptors. *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24 (3):116-21.
- McCarson KE, Duric V, Reisman SA. GABA(B) receptor function and subunit expression in the rat spinal cord as indicators of stress and the antinociceptive response to antidepressants. *Brain Res* 2006; 1068 (1):109-17.
- Mease P. Fibromyalgia syndrome: review of clinical presentation, pathogenesis, outcome measures, and treatment. *J Rheumatol Suppl* 2005a; 75:6-21.
- Mease PJ, Clauw DJ, Arnold LM. Fibromyalgia syndrome. *J Rheumatol* 2005b; 32 (11):2270-7.
- Meeus M, Nijs J. Central sensitization: a biopsychosocial explanation for chronic widespread pain in patients with fibromyalgia and chronic fatigue syndrome. *Clin Rheumatol* 2007; 26 (4):465-73.
- Montoya P, Larbig W, Braun C. Influence of social support and emotional context on pain processing and magnetic brain responses in fibromyalgia. *Arthritis Rheum* 2004; 50 (12):4035-44.
- Nibuya M, Morinobu S, Duman RS. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. *J Neurosci* 1995; 15 (11):7539-47.
- Palomino RA, Nicassio PM, Greenberg MA. Helplessness and loss as mediators between pain and depressive symptoms in fibromyalgia. *Pain* 2007; 129 (1-2):185-94.
- Pezet S, Cunningham J, Patel J. BDNF modulates sensory neuron synaptic activity by a facilitation of GABA transmission in the dorsal horn. *Mol Cell Neurosci* 2002; 21 (1):51-62.
- Pezet S, Malcangio M, Lever IJ. Noxious stimulation induces Trk receptor and downstream ERK phosphorylation in spinal dorsal horn. *Mol Cell Neurosci* 2002; 21 (4):684-95.
- Piccinni A, Marazziti D, Catena M. Plasma and serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients during 1 year of antidepressant treatments. *J Affect Disord* 2007.
- Sairanen M, Lucas G, Ernfors P. Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant drugs have different but coordinated effects on neuronal turnover, proliferation, and survival in the adult dentate gyrus. *J Neurosci* 2005; 25 (5):1089-94.
- Sarchielli P, Mancini ML, Floridi A, Coppola F, Rossi C, Nardi K, Acciarresi M, Pini LA, Calabresi P. Increased levels of neurotrophins are not specific for chronic migraine: evidence from primary fibromyalgia syndrome. *J Pain* 2007; 8(9):737-45.

- Schwarz MJ, Spath M, Muller-Bardorff H. Relationship of substance P, 5-hydroxyindole acetic acid and tryptophan in serum of fibromyalgia patients. *Neurosci Lett* 1999; 259 (3):196-8.
- Sheline YI. 3D MRI studies of neuroanatomic changes in unipolar major depression: the role of stress and medical comorbidity. *Biol Psychiatry* 2000; 48 (8):791-800.
- Shimizu E, Hashimoto K, Watanabe H. Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in schizophrenia are indistinguishable from controls. *Neurosci Lett* 2003; 351 (2):111-4.
- Suhr JA. Neuropsychological impairment in fibromyalgia: relation to depression, fatigue, and pain. *J Psychosom Res* 2003; 55 (4):321-9.
- Tsai JL, Pole N, Levenson RW. The effects of depression on the emotional responses of Spanish-speaking Latinas. *Cultur Divers Ethnic Minor Psychol* 2003a; 9 (1):49-63.
- Tsai PF, Tak S, Moore C. Testing a theory of chronic pain. *J Adv Nurs* 2003b; 43 (2):158-69.
- Tsai SJ. Possible involvement of brain-derived neurotrophic factor in the antinociceptive effect of antidepressants in neuropathic pain. *Med Hypotheses* 2005a; 65 (3):530-3.
- Tsai SJ, Liao DL. A study of the association of (Val66Met) polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene with alcohol dependence and extreme violence in Chinese males. *Neurosci Lett* 2005b; 381 (3):340-3.
- Wolfe F. Fibromyalgia. *Rheum Dis Clin North Am* 1990a; 16 (3):681-98.
- Wolfe F, Cathey MA. Assessment of functional ability in patients with fibromyalgia. *Arch Intern Med* 1990b; 150 (2):460.
- Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB. The American College of Rheumatology 1990 Criteria for the Classification of Fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee. *Arthritis Rheum* 1990c; 33 (2):160-72.
- Wu K, Len GW, McAuliffe G. Brain-derived neurotrophic factor acutely enhances tyrosine phosphorylation of the AMPA receptor subunit GluR1 via NMDA receptor-dependent mechanisms. *Brain Res Mol Brain Res* 2004a; 130 (1-2):178-86.
- Wu YJ, Kruttgen A, Moller JC, Len G, McAuliffe G, Ma C, Tai J P, Xu F. Nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, and neurotrophin-3 are sorted to dense-core vesicles and released via the regulated pathway in primary rat cortical neurons. *J Neurosci Res* 2004b; 75 (6):825-34.
- Yoshimura R, Mitoma M, Sugita A, Hori H, Okamoto T, Umene W, Ueda N, Makamura J. Effects of paroxetine or milnacipran on serum brain-derived neurotrophic factor in depressed patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007; 31 (5):1034-7.
- Zhao LY, Ye TH, Zhang YZ, Zhao H. Combination of morphine with low-dose naloxone for intravenous patient-controlled analgesia. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 2005; 27 (2):228-31.

Legend to Figures

Figure 1 – Serum BDNF levels in patients with Fibromyalgia (167.1 ± 171.2 ng/ml) and control group (113.8 ± 149.6 ng/ml; $p=0.056$ Mann Whitney test). In the control group only (6/30) showed higher values than the median (15/15) levels of FM patients (129 ng/ml) ($p=0.029$, two-tailed Fisher exact test).....41

Figure 2 – The group of patients with Fibromyalgia was stratified in 3 groups: 1) antidepressant-free group ($n=6$) (no ADP); 2) FM patients receiving analgesic doses of tricyclic antidepressants (≤ 50 mg/day, $n=9$) (low ADP); 3) patients with antidepressant doses ($n=15$) (high ADP). There were no significant differences in BDNF levels between the three groups (BDNF group 1 = 130.4 ± 106.2 ; group 2 = 146.6 ± 137.9 ; group 3 = 194.0 ± 210.3 , $p=0.81$, Kruskal Wallis test) 41

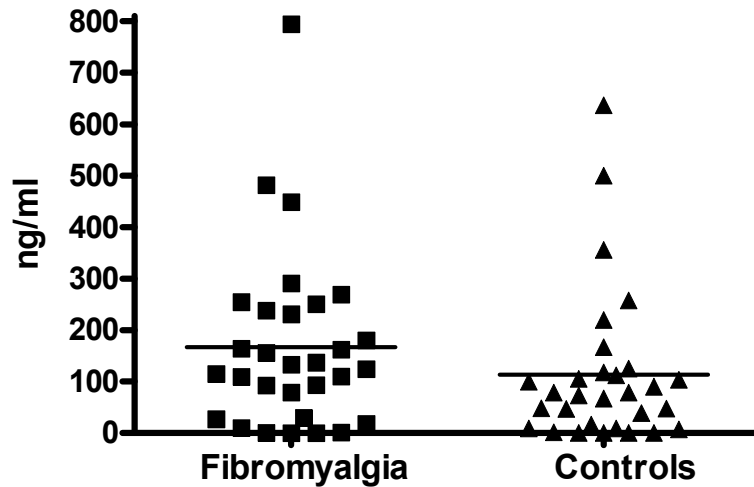


Figure 1 – Serum BDNF levels in patients with Fibromyalgia (167.1 ± 171.2 ng/ml) and control group (113.8 ± 149.6 ng/ml; $p=0.056$ Mann Whitney test). In the control group only (6/30) showed higher values to the median (15/15) levels of FM patients (129 ng/ml) ($p=0.029$, two-tailed Fisher exact test).

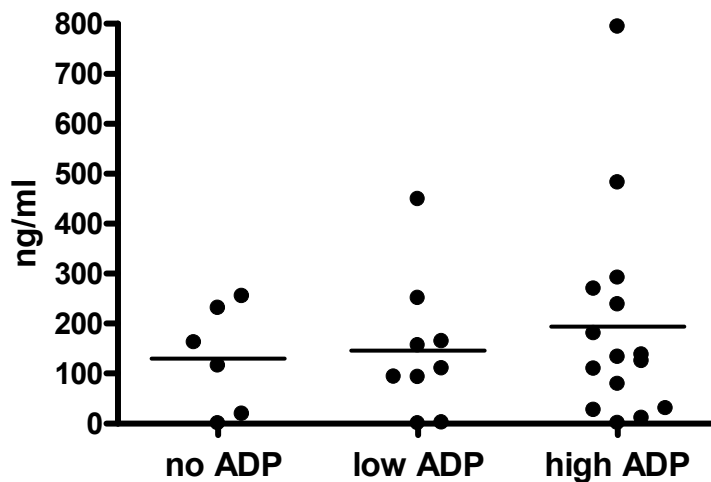


Figure 2 – The group of patients with Fibromyalgia was stratified in 3 groups: 1) antidepressant-naïve group ($n=6$) (no ADP); 2) FM patients receiving analgesic doses of tricyclic antidepressants

(≤ 50 mg/day, n=9) (low ADP); 3) patients with antidepressant doses (n=15) (high ADP). There were no significant differences in BDNF levels between the three groups (BDNF group 1 = 130.4 ± 106.2 ; group 2 = 146.6 ± 137.9 ; group 3 = 194.0 ± 210.3 , $p=0.81$, Kruskal Wallis test).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo teve como proposta a investigação dos níveis séricos do BDNF em 30 pacientes com fibromialgia e 30 indivíduos saudáveis como grupo controle. Encontramos um aumento nos níveis de BDNF nas pacientes com fibromialgia em comparação com o grupo controle. As características positivas do estudo compreendem um grupo homogêneo de pacientes com FM pareados por sexo e idade e uma amostra com um número razoável de pacientes. Entretanto, a existência de níveis elevados de depressão, bem como a variabilidade e a presença de vários tratamentos farmacológicos, particularmente de antidepressivos, são limitações que devem ser levados em conta. O presente tamanho da amostra não nos permitiu maiores estratificações sem perder poder estatístico.

Não houve correlação estatística significativa dos níveis de BDNF com os dados demográficos e os padrões clínicos da FM relacionados à idade, sexo, ao tempo de diagnóstico, ao escore da escala de dor, ao número de pontos dolorosos e aos níveis elevados de depressão. Laske et al. (2007) foram os primeiros a investigar a concentração do BDNF no soro de 41 pacientes com FM comparados ao um grupo controle com 45 indivíduos. Os níveis encontrados nos pacientes com FM (19.6 ng/ml) estavam significativamente aumentados quando comparados ao grupo controle (16,8 ng/ml), porém sem relação dos valores do BDNF

relacionados à idade, sexo, duração da doença, pré-existência de depressão maior e ao tratamento com baixas doses de antidepressivos.

Sarchielli *et al.* (2007) mensuraram os níveis do BDNF no líquido de três grupos de 20 indivíduos com 1) FM primária, 2) enxaqueca e 3) grupo controle. Os valores do BDNF estavam significativamente elevados nos pacientes com FM (40.4 ± 4.6), assim como nos com enxaqueca (39.4 ± 6.7), quando comparados ao controle (11.3 ± 3.4). Não foram encontradas diferenças estatísticas dos níveis do BDNF quando relacionadas à intensidade da dor, ao limiar da dor e ao número dos pontos dolorosos examinados nos grupos com enxaqueca e FM. Entretanto, os valores dos níveis do BDNF foram significativamente correlacionados com o tempo do diagnóstico e a presença da dor crônica em ambos os grupos. Portanto, de modo geral, nossos dados estão de acordo com esses achados recentes da literatura, e em conjunto, vão contra a nossa hipótese inicial de redução de BDNF em pacientes com FM

Apesar da DM estar associada a baixos níveis de BDNF, é interessante notar que os níveis de BDNF nos nossos pacientes com FM estavam aumentados apesar do elevado grau de sintomas depressivos e do presumível grau de estresse desses pacientes.

Nossos resultados não apontaram uma relação entre o uso de antidepressivos e os níveis do BDNF. Da mesma forma, não foram encontrados diferenças significativas da concentração do BDNF em pacientes com FM nos grupos com e sem tratamento com antidepressivos em baixas doses (Laske, *et al.*, 2007).

CONCLUSÕES

O aumento dos níveis séricos do BDNF em pacientes com FM encontrados no nosso estudo comparados a um grupo controle corroboram os achados de dois estudos recentes que identificaram aumento dos níveis do BDNF em pacientes com FM. Esse fato sugere que o estímulo doloroso é mais forte estimulador do BDNF do que a inibição da expressão do BDNF na depressão.

Os antidepressivos têm ação analgésica e emocional nesses pacientes, apesar de se saber que promovem aumento de BDNF, o que é um paradoxo tendo em conta os níveis aumentados de BDNF na FM. Outro fato contraditório é de que esses pacientes apresentam estados depressivos graves apesar de altos níveis séricos e líquidos de BDNF. O aumento da expressão do BDNF pelo uso crônico de antidepressivo pode sobrepor os níveis do BDNF em pacientes com FM em função do constante quadro álgico. No entanto, não sabemos sobre os níveis de BDNF no cérebro desses pacientes. Esses paradoxos só poderão ser entendidos com mais estudos na área.

REFERÊNCIAS

Allen SJ, Dawbarn D. Clinical relevance of the neurotrophins and their receptors. *Clin Sci (Lond)* 2006;110(2):175-91.

Angelucci F, Mathe AA, Aloe L. Neurotrophic factors and CNS disorders: findings in rodent models of depression and schizophrenia. *Prog Brain Res* 2004;146:151-65.

Arnold LM, Rosen A, Pritchett YL, D'Souza DN, Goldstein DJ, Iyengar S, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of duloxetine in the treatment of women with fibromyalgia with or without major depressive disorder. *Pain* 2005;119(1-3):5-15.

Aydemir O, Deveci A, Taneli F. The effect of chronic antidepressant treatment on serum brain-derived neurotrophic factor levels in depressed patients: a preliminary study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005;29(2):261-

Baker K, Barkhuizen A. Pharmacologic treatment of fibromyalgia. *Curr Pain Headache Rep* 2005;9(5):301-6.

Berber, J. S., Kupek, E., Berber, S., 2005. Prevalence of Depression and its Relationship with Quality of Life in Patients with Fibromyalgia Syndrome. *Rev Bras Reumatol.* 45, 47-54.

Bernatsky, S., Dobkin, P. L., De Civita, M. and Penrod, J. R., 2005. Comorbidity and physician use in fibromyalgia. *Swiss Med Wkly.* 135, 76-81.

Bimonte HA, Nelson ME, Granholm AC. Age-related deficits as working memory load increases: relationships with growth factors. *Neurobiol Aging* 2003;24(1):37-48.

Bremner JD, Narayan M, Anderson ER, Staib LH, Miller HL, Charney DS. Hippocampal volume reduction in major depression. *Am J Psychiatry* 2000;157(1):115-8.

Chen AC, Shirayama Y, Shin KH, Neve RL, Duman RS. Expression of the cAMP response element binding protein (CREB) in hippocampus produces an antidepressant effect. *Biol Psychiatry* 2001;49(9):753-62.

Chen B, Dowlatshahi D, MacQueen GM, Wang JF, Young LT. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biol Psychiatry* 2001;50(4):260-5.

de Gier M, Peters ML, Vlaeyen JW. Fear of pain, physical performance, and attentional processes in patients with fibromyalgia. *Pain* 2003;104(1-2):121-30.

Delafroy L, Gelot A, Ardid D, Eschalier A, Bertrand C, Doherty AM, et al. Interactive involvement of brain derived neurotrophic factor, nerve growth factor, and calcitonin gene related peptide in colonic hypersensitivity in the rat. *Gut* 2006;55(7):940-5.

Dias BG, Banerjee SB, Duman RS, Vaidya VA. Differential regulation of brain derived neurotrophic factor transcripts by antidepressant treatments in the adult rat brain. *Neuropharmacology* 2003;45(4):553-63.

Djoughri L, Dawbarn D, Robertson A, Newton R, Lawson SN. Time course and nerve growth factor dependence of inflammation-induced alterations in electrophysiological membrane properties in nociceptive primary afferent neurons. *J Neurosci* 2001;21(22):8722-33.

Duman RS. Depression: a case of neuronal life and death? *Biol Psychiatry* 2004;56(3):140-5.

Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry* 2006;59(12):1116-27.

Duric V, McCarson KE. Hippocampal neurokinin-1 receptor and brain-derived neurotrophic factor gene expression is decreased in rat models of pain and stress. *Neuroscience* 2005;133(4):999-1006.

Duric V, McCarson KE. Effects of analgesic or antidepressant drugs on pain- or stress-evoked hippocampal and spinal neurokinin-1 receptor and brain-derived neurotrophic factor gene expression in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;319(3):1235-43.

Duric V, McCarson KE. Persistent pain produces stress-like alterations in hippocampal neurogenesis and gene expression. *J Pain* 2006;7(8):544-55.

Ehlert U, Gaab J, Heinrichs M. Psychoneuroendocrinological contributions to the etiology of depression, posttraumatic stress disorder, and stress-related bodily disorders: the role of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Biol Psychol* 2001;57(1-3):141-52.

Ernberg M, Lundeberg T, Kopp S. Effects on muscle pain by intramuscular injection of granisetron in patients with fibromyalgia. *Pain* 2003;101(3):275-82.

Ernfors P, Ibanez CF, Ebendal T, Olson L, Persson H. Molecular cloning and neurotrophic activities of a protein with structural similarities to nerve growth factor: developmental and topographical expression in the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87(14):5454-8.

Ferreira J, Triches KM, Medeiros R, Calixto JB. Mechanisms involved in the nociception produced by peripheral protein kinase c activation in mice. *Pain* 2005;117(1-2):171-81.

Filus JF, Rybakowski J. [Neurotrophic factors and their role in the pathogenesis of affective disorders]. *Psychiatr Pol* 2005;39(5):883-97.

Fishbain DA, Cutler R, Rosomoff HL, Rosomoff RS. Chronic pain-associated depression: antecedent or consequence of chronic pain? A review. *Clin J Pain* 1997;13(2):116-37.

Fukuoka T, Kondo E, Dai Y, Hashimoto N, Noguchi K. Brain-derived neurotrophic factor increases in the uninjured dorsal root ganglion neurons in selective spinal nerve ligation model. *J Neurosci* 2001;21(13):4891-900.

Garraway SM, Petruska JC, Mendell LM. BDNF sensitizes the response of lamina II neurons to high threshold primary afferent inputs. *Eur J Neurosci* 2003;18(9):2467-76.

Geisser ME, Casey KL, Brucksch CB, Ribbens CM, Appleton BB, Crofford LJ. Perception of noxious and innocuous heat stimulation among healthy women and women with fibromyalgia: association with mood, somatic focus, and catastrophizing. *Pain* 2003;102(3):243-50.

Gendreau RM, Thorn MD, Gendreau JF, Kranzler JD, Ribeiro S, Gracely RH, et al. Efficacy of milnacipran in patients with fibromyalgia. *J Rheumatol* 2005;32(10):1975-85.

Gran JT. The epidemiology of chronic generalized musculoskeletal pain. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2003;17(4):547-61.

Groth R, Aanonsen L. Spinal brain-derived neurotrophic factor (BDNF) produces hyperalgesia in normal mice while antisense directed against either BDNF or trkB, prevent inflammation-induced hyperalgesia. *Pain* 2002;100(1-2):171-81.

Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1960;23:56-62.

Hashimoto K, Shimizu E, Iyo M. Critical role of brain-derived neurotrophic factor in mood disorders. *Brain Res Brain Res Rev* 2004;45(2):104-14.

Hassett AL, Cone JD, Patella SJ, Sigal LH. The role of catastrophizing in the pain and depression of women with fibromyalgia syndrome. *Arthritis Rheum* 2000;43(11):2493-500.

Haynes PL, McQuaid JR, Kelsoe J, Rapaport M, Gillin JC. Affective state and EEG sleep profile in response to rapid tryptophan depletion in recently recovered nonmedicated depressed individuals. *J Affect Disord* 2004;83(2-3):253-62.

Heppenstall PA, Lewin GR. BDNF but not NT-4 is required for normal flexion reflex plasticity and function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98(14):8107-12.

Horwitz, E. B., Kowalski, J., Theorell, T., Anderberg, U. M., 2005. Dance/movement therapy in fibromyalgia patients: Changes in self-figure drawings and their relation to verbal self-rating scales. *The Arts in Psychotherapy*. 738, 1-15.

Julien N, Goffaux P, Arsenault P, Marchand S. Widespread pain in fibromyalgia is related to a deficit of endogenous pain inhibition. *Pain* 2005;114(1-2):295-302.

Karege F, Perret G, Bondolfi G, Schwald M, Bertschy G, Aubry JM. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Res* 2002;109(2):143-8.

Kassam A, Patten SB. Major depression, fibromyalgia and labour force participation: a population-based cross-sectional study. *BMC Musculoskelet Disord* 2006;7:4.

Katz RS, Wolfe F, Michaud K. Fibromyalgia diagnosis: a comparison of clinical, survey, and American College of Rheumatology criteria. *Arthritis Rheum* 2006;54(1):169-76.

Kerr BJ, Bradbury EJ, Bennett DL, Trivedi PM, Dassan P, French J, et al. Brain-derived neurotrophic factor modulates nociceptive sensory inputs and NMDA-evoked responses in the rat spinal cord. *J Neurosci* 1999;19(12):5138-48.

Kingsley JD, Panton LB, Toole T, Sirithienthad P, Mathis R, McMillan V. The effects of a 12-week strength-training program on strength and functionality in women with fibromyalgia. *Arch Phys Med Rehabil* 2005;86(9):1713-21.

Krell HV, Leuchter AF, Cook IA, Abrams M. Evaluation of reboxetine, a noradrenergic antidepressant, for the treatment of fibromyalgia and chronic low back pain. *Psychosomatics* 2005;46(5):379-84.

Laske C, Stransky E, Eschweiler GW, Klein R, Wittorf A, Leyhe T, et al. Increased BDNF serum concentration in fibromyalgia with or without depression or antidepressants. *J Psychiatr Res* 2007;41(7):600-5.

Lee J, Duan W, Mattson MP. Evidence that brain-derived neurotrophic factor is required for basal neurogenesis and mediates, in part, the enhancement of neurogenesis by dietary restriction in the hippocampus of adult mice. *J Neurochem* 2002;82(6):1367-75.

Lever IJ, Bradbury EJ, Cunningham JR, Adelson DW, Jones MG, McMahon SB, et al. Brain-derived neurotrophic factor is released in the dorsal horn by distinctive patterns of afferent fiber stimulation. *J Neurosci* 2001;21(12):4469-77.

Malcangio M, Lessmann V. A common thread for pain and memory synapses? Brain-derived neurotrophic factor and trkB receptors. *Trends Pharmacol Sci* 2003;24(3):116-21.

Mamounas LA, Blue ME, Siuciak JA, Altar CA. Brain-derived neurotrophic factor promotes the survival and sprouting of serotonergic axons in rat brain. *J Neurosci* 1995;15(12):7929-39.

Mannion RJ, Costigan M, Decosterd I, Amaya F, Ma QP, Holstege JC, et al. Neurotrophins: peripherally and centrally acting modulators of tactile stimulus-induced inflammatory pain hypersensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(16):9385-90.

Martin MY, Bradley LA, Alexander RW, Alarcon GS, Triana-Alexander M, Aaron LA, et al. Coping strategies predict disability in patients with primary fibromyalgia. *Pain* 1996;68(1):45-53.

Mattson MP, Maudsley S, Martin B. BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci* 2004;27(10):589-94.

McCarson KE, Duric V, Reisman SA, Winter M, Enna SJ. GABA(B) receptor function and subunit expression in the rat spinal cord as indicators of stress and the antinociceptive response to antidepressants. *Brain Res* 2006;1068(1):109-17.

Mease PJ, Clauw DJ, Arnold LM, Goldenberg DL, Witter J, Williams DA, et al. Fibromyalgia syndrome. *J Rheumatol* 2005;32(11):2270-7.

Mease P. Fibromyalgia syndrome: review of clinical presentation, pathogenesis, outcome measures, and treatment. *J Rheumatol Suppl* 2005;75:6-21.

Meeus M, Nijs J. Central sensitization: a biopsychosocial explanation for chronic widespread pain in patients with fibromyalgia and chronic fatigue syndrome. *Clin Rheumatol* 2007;26(4):465-73.

Michael GJ, Averill S, Nitkunan A, Rattray M, Bennett DL, Yan Q, et al. Nerve growth factor treatment increases brain-derived neurotrophic factor selectively in TrkA-expressing dorsal root ganglion cells and in their central terminations within the spinal cord. *J Neurosci* 1997;17(21):8476-90.

Montoya P, Larbig W, Braun C, Preissl H, Birbaumer N. Influence of social support and emotional context on pain processing and magnetic brain responses in fibromyalgia. *Arthritis Rheum* 2004;50(12):4035-44.

Narita M, Yajima Y, Aoki T, Ozaki S, Mizoguchi H, Tseng LF, et al. Up-regulation of the TrkB receptor in mice injured by the partial ligation of the sciatic nerve. *Eur J Pharmacol* 2000;401(2):187-90.

Nibuya M, Morinobu S, Duman RS. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. *J Neurosci* 1995;15(11):7539-47.

Obata K, Yamanaka H, Dai Y, Tachibana T, Fukuoka T, Tokunaga A, et al. Differential activation of extracellular signal-regulated protein kinase in primary afferent neurons regulates brain-derived neurotrophic factor expression after peripheral inflammation and nerve injury. *J Neurosci* 2003;23(10):4117-26.

Obata K, Yamanaka H, Fukuoka T, Yi D, Tokunaga A, Hashimoto N, et al. Contribution of injured and uninjured dorsal root ganglion neurons to pain behavior and the changes in gene expression following chronic constriction injury of the sciatic nerve in rats. *Pain* 2003;101(1-2):65-77.

Obata K, Noguchi K. BDNF in sensory neurons and chronic pain. *Neurosci Res* 2006;55(1):1-10.

Obata K, Yamanaka H, Kobayashi K, Dai Y, Mizushima T, Katsura H, et al. The effect of site and type of nerve injury on the expression of brain-derived neurotrophic factor in the dorsal root ganglion and on neuropathic pain behavior. *Neuroscience* 2006;137(3):961-70.

Ochs G, Penn RD, York M, Giess R, Beck M, Tonn J, et al. A phase I/II trial of recombinant methionyl human brain derived neurotrophic factor administered by intrathecal infusion to patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2000;1(3):201-6.

Palomino RA, Nicassio PM, Greenberg MA, Medina EP, Jr. Helplessness and loss as mediators between pain and depressive symptoms in fibromyalgia. *Pain* 2007;129(1-2):185-94.

Pezet S, Malcangio M, Lever IJ, Perkinson MS, Thompson SW, Williams RJ, et al. Noxious stimulation induces Trk receptor and downstream ERK phosphorylation in spinal dorsal horn. *Mol Cell Neurosci* 2002;21(4):684-95.

Pezet S, Cunningham J, Patel J, Grist J, Gavazzi I, Lever IJ, et al. BDNF modulates sensory neuron synaptic activity by a facilitation of GABA transmission in the dorsal horn. *Mol Cell Neurosci* 2002;21(1):51-62.

Pezet S, Spyropoulos A, Williams RJ, McMahon SB. Activity-dependent phosphorylation of Akt/PKB in adult DRG neurons. *Eur J Neurosci* 2005;21(7):1785-97.

Piccinni A, Marazziti D, Catena M, Domenici L, Del Debbio A, Bianchi C, et al. Plasma and serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients during 1 year of antidepressant treatments. *J Affect Disord* 2007.

Raphael KG, Janal MN, Nayak S. Comorbidity of fibromyalgia and posttraumatic stress disorder symptoms in a community sample of women. *Pain Med* 2004;5(1):33-41.

Rudomin P. Presynaptic inhibition of muscle spindle and tendon organ afferents in the mammalian spinal cord. *Trends Neurosci* 1990;13(12):499-505.

Russo-Neustadt A, Ha T, Ramirez R, Kesslak JP. Physical activity-antidepressant treatment combination: impact on brain-derived neurotrophic factor and behavior in an animal model. *Behav Brain Res* 2001;120(1):87-95.

Sairanen M, Lucas G, Ernfors P, Castren M, Castren E. Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant drugs have different but coordinated effects on neuronal turnover, proliferation, and survival in the adult dentate gyrus. *J Neurosci* 2005;25(5):1089-94.

Sarchielli P, Mancini ML, Floridi A, Coppola F, Rossi C, Nardi K, Acciarresi M, Pini LA, Calabresi P. Increased levels of neurotrophins are not specific for chronic migraine: evidence from primary fibromyalgia syndrome. *J Pain* 2007; 8(9):737-45.

Schumacher J, Jamra RA, Becker T, Ohlraun S, Klopp N, Binder EB, et al. Evidence for a relationship between genetic variants at the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) locus and major depression. *Biol Psychiatry* 2005;58(4):307-14.

Schwarz MJ, Spath M, Muller-Bardorff H, Pongratz DE, Bondy B, Ackenheil M. Relationship of substance P, 5-hydroxyindole acetic acid and tryptophan in serum of fibromyalgia patients. *Neurosci Lett* 1999;259(3):196-8.

Sheline YI. 3D MRI studies of neuroanatomic changes in unipolar major depression: the role of stress and medical comorbidity. *Biol Psychiatry* 2000;48(8):791-800.

Shimizu E, Hashimoto K, Watanabe H, Komatsu N, Okamura N, Koike K, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in schizophrenia are indistinguishable from controls. *Neurosci Lett* 2003;351(2):111-4.

Shirayama Y, Chen AC, Nakagawa S, Russell DS, Duman RS. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *J Neurosci* 2002;22(8):3251-61.

Siuciak JA, Lewis DR, Wiegand SJ, Lindsay RM. Antidepressant-like effect of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Pharmacol Biochem Behav* 1997;56(1):131-7.

Sluka KA, Jordan HH, Willis WD, Westlund KN. Differential effects of N-methyl-D-aspartate (NMDA) and non-NMDA receptor antagonists on spinal release of amino acids after development of acute arthritis in rats. *Brain Res* 1994;664(1-2):77-84.

Suhr JA. Neuropsychological impairment in fibromyalgia: relation to depression, fatigue, and pain. *J Psychosom Res* 2003;55(4):321-9.

Szapacs ME, Mathews TA, Tessarollo L, Ernest Lyons W, Mamounas LA, Andrews AM. Exploring the relationship between serotonin and brain-derived neurotrophic factor: analysis of BDNF protein and extraneuronal 5-HT in mice with reduced serotonin transporter or BDNF expression. *J Neurosci Methods* 2004;140(1-2):81-92.

Thompson SW, Bennett DL, Kerr BJ, Bradbury EJ, McMahon SB. Brain-derived neurotrophic factor is an endogenous modulator of nociceptive responses in the spinal cord. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(14):7714-8.

Tsai PF, Tak S, Moore C, Palencia I. Testing a theory of chronic pain. *J Adv Nurs* 2003;43(2):158-69.

Tsai JL, Pole N, Levenson RW, Munoz RF. The effects of depression on the emotional responses of Spanish-speaking Latinas. *Cultur Divers Ethnic Minor Psychol* 2003;9(1):49-63.

Tsai SJ. Possible involvement of brain-derived neurotrophic factor in the antinociceptive effect of antidepressants in neuropathic pain. *Med Hypotheses* 2005;65(3):530-3.

Tsai SJ, Liao DL, Yu YW, Chen TJ, Wu HC, Lin CH, et al. A study of the association of (Val66Met) polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene with alcohol dependence and extreme violence in Chinese males. *Neurosci Lett* 2005;381(3):340-3.

Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res* 2002;53(4):865-71.

Waylonis GW, Heck W. Fibromyalgia syndrome. New associations. *Am J Phys Med Rehabil* 1992;71(6):343-8.

Wolfe F. Fibromyalgia. *Rheum Dis Clin North Am* 1990;16(3):681-98.

Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, Bennett RM, Bombardier C, Goldenberg DL, et al. The American College of Rheumatology 1990 Criteria for the Classification of Fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee. *Arthritis Rheum* 1990;33(2):160-72.

Wolfe F, Cathey MA. Assessment of functional ability in patients with fibromyalgia. *Arch Intern Med* 1990;150(2):460.

Wood PB. Stress and dopamine: implications for the pathophysiology of chronic widespread pain. *Med Hypotheses* 2004;62(3):420-4.

Wu YJ, Kruttgen A, Moller JC, Shine D, Chan JR, Shooter EM, et al. Nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, and neurotrophin-3 are sorted

to dense-core vesicles and released via the regulated pathway in primary rat cortical neurons. *J Neurosci Res* 2004;75(6):825-34.

Wu K, Len GW, McAuliffe G, Ma C, Tai JP, Xu F, et al. Brain-derived neurotrophic factor acutely enhances tyrosine phosphorylation of the AMPA receptor subunit GluR1 via NMDA receptor-dependent mechanisms. *Brain Res Mol Brain Res* 2004;130(1-2):178-86.

Yajima Y, Narita M, Matsumoto N, Suzuki T. Involvement of a spinal brain-derived neurotrophic factor/full-length TrkB pathway in the development of nerve injury-induced thermal hyperalgesia in mice. *Brain Res* 2002;958(2):338-46.

Yoshimura R, Mitoma M, Sugita A, Hori H, Okamoto T, Umene W, et al. Effects of paroxetine or milnacipran on serum brain-derived neurotrophic factor in depressed patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007;31(5):1034-7.

Zhao LY, Ye TH, Zhang YZ, Zhao H. [Combination of morphine with low-dose naloxone for intravenous patient-controlled analgesia]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 2005;27(2):228-31.

Zhou XF, Deng YS, Xian CJ, Zhong JH. Neurotrophins from dorsal root ganglia trigger allodynia after spinal nerve injury in rats. *Eur J Neurosci* 2000;12(1):100-5.