



# O ciclo estral modula a hiperalgesia muscular inflamatória aguda e persistente em fêmeas sedentárias, mas não exercitadas

Estrous cycle modulates the acute and persistent inflammatory muscle hyperalgesia in sedentary but not in exercised female mice

Hayla Lourenço Rodrigues<sup>1</sup> , Beatriz Botasso Gomes<sup>1</sup> , Graciana de Azambuja<sup>1,2</sup> , Maria Cláudia Gonçalves de Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas, Limeira, SP, Brasil.

<sup>2</sup> VIB-KU Leuven Center for Brain and Disease Research, Department of Neurosciences, Leuven, Belgium.

Correspondência para:  
**Maria Cláudia Gonçalves de Oliveira**  
**mfusaro@unicamp.br**

Apresentado em:  
**15 de julho de 2025**.  
 Aceito para publicação em:  
**30 de agosto de 2025**.

Conflito de interesses:  
 não há.

Fontes de fomento:  
**FAPESP: Processos 2017/17919-8 e 2021/02921-2. CNPQ:**  
**306413/2022-1 Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES):**  
**Grant 001.**

Disponibilidade de dados  
**Os dados que apoiam as descobertas deste estudo estão disponíveis com o autor correspondente mediante solicitação razoável.**

Editor associado responsável:  
**Camila Squarzoni Dale**

## RESUMO

**JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS:** Dor persistente é um problema de saúde pública que impacta significativamente a qualidade de vida. Mulheres relatam sentir dores persistentes com maior intensidade e frequência do que homens, o que é atribuído às flutuações dos hormônios sexuais. Neste estudo, investigou-se a influência do ciclo estral no desenvolvimento e manutenção da hiperalgesia muscular inflamatória aguda e persistente em fêmeas sedentárias e exercitadas.

**MÉTODOS:** A hiperalgesia muscular mecânica foi avaliada em camundongos fêmeas, da linhagem Swiss, submetidos ao modelo de hiperalgesia muscular inflamatória aguda e persistente, durante as quatro fases do ciclo estral (proestro, estro, metaestro ou diestro). O exercício foi realizado através da natação previamente à indução da hiperalgesia muscular.

**RESULTADOS:** Quando o estímulo inflamatório da carragenina ocorre na fase proestro, desencadeia-se a hiperalgesia muscular aguda de maior intensidade. Por outro lado, durante a fase estro, o estímulo inflamatório desencadeia a hiperalgesia muscular persistente de maior intensidade. A duração da hiperalgesia muscular persistente não é modulada pelos ciclos estrais. Exercícios de natação regulares prevenirão a hiperalgesia muscular aguda e persistente independentemente do ciclo estral.

**CONCLUSÃO:** A fase do ciclo estral em que ocorreu o estímulo inflamatório é determinante para o desenvolvimento da hiperalgesia muscular aguda e sua transição para a fase persistente. Esse efeito foi observado em fêmeas sedentárias, mas não em exercitadas, sugerindo que a atividade física regular pode promover benefícios analgésicos independentemente da fase do ciclo estral ou das flutuações hormonais associadas. Pesquisas adicionais são necessárias para elucidar os mecanismos subjacentes ao desenvolvimento da hiperalgesia muscular inflamatória em fêmeas.

**DESCRITORES:** Camundongos fêmeas, Ciclo estral, Exercício físico, Hiperalgesia persistente, Músculo.

## ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVES:** Persistent pain is a significant public health issue, profoundly impacting quality of life. Women experience persistent pain more frequently and with greater intensity than men, which is attributed to sexual hormonal fluctuations. This study investigated the influence of the estrous cycle on the development and maintenance of acute and persistent inflammatory muscle hyperalgesia in sedentary and exercised female mice.

**METHODS:** The study analyzed mechanical muscle hyperalgesia in female Swiss mice that underwent a model of acute and persistent inflammatory muscle hyperalgesia, during each of the four estrous cycle phases (proestrus, estrus, metestrus or diestrus). Swimming exercises were performed before the induction of acute and persistent inflammatory muscle hyperalgesia.

**RESULTS:** The inflammatory stimulus of carrageenan during the proestrus phase induced the most intense acute muscle hyperalgesia. Conversely, in the estrus phase, the inflammatory stimulus induced the most intense persistent muscle hyperalgesia. The maintenance of persistent muscle hyperalgesia was not modulated by estrous cycle. Regular swimming exercise prevented the acute and persistent muscle hyperalgesia, regardless of the estrous cycle.

**CONCLUSION:** These findings suggest that the estrous cycle phase during which an inflammatory insult occurs is critical for the development of acute inflammatory muscle hyperalgesia and its transition to the persistent phase. This effect was observed in sedentary, but not in exercised female mice, suggesting that regular physical activity may provide analgesic benefits regardless estrous cycle phase or the associated fluctuations in gender hormones. Further research is necessary to elucidate the mechanisms underlying the development of inflammatory muscle pain in females.

**KEYWORDS:** Estrous cycle, Female mice, Persistent hyperalgesia, Physical exercise, Muscle.

## DESTAQUES

- O ciclo estral, no qual ocorreu o estímulo inflamatório, foi determinante para o desenvolvimento da hiperalgesia muscular inflamatória aguda e persistente
- O estímulo inflamatório no músculo esquelético durante a fase proestro provocou a hiperalgesia muscular aguda mais intensa
- O estímulo inflamatório no músculo esquelético durante a fase estro provocou a hiperalgesia muscular persistente mais elevada
- A prática regular de natação preveniu a hiperalgesia muscular aguda e persistente, independentemente da fase do ciclo estral

## INTRODUÇÃO

A dor crônica é um problema de saúde global significativo, com alto impacto socioeconômico, afetando milhões de pessoas em todo o mundo<sup>1-3</sup>. É mais comum em mulheres, geralmente aumenta após a puberdade e flutua durante a menopausa<sup>4-6</sup>. Como exemplo, a prevalência de dor nas costas, dor de cabeça, dor de estômago e dor nas articulações temporomandibulares aumenta durante o desenvolvimento da puberdade em meninas<sup>7,8</sup> e dor musculoesquelética, dores de cabeça ou enxaquecas e dor vulvovaginal têm alta incidência no período da menopausa<sup>6</sup>. Isso sugere fortemente que os hormônios ovarianos têm uma influência significativa na sensibilidade à dor.

Embora o impacto dos hormônios ovarianos na sensibilidade a várias condições dolorosas seja claro, seu papel é notavelmente complexo. Os dois hormônios ovarianos mais importantes são o estrogênio e a progesterona. Vários estudos demonstram que as flutuações nos níveis de estrogênio afetam significativamente a percepção da dor. Essas mudanças hormonais levam ao aumento da dor, enquanto níveis hormonais estáveis oferecem um mecanismo de proteção contra a nociceção nas mulheres<sup>9-12</sup>. A progesterona, por outro lado, parece ter um efeito que reduz a dor<sup>13-15</sup>. Apesar dessa complexidade, a maioria dos estudos pré-clínicos é realizada em indivíduos do sexo masculino, o que pode levar a estratégias ineficientes para controlar a dor crônica em mulheres.

A prática regular de exercícios físicos é uma estratégia bem conhecida para reduzir muitas condições de dor crônica<sup>16-18</sup>. Além disso, indivíduos fisicamente inativos são mais propensos a desenvolver dor crônica ao longo da vida<sup>19-21</sup>. Foi demonstrado recentemente que a prática regular de natação previne a hiperalgesia muscular inflamatória aguda e persistente em camundongos machos por um mecanismo dependente de macrófagos<sup>22</sup>. No entanto, pouco se sabe sobre o efeito preventivo do exercício na transição para a hiperalgesia muscular crônica em camundongos fêmeas.

Dadas as implicações significativas das diferenças relacionadas ao sexo no processamento da dor, este estudo investigou a influência das fases do ciclo estral no desenvolvimento e manutenção da hiperalgesia muscular inflamatória aguda e persistente em camundongos fêmeas. Para isso, foi utilizado um modelo de hiperalgesia muscular inflamatória aguda e persistente para analisar as respostas nociceptivas comportamentais em cada uma das quatro fases do ciclo estral em dois grupos de camundongos fêmeas: sedentárias e não sedentárias.

## MÉTODOS

### Ética e desenho do estudo

Foram utilizados 100 camundongos fêmeas Swiss (*Mus musculus*) com 60 dias de idade, fornecidos pelo Centro de Pesquisas Multidisciplinares em Biologia (CEMIB) da UNICAMP. O procedimento experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da mesma instituição (CEUA-UNICAMP, protocolo nº 5234-1/2019), seguindo as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA,

Brasil) e da Lei Federal Brasileira nº 11.794/2008 (Lei Arouca) e do Comitê de Ética da Associação Internacional para o Estudo da Dor em Animais Conscientes. Os animais foram mantidos em gaiolas de plástico (cinco por gaiola) contendo maravalha e tubos de plástico, sob ciclos claro/escuro de 12 horas (luz acesa às 6 h da manhã) com água e comida à vontade, exceto durante injeções musculares, sessões de exercícios e testes de hiperalgesia muscular mecânica. As sessões experimentais foram realizadas durante a fase clara, a partir das 7 h, em uma sala silenciosa com temperatura controlada ( $\pm 23^{\circ}\text{C}$ ). O pesquisador responsável pela designação dos animais aos grupos estava ciente das alocações dos grupos. Todos os experimentos comportamentais foram realizados com mulheres que não tinham conhecimento das alocações dos grupos. Após o período de testes comportamentais, todos os animais foram sacrificados, seguindo o protocolo ético aprovado.

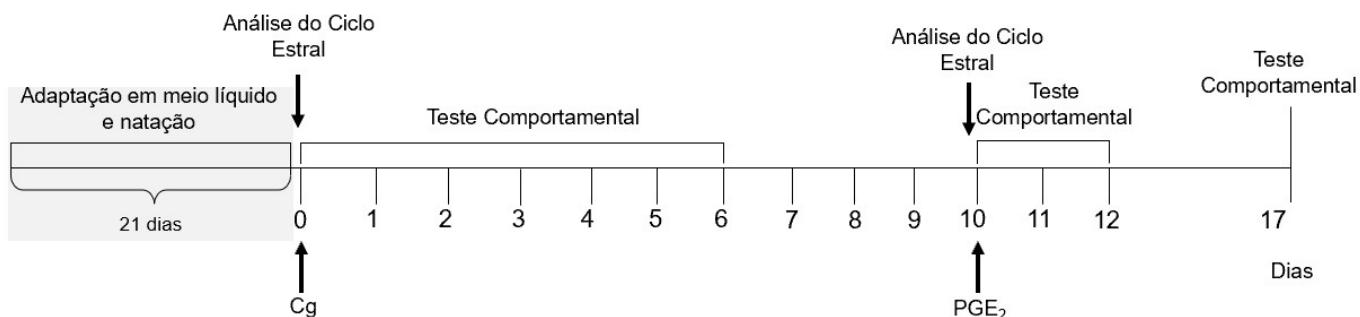
Este estudo foi planejado com base em experimentos já publicados. Um protocolo detalhado, incluindo a questão de pesquisa, as principais características do projeto e o plano de análise, foi preparado antes do estudo.

### Determinação da fase do ciclo estral

O ciclo estral foi determinado indiretamente utilizando o método não invasivo de lavagem vaginal. Inicialmente, para verificar se as fêmeas estavam com ciclos regulares, os autores analisaram o ciclo estral quatro dias antes da injeção de carragenina ou do exercício. Esse procedimento foi sempre realizado às 7h30 da manhã. As células vaginais foram lavadas com a introdução de 15  $\mu\text{L}$  de solução salina por meio de uma pipeta e algumas gotas da suspensão celular foram colocadas em uma lâmina de vidro para exame microscópico. A análise visual das células foi usada para determinar o ciclo estral da seguinte forma: proestro (predominância de células epiteliais nucleadas), estro (predominância de células cornificadas), metaestro (predominância de leucócitos e presença de algumas células cornificadas) e diestro (predominância de leucócitos)<sup>23</sup>. As fêmeas foram selecionadas para cada experimento com base no estágio do ciclo estral. Fatores que poderiam confundir os resultados foram controlados: as fêmeas foram agrupadas por fase do ciclo estral e alojadas em gaiolas separadas durante cada experimento.

### O modelo de hiperalgesia muscular inflamatória aguda e persistente

Neste estudo, foi utilizado um modelo de hiperalgesia muscular inflamatória persistente<sup>24</sup>, padronizado em camundongos<sup>22,25</sup>. Imediatamente após determinar o ciclo estral,  $\lambda$ -carragenina (Cg, 100  $\mu\text{g}/\text{músculo}$ ) foi injetada no ventre do músculo gastrocnêmio para induzir a hiperalgesia muscular inflamatória aguda. Após 10 dias, quando o limiar nociceptivo estava nos níveis basais, Prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>; 1  $\mu\text{g}/\text{músculo}$ ) foi injetada no mesmo local para desencadear a hiperalgesia muscular persistente. A medição do limiar hiperalgésico foi realizada nos seguintes momentos (Figura 1): 1) Imediatamente antes da injeção muscular (basal); 2) após 1 h, 3 h e 6 h da injeção no dia 0; 3) diariamente até o 10º dia; 4) imediatamente antes da injeção de PGE<sub>2</sub> (10º dia); 5) após



**Figura 1.** Procedimentos experimentais no modelo de hiperalgésia muscular persistente. A carragenina (Cg) ou solução salina (Sal) foi administrada no músculo gastrocnêmio. O teste comportamental foi aplicado do dia 0 ao dia 6 após a injeção. No décimo dia, PGE<sub>2</sub> foi administrada e o teste comportamental foi aplicado nos dias 10, 11, 12 e 17. A análise do ciclo estral foi determinada antes da injeção de Cg ou PGE<sub>2</sub>. Os procedimentos de exercícios de natação (quadradinho cinza) foram realizados antes das injeções de Cg/Sal, com um intervalo de 48 horas antes do teste comportamental de linha de base no dia 0. Adaptado de um estudo de referência de 2021<sup>22</sup>.

1 h e 4 h da injeção de PGE<sub>2</sub> (10º dia); 6) nos dias 11, 12 e 17<sup>22,25</sup>. Nos grupos controle, foi administrada solução salina isotônica (NaCl a 0,9%) em vez de carragenina. O exercício de natação foi realizado antes da primeira injeção, e o ciclo estral foi determinado antes da administração de carragenina ou PGE<sub>2</sub> (Figura 1). Todos os animais designados para cada grupo experimental foram incluídos na análise.

#### Teste mecânico do limiar nociceptivo muscular

O limiar nociceptivo mecânico muscular foi avaliado por meio do algímetro digital Randall-Selitto (Insight, Brasil)<sup>22,25</sup>. O dispositivo aplica pressão mecânica linear ao músculo gastrocnêmio através de uma ponta arredondada com 2 mm para evocar o limiar nociceptivo dos tecidos profundos<sup>26</sup>. Três medições, em intervalos de 5 minutos cada, foram realizadas para obter o limiar nociceptivo<sup>22,25</sup>. Os níveis basais foram medidos dois dias após o término do período de exercício físico ou equivalente no grupo sedentário<sup>22</sup>. A hiperalgésia muscular mecânica foi calculada como a diferença (em gramas) entre a medição basal e os valores obtidos em cada ponto temporal após as injeções de carragenina (ou solução salina) e PGE<sub>2</sub>. A hiperalgésia muscular mecânica foi representada no eixo y por valores crescentes<sup>22,25,27</sup>.

#### Injeção intramuscular, fármacos e doses

Os fármacos ou seus veículos foram injetados no músculo gastrocnêmio dos camundongos usando uma agulha de calibre 30<sup>28</sup>, conectada a um cateter de polietileno e uma seringa Hamilton (50 µL). O volume final foi de 20 µL. Foram utilizados os seguintes fármacos: λ – carragenina (100 µg/músculo) e prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>, 1 µg/músculo)<sup>22,24,25</sup>. Todos os fármacos foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA) e dissolvidos em solução salina isotônica (NaCl a 0,9%) para obter a solução de trabalho. A solução estoque de PGE<sub>2</sub> foi dissolvida em etanol, de acordo com a ficha técnica, e suspensa novamente em solução salina.

#### Protocolo de exercícios de natação

A natação foi realizada como exercício físico regular. A temperatura da água foi mantida em 31±1 °C e todos os procedimentos foram realizados em tanques cilíndricos individuais com superfície lisa<sup>22,29</sup>. Para minimizar o estresse, os camundongos foram adaptados progressivamente ao ambiente líquido, com aumento progressivo na profundidade da água, durante 6 dias<sup>22,30</sup>. Antes de iniciar o protocolo de exercícios de natação, os animais permaneceram em repouso por 24 horas. O protocolo de natação foi realizado durante 15 dias, divididos em três períodos de 5 dias cada, com sessões diárias de 50 minutos. Para permitir a adaptação fisiológica e minimizar o risco de fadiga ou lesões, foi utilizado um protocolo com aumento progressivo da intensidade<sup>23</sup>. No primeiro período, os camundongos realizaram sessões de natação com pausas passivas de 4 minutos. No segundo período, foram utilizadas sessões intervaladas com pausas de 3 minutos e, no último período, os camundongos nadaram 50 minutos sem pausas. Os camundongos foram retirados da água quando foram observados movimentos inadequados, como flutuar, escalar, mergulhar e balançar<sup>31</sup>. Os grupos sedentários foram mantidos em tanques individuais com água rasa por 10 minutos<sup>22</sup>. Todos os animais de cada grupo experimental foram considerados na análise.

#### Medição dos níveis séricos de corticosterona

Antes da coleta de sangue, os animais foram habituados por 1 h em uma sala silenciosa. A coleta de sangue foi realizada sem anestesia ou contenção. As amostras de sangue foram coletadas 24 h antes do início do exercício (linha de base) e 24 h após o término do protocolo de exercício<sup>22</sup>. Foi feito um pequeno corte na extremidade distal da cauda do animal e 25 µL de sangue foram coletados usando capilares de vidro não heparinizados. Após 30 minutos, as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante foi coletado e armazenado a -20 °C até a análise. A corticosterona foi medida usando o teste Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA), de acordo com as instruções do fabricante (Kit DetectX - Arbor Assays).

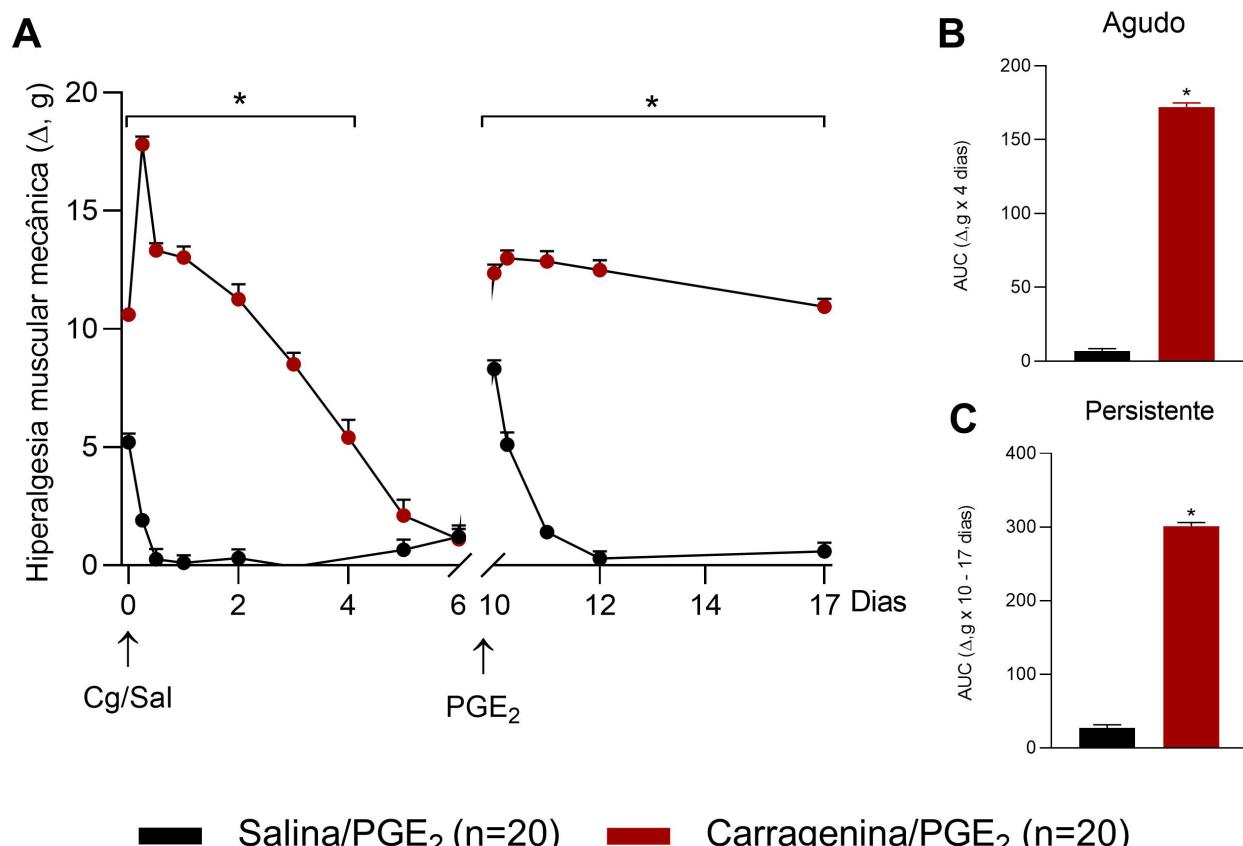
## Análise estatística

De acordo com o teste de Kolmogorov-Smirnov, todos os dados seguiram uma distribuição gaussiana normal e permitiram a aplicação de testes paramétricos. Os dados quantitativos foram analisados de acordo com a ANOVA unidirecional, ANOVA bidirecional, análise de efeitos mistos ou teste *t* de Student (não pareado). Após a ANOVA unidirecional e bidirecional, foram realizados contrastes *post hoc* utilizando o teste de Tukey. A análise da área sob a curva (AUC) foi realizada para experimentos comportamentais para avaliar os efeitos gerais das intervenções na hiperalgesia aguda e persistente. A AUC do período agudo foi considerada do dia 0 ao dia 4 após a injeção de carragenina ( $AUC \Delta, g \times 4$  dias) e a AUC do período persistente foi considerada do dia 10 ao 17 ( $AUC \Delta, g \times 10-17$  dias). O tamanho da amostra para variáveis contínuas foi calculado com base no desvio padrão populacional estimado e na diferença média esperada entre os grupos, usando a fórmula " $n=1+[2C^*(s/d)^2]$ ", em que " $C=(z\alpha+z\beta)^2$ ". Os parâmetros foram definidos como  $\alpha=0,05$  (bilateral), potência = 80%,  $s=0,2$  e  $d=0,5^{32}$ . Os valores finais estão apresentados nas legendas das figuras. Estes valores são expressos como médias  $\pm$  erro padrão da média (SEM). Todos os dados foram analisados pelo software GraphPad Prism 7.0. A ferramenta de cálculo de valores atípicos do site da GraphPad foi aplicada a cada grupo. Para todos os testes, a significância foi definida como  $p<0,05$ .

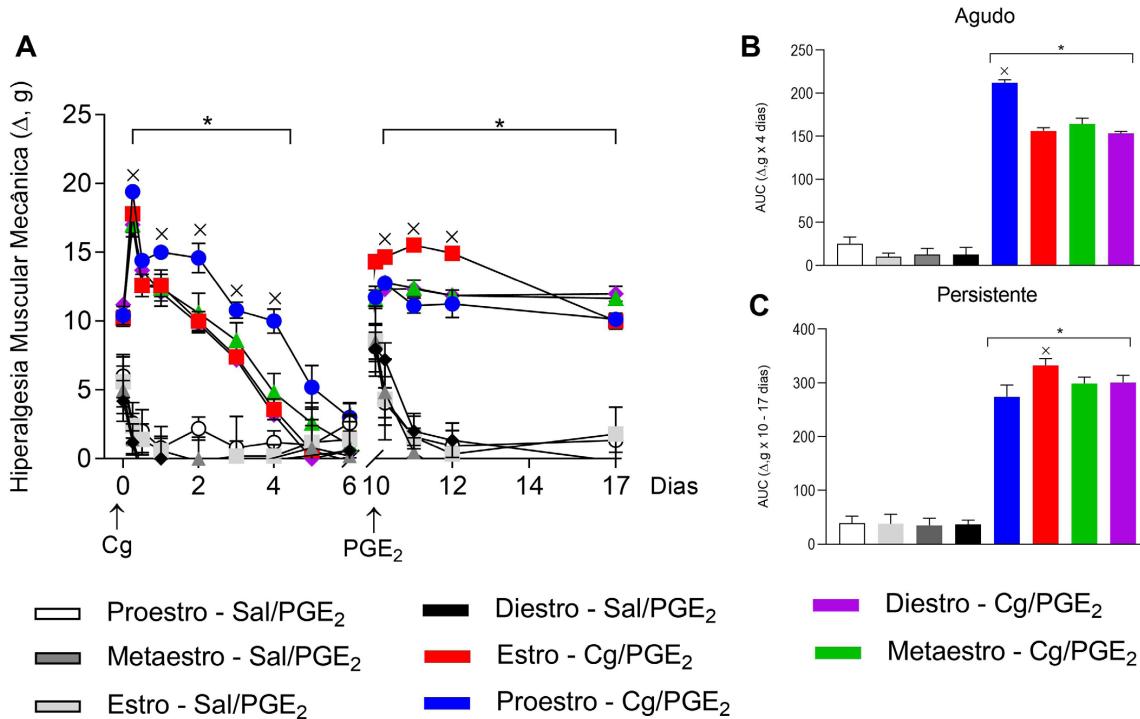
## RESULTADOS

Inicialmente, foi analisado o desenvolvimento de hiperalgesia muscular inflamatória aguda e persistente em camundongos fêmeas, independentemente do seu ciclo estral. A administração de carragenina no músculo gastrocnêmio induziu hiperalgesia muscular aguda ( $n = 20$ ,  $p < 0,05$ , ANOVA bidirecional, pós-teste de Tukey, Figura 2A, AUC, teste *t* de Student, Figura 2B) quando comparada ao grupo controle com solução salina ( $n = 20$ ). A administração de PGE<sub>2</sub> no músculo gastrocnêmio previamente sensibilizado pela carragenina mostrou hiperalgesia muscular persistente ( $n = 20$ ,  $p < 0,05$ , ANOVA bidirecional, pós-teste de Tukey, Figura 2A; AUC, teste *t* de Student, Figura 2C) na comparação com o grupo controle com solução salina ( $n = 20$ ).

Para investigar a influência do ciclo estral no desenvolvimento de hiperalgesia muscular inflamatória aguda e persistente, administraramos carragenina em cada uma das quatro fases do ciclo (proestro, estro, metaestro ou diestro). A fase do ciclo estral em que a PGE<sub>2</sub> foi injetada não foi considerada. Quando a carragenina foi injetada durante as fases proestro ( $n = 5$ ), estro ( $n = 5$ ), metaestro ( $n = 5$ ) ou diestro ( $n = 5$ ), houve desenvolvimento de hiperalgesia muscular aguda e persistente quando comparada aos respectivos grupos controle com solução salina ( $p < 0,05$ , teste de análise de efeitos mistos, pós-teste de Tukey, Figura 3A; AUC, ANOVA unidirecional, pós-teste de Tukey, Figura 3B).



**Figura 2.** Dimorfismo sexual na hiperalgesia muscular inflamatória aguda e persistente. (A) Respostas nociceptivas comportamentais em diferentes momentos. AUC da hiperalgesia muscular aguda (B) e persistente (C). O símbolo “\*” indica diferenças para o grupo controle com solução salina.



**Figura 3.** O ciclo estral modula tanto a hiperalgesia muscular aguda quanto a persistente. (A) Respostas nociceptivas comportamentais nas fases proestro, estro, metaestro e diestro. AUC da hiperalgesia muscular aguda (B) e persistente (C). O símbolo “\*” indica diferenças para seus respectivos grupos controle com solução salina, “x” indica diferenças para outros grupos na fase aguda ou persistente.

Uma comparação entre as diferentes fases do ciclo estral revelou que a injeção de carragenina durante a fase de proestro provocou uma hiperalgesia muscular aguda mais intensa do que a observada nas outras fases ( $p < 0,05$ , teste de análise de efeitos mistos, pós-teste de Tukey, Figura 3A; AUC, ANOVA unidirecional, pós-teste de Tukey, Figura 3C). Além disso, a injeção de carragenina durante a fase de estro provocou uma hiperalgesia muscular persistente mais intensa do que a observada nas outras fases ( $p < 0,05$ , análise de efeitos mistos, pós-teste de Tukey, Figura 3A; AUC, ANOVA unidirecional, pós-teste de Tukey, Figura 3C).

#### A fase do ciclo estral no momento da injeção de PGE<sub>2</sub> não modulou a manutenção da hiperalgesia muscular persistente

Foi realizada uma análise para determinar se a fase do ciclo estral, no momento da injeção de PGE<sub>2</sub> em camundongos previamente sensibilizados por carragenina, modulava a manutenção da hiperalgesia muscular persistente. Foi observado que a manutenção dessa fase não foi diferente entre as fases do ciclo estral ( $n=5$ ,  $p>0,05$ , Análise de efeitos mistos, Figura 4A; AUC, ANOVA unidirecional, Figura 4B).

#### O ciclo estral não modulou a hiperalgesia muscular aguda e persistente prevenida pelo exercício físico regular

Foi demonstrado anteriormente que a prática regular de exercício físico através da natação previne a hiperalgesia muscular

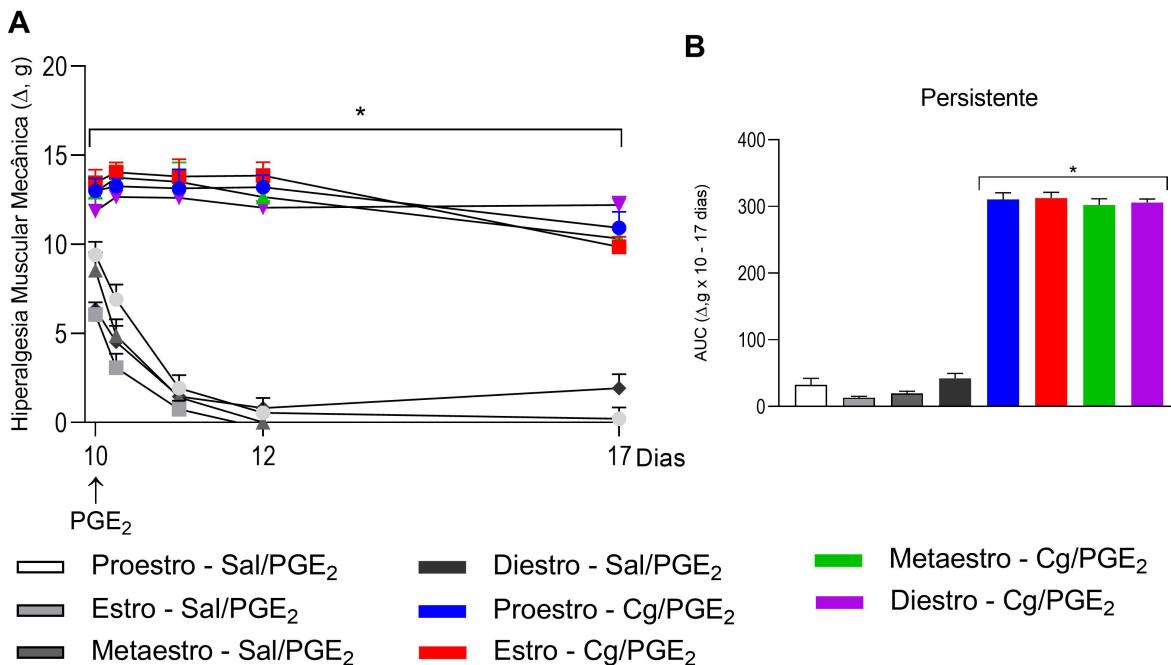
inflamatória aguda e persistente em camundongos machos<sup>22</sup>. Assim, foi realizada uma análise para determinar se o ciclo estral modulava essa prevenção em camundongos fêmeas. Primeiro, foi observado que a natação era eficaz na prevenção da hiperalgesia muscular aguda e persistente em fêmeas ( $n=20$ ,  $p<0,05$ , Análise de efeitos mistos, pós-teste de Tukey, Figura 5A; AUC, ANOVA unidirecional, pós-teste de Tukey, Figura 5A). Quando as fases do ciclo estral foram comparadas, não houve diferenças nas respostas comportamentais ( $n=5$ ,  $p>0,05$ , Análise de efeitos mistos, Figura 5B; AUC, ANOVA unidirecional, Figura 5B).

Para analisar se o estresse modulou a prevenção da hiperalgesia muscular induzida pelo exercício, os níveis plasmáticos de corticosterona antes do início e 24 horas após o término do protocolo de natação foram analisados. Não houve aumento nos níveis plasmáticos de corticosterona em camundongos fêmeas exercitadas ( $n = 16$ ,  $p > 0,05$ , ANOVA de duas vias, Figura 5C).

#### DISCUSSÃO

O estudo demonstrou que o ciclo estral, no qual ocorreu o estímulo inflamatório, é determinante para o desenvolvimento da hiperalgesia muscular inflamatória aguda e para a consequente transição para o estágio persistente, mas não para sua manutenção. Além disso, em animais previamente exercitados, o ciclo estral, no qual ocorreu o estímulo inflamatório, não modulou a prevenção da hiperalgesia muscular pelo exercício.

O estudo mostrou que a injeção intramuscular de carragenina no músculo gastrocnêmio de camundongos fêmeas induziu hiperalgesia



**Figura 4.** O ciclo estral não modulou a hiperalgésia muscular persistente. (A) Respostas nociceptivas comportamentais nas fases proestro, estro, metaestro e diestro. (B) AUC da hiperalgésia muscular persistente. O símbolo “\*” indica diferenças em relação aos respectivos grupos controle com solução salina.

muscular inflamatória aguda e persistente em todas as fases do ciclo estral. Curiosamente, a estimulação inflamatória afetou de maneira diferenciada a intensidade da hiperalgésia muscular aguda e persistente nas várias fases do ciclo estral. Especificamente, na fase proestro, a carragenina induziu a hiperalgésia muscular inflamatória aguda mais intensa, enquanto na fase estro, a hiperalgésia muscular persistente mais intensa. Esses dados destacam o impacto do ciclo estral no resultado da hiperalgésia muscular aguda e persistente desencadeada por uma lesão inflamatória.

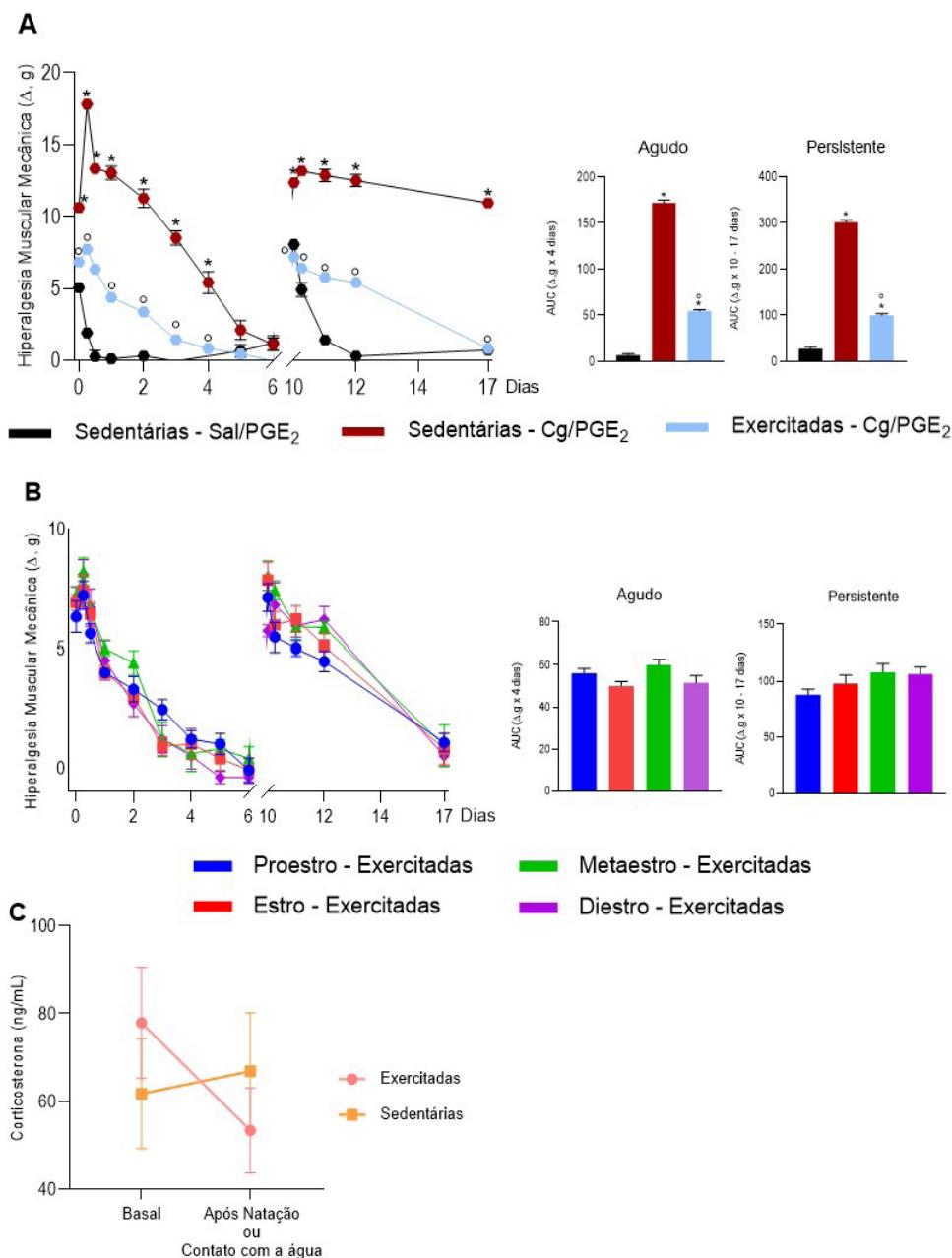
Normalmente, as mulheres ou os roedores fêmeas apresentam mais dor do que os homens em vários modelos de dor, incluindo dor induzida por fatores mecânicos, elétricos, térmicos e químicos<sup>33</sup>. Além disso, as mulheres são mais propensas do que os homens a relatar diferentes condições de dor<sup>34,35</sup>. Essa evidência é, em parte, atribuída às flutuações dos hormônios sexuais<sup>36-40</sup>.

O estrogênio<sup>41</sup> e a progesterona são hormônios esteroides secretados pelos ovários, que desempenham papéis importantes em vários tecidos<sup>42</sup>, como no metabolismo do sistema musculoesquelético<sup>43-45</sup>. Embora exista um número robusto de estudos pré-clínicos e clínicos sobre o papel dos hormônios sexuais na dor, os resultados ainda não são claros. Parece haver diferenças na influência dos hormônios femininos com base no estímulo que desencadeou a condição de dor<sup>43,46-50</sup>. No entanto, um consenso na literatura sugere uma influência significativa das flutuações do estrogênio na sensibilidade à dor. Especificamente, variações nos níveis hormonais estão associadas a um aumento na sensibilidade à dor, enquanto perfis hormonais estáveis parecem conferir um efeito protetor contra a nociceção em mulheres<sup>36-40</sup>. A progesterona também demonstrou estar envolvida no processamento da dor, mostrando um papel protetor contra a dor<sup>39</sup>. Curiosamente, um

modelo clínico de dor mostrou que o aumento da dor associado a níveis elevados de progesterona foi reduzido pelo aumento dos níveis de estradiol, sugerindo uma interação entre ambos os hormônios na percepção da dor<sup>51</sup>.

É sabido que, em camundongos fêmeas, os níveis de estradiol começam a aumentar na fase metaestro, atingindo níveis máximos durante proestro e retornando aos valores basais em estro. A secreção de progesterona também aumenta durante a fase metaestro e diestro, com uma diminuição posterior. Em seguida, os níveis de progesterona sobem para atingir seu segundo pico no final de proestro<sup>52,53</sup>. Considerando tais oscilações, é possível levantar a hipótese de que os níveis mais elevados de progesterona e os níveis mais baixos de estradiol no final da fase proestro podem estar relacionados à hiperalgésia muscular aguda mais elevada induzida pelo estímulo inflamatório na fase proestro. Por outro lado, os níveis mais baixos de estrogênios e progesterona podem ter contribuído para a hiperalgésia muscular persistente mais elevada induzida pelo estímulo inflamatório na fase estro. Finalmente, o papel protetor dos níveis crescentes de estrogênios e progesterona pode ter contribuído para a menor intensidade da hiperalgésia muscular persistente induzida pelo estímulo inflamatório nas fases proestro e metaestro, respectivamente. Os mecanismos subjacentes ao papel protetor do estrogênio na hiperalgésia muscular inflamatória ainda estão sendo investigados. No entanto, as evidências mostram que os estrogênios regulam negativamente as citocinas pró-inflamatórias<sup>54-57</sup>, interagem com os sistemas adrenérgico e serotonérígico<sup>58</sup> e inibem a sinalização do NFκB<sup>59</sup>.

Foi demonstrado anteriormente que a natação regular previne o desenvolvimento da hiperalgésia muscular inflamatória aguda e sua transição para o estágio persistente em camundongos machos.



**Figura 5.** A prevenção da hiperalgesia muscular aguda e persistente induzida pelo exercício físico é independente do ciclo estral. Respostas nociceptivas comportamentais independentes do ciclo estral. (A) e em diferentes fases do ciclo estral (B). Análise dos níveis de corticosterona (C). O símbolo “\*” indica diferenças em relação aos respectivos grupos controle com solução salina e “\*\*” indica diferenças em relação ao grupo sedentário Cg/PGE<sub>2</sub>.

O presente estudo demonstrou que as fêmeas exibem respostas comportamentais semelhantes induzidas pelo exercício. Curiosamente, a fase do ciclo estral durante o estímulo inflamatório não afetou a prevenção da hiperalgesia muscular aguda ou persistente induzida pelo exercício. O exercício físico regular de baixa ou moderada intensidade modula os sistemas neuroimunológicos periféricos e centrais relacionados às vias de sinalização da dor<sup>60</sup>. Assim, eles são estratégias não farmacológicas eficientes para o tratamento e a prevenção de condições dolorosas crônicas<sup>61,62</sup>. Embora não tenham sido avaliados os mecanismos subjacentes à prevenção

da hiperalgesia muscular aguda e persistente em camundongos fêmeas, foi demonstrado que o protocolo de exercícios também é eficaz em fêmeas, independentemente da fase do ciclo estral.

Uma limitação deste estudo é que os hormônios sexuais não foram medidos diretamente; em vez disso, as fases do ciclo estral foram determinadas usando o método não invasivo de lavagem vaginal. Embora a técnica não forneça níveis hormonais exatos, ela é amplamente utilizada e confiável para identificar os estágios do ciclo. Assim, as interpretações sobre as influências hormonais do estudo foram baseadas em evidências indiretas.

## CONCLUSÃO

Foi demonstrado que a fase do ciclo estral durante a qual ocorre um estímulo inflamatório é crítica para o desenvolvimento da hiperalgesia muscular inflamatória aguda e sua transição para a fase persistente. Portanto, elas devem ser levadas em consideração no manejo clínico dessas condições. Embora se saiba que alterações nos hormônios sexuais ao longo do ciclo influenciam a sensibilidade à dor, as descobertas deste estudo sugerem que intervenções com exercícios bem planejadas podem prevenir eficazmente a progressão da dor muscular aguda para a crônica. Essas descobertas ressaltam o potencial da integração de programas de exercícios individualizados nas estratégias de controle da dor para mulheres, sugerindo que a atividade física regular pode resultar em benefícios analgésicos, independentemente da fase do ciclo menstrual ou das flutuações associadas aos hormônios sexuais.

## REFERÊNCIAS

- Gerdle B, Björk J, Cöster L, Henriksson K, Henriksson C, Bengtsson A. Prevalence of widespread pain and associations with work status: a population study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2008;9(1):102. <http://doi.org/10.1186/1471-2474-9-102>. PMID:18627605.
- Rice ASC, Smith BH, Blyth FM. Pain and the global burden of disease. *Pain.* 2016;157(4):791-6. <http://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000454>. PMID:26670465.
- Treede RD, Rief W, Barke A, Aziz Q, Bennett MI, Benoliel R, Cohen M, Evers S, Finnerup NB, First MB, Giamerardino MA, Kaasa S, Korwisi B, Kosek E, Lavand'homme P, Nicholas M, Perrot S, Scholz J, Schug S, Smith BH, Svensson P, Vlaeyen JWS, Wang SJ. Chronic pain as a symptom or a disease: the IASP Classification of Chronic Pain for the International Classification of Diseases (ICD-11). *Pain.* 2019;160(1):19-27. <http://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001384>. PMID:30586067.
- Lund CI, Rosseland LA, Steingrimsdóttir ÓA, Engdahl BL, Stubhaug A, Furberg AS, Nielsen CS. How is age at menopause and reproductive lifespan associated with chronic pain outcomes in postmenopausal women? *Pain.* 2025;166(1):144-52. <http://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000003333>. PMID:39058956.
- Gulati M, Dursun E, Vincent K, Watt FE. The influence of sex hormones on musculoskeletal pain and osteoarthritis. *Lancet Rheumatol.* 2023;5(4):e225-38. [http://doi.org/10.1016/S2665-9913\(23\)00060-7](http://doi.org/10.1016/S2665-9913(23)00060-7). PMID:38251525.
- Strand NH, D'Souza RS, Gomez DA, Whitney MA, Attanti S, Anderson MA, Moeschler SM, Chadwick AL, Maloney JA. Pain during menopause. *Maturitas.* 2025;191:108135. <http://doi.org/10.1016/j.maturitas.2024.108135>. PMID:39500125.
- Lund CI, Engdahl B, Rosseland LA, Stubhaug A, Grimnes G, Furberg AS, Steingrimsdóttir ÓA, Nielsen CS. The association between age at menarche and chronic pain outcomes in women: the Tromsø Study, 2007 to 2016. *Pain.* 2022;163(9):1790-9. <http://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000002579>. PMID:35239542.
- LeResche L, Mancl LA, Drangsholt MT, Saunders K, Von Korff M. Relationship of pain and symptoms to pubertal development in adolescents. *Pain.* 2005;118(1-2):201-9. <http://doi.org/10.1016/j.pain.2005.08.011>. PMID:16213087.
- Lenert ME, Avona A, Garner KM, Barron LR, Burton MD. Sensory neurons, neuroimmunity, and pain modulation by sex hormones. *Endocrinology.* 2021;162(8):109. <http://doi.org/10.1210/endocr/bqab109>. PMID:34049389.
- Gupta S, McCarson KE, Welch KMA, Berman NEJ. Mechanisms of pain modulation by sex hormones in migraine. *Headache.* 2011;51(6):905-22. <http://doi.org/10.1111/j.1526-4610.2011.01908.x>. PMID:21631476.
- Maurer AJ, Lissounov A, Knezevic I, Cândido KD, Knezevic NN. Pain and sex hormones: a review of current understanding. *Pain Manag.* 2016;6(3):285-96. <http://doi.org/10.2217/pmt-2015-0002>. PMID:26983893.
- Hernandez-Leon A, De la Luz-Cuello YE, Granados-Soto V, González-Trujano ME, Fernández-Guasti A. Sex differences and estradiol involvement in hyperalgesia and allodynia in an experimental model of fibromyalgia. *Horm Behav.* 2018;97:39-46. <http://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2017.10.011>. PMID:29080671.
- Coronel MF, Labombarda F, Roig P, Villar MJ, De Nicola AF, González SL. Progesterone prevents nerve injury-induced allodynia and spinal NMDA receptor upregulation in rats. *Pain Med.* 2011;12(8):1249-61. <http://doi.org/10.1111/j.1526-4637.2011.01178.x>. PMID:21714841.
- Frye CA, Duncan JE. Progesterone metabolites, effective at the GABAA receptor complex, attenuate pain sensitivity in rats. *Brain Res.* 1994;643(1-2):194-203. [http://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)90025-6](http://doi.org/10.1016/0006-8993(94)90025-6). PMID:8032914.
- Gupta S, McCarson KE, Welch KMA, Berman NEJ. Mechanisms of pain modulation by sex hormones in migraine. *Headache.* 2011;51(6):905-22. <http://doi.org/10.1111/j.1526-4610.2011.01908.x>. PMID:21631476.
- Sluka KA, Frey-Law L, Hoeger Bement M. Exercise-induced pain and analgesia? Underlying mechanisms and clinical translation. *Pain.* 2018;159(Suppl 1):S91-7. <http://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001235>. PMID:30113953.
- Ikeda S, Tamura Y, Kakehi S, Takeno K, Kawaguchi M, Watanabe T, Sato F, Ogihara T, Kanazawa A, Fujitani Y, Kawamori R, Watada H. Exercise-induced enhancement of insulin sensitivity is associated with accumulation of M2-polarized macrophages in mouse skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;441(1):36-41. <http://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.10.005>. PMID:24120496.
- Yoon H, Thakur V, Isham D, Fayad M, Chattopadhyay M. Moderate exercise training attenuates inflammatory mediators in DRG of Type 1 diabetic rats. *Exp Neurol.* 2015;267:107-14. <http://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.03.006>. PMID:25783659.
- Landmark T, Romundstad PR, Borchgrevink PC, Kaasa S, Dale O. Longitudinal associations between exercise and pain in the general population: the HUNT pain study. *PLoS One.* 2013;8(6):e65279. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0065279>. PMID:23776464.
- Landmark T, Romundstad P, Borchgrevink PC, Kaasa S, Dale O. Associations between recreational exercise and chronic pain in the general population: evidence from the HUNT 3 study. *Pain.* 2011;152(10):2241-7. <http://doi.org/10.1016/j.pain.2011.04.029>. PMID:21601986.
- Sluka KA, O'Donnell JM, Danielson J, Rasmussen LA. Regular physical activity prevents development of chronic pain and activation of central neurons. *J Appl Physiol.* 2013;114(6):725-33. <http://doi.org/10.1152/japplphysiol.01317.2012>. PMID:23271699.
- de Azambuja G, Jorge CO, Gomes BB, Lourenço HR, Simabuco FM, Oliveira-Fusaro MCG. Regular swimming exercise prevented the acute and persistent mechanical muscle hyperalgesia by modulation of macrophages phenotypes and inflammatory cytokines via PPAR $\gamma$  receptors. *Brain Behav Immun.* 2021;95:462-76. <http://doi.org/10.1016/j.bbi.2021.05.002>. PMID:33964434.
- Saito T, Ciobotaru A, Bopassa JC, Toro L, Stefani E, Eghbali M. Estrogen contributes to gender differences in mouse ventricular repolarization. *Circ Res.* 2009;105(4):343-52. <http://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.190041>. PMID:19608983.
- Dina OA, Levine JD, Green PG. Muscle inflammation induces a protein kinase C $\epsilon$ -dependent chronic-latent muscle pain. *J Pain.* 2008;9(5):457-62. <http://doi.org/10.1016/j.jpain.2008.01.328>. PMID:18342576.
- Jorge CO, de Azambuja G, Gomes BB, Rodrigues HL, Luchessi AD, de Oliveira-Fusaro MCG. P2X3 receptors contribute to transition from acute to chronic muscle pain. *Purinergic Signal.* 2020;16(3):403-14. <http://doi.org/10.1007/s11302-020-09718-x>. PMID:32766958.
- Takahashi K, Taguchi T, Itoh K, Okada K, Kawakita K, Mizumura K. Influence of surface anesthesia on the pressure pain threshold measured with different-sized probes. *Somatosens Mot Res.* 2005;22(4):299-305. <http://doi.org/10.1080/08990220500420475>. PMID:16503582.
- Santos DFS, Aquino BM, Jorge CO, Azambuja G, Schiavuzzo JG, Krimon S, Neves JS, Parada CA, Oliveira-Fusaro MCG. Muscle pain induced by static contraction in rats is modulated by peripheral inflammatory mechanisms. *Neuroscience.* 2017;358:58-69. <http://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.06.041>. PMID:28673715.
- Schiavuzzo JG, Teixeira JM, Melo B, da Silva dos Santos DF, Jorge CO, Oliveira-Fusaro MC, Parada CA. Muscle hyperalgesia induced by peripheral P2X3 receptors is modulated by inflammatory mediators. *Neuroscience.* 2015;285:24-33. <http://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.11.020>. PMID:25446353.
- Scariot PPM, Manchado-Gobatto FB, Torsoni AS, dos Reis IGM, Beck WR, Gobatto CA. Continuous aerobic training in individualized intensity avoids spontaneous physical activity decline and improves MCT1 expression in oxidative muscle of swimming rats. *Front Physiol.* 2016;7:132. <http://doi.org/10.3389/fphys.2016.00132>. PMID:27148071.

30. Lima AA, Gobatto CA, Messias LHD, Scariot PPM, Forte LDM, Santin JO, Manchado-Gobatto FB. Two water environment adaptation models enhance motor behavior and improve the success of the lactate minimum test in swimming rats. *Motriz*. 2017;23(spe):e101607. <http://doi.org/10.1590/s1980-6574201700si0009>.
31. Kregel KC, Allen DL, Booth FW, Flesher MR, Henriksen EJ, Musch TI, O'Leary DS, Parks CM, Poole, DC, Ra'anan AW, Sheriff DD, Toth LA. Resource book for the design of animal exercise protocols. *Am J Vet Res*. 2007;68(6):583. <http://doi.org/10.2460/ajvr.68.6.583>.
32. Dell RB, Holleran S, Ramakrishnan R. Sample size determination. *ILAR J*. 2002;43(4):207-13. <http://doi.org/10.1093/ilar.43.4.207>. PMid:12391396.
33. Bartley EJ, Fillingim RB. Sex differences in pain: a brief review of clinical and experimental findings. *Br J Anaesth*. 2013;111(1):52-8. <http://doi.org/10.1093/bja/aet127>. PMid:23794645.
34. Bouhassira D, Lantéri-Minet M, Attal N, Laurent B, Touboul C. Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population. *Pain*. 2008;136(3):380-7. <http://doi.org/10.1016/j.pain.2007.08.013>. PMid:17888574.
35. Chen G, Luo X, Qadri MY, Berta T, Ji RR. Sex-dependent glial signaling in pathological pain: distinct roles of spinal microglia and astrocytes. *Neurosci Bull*. 2018;34(1):98-108. <http://doi.org/10.1007/s12264-017-0145-y>. PMid:28585113.
36. Hernandez-Leon A, De la Luz-Cuellar YE, Granados-Soto V, González-Trujano ME, Fernández-Guasti A. Sex differences and estradiol involvement in hyperalgesia and allodynia in an experimental model of fibromyalgia. *Horm Behav*. 2018;97:39-46. <http://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2017.10.011>. PMid:29080671.
37. Delaruelle Z, Ivanova TA, Khan S, Negro A, Ornello R, Raffaelli B, Terrin A, Mitsikostas DD, Reuter U, and the European Headache Federation School of Advanced Studies (EHF-SAS). Male and female sex hormones in primary headaches. *J Headache Pain*. 2018;19(1):117. <http://doi.org/10.1186/s10194-018-0922-7>. PMid:30497379.
38. Maurer AJ, Lissounov A, Knezevic I, Candido KD, Knezevic NN. Pain and sex hormones: a review of current understanding. *Pain Manag*. 2016;6(3):285-96. <http://doi.org/10.2217/pmt-2015-0002>. PMid:26983893.
39. Gupta S, McCarson KE, Welch KMA, Berman NEJ. Mechanisms of pain modulation by sex hormones in migraine. *Headache*. 2011;51(6):905-22. <http://doi.org/10.1111/j.1526-4610.2011.01908.x>. PMid:21631476.
40. Lenert ME, Avona A, Garner KM, Barron LR, Burton MD. sensory neurons, neuroimmunity, and pain modulation by sex hormones. *Endocrinology*. 2021;162(8):bqab109. <http://doi.org/10.1210/endocr/bqab109>. PMid:34049389.
41. Pang H, Chen S, Klyne DM, Harrich D, Ding W, Yang S, Han FY. Low back pain and osteoarthritis pain: a perspective of estrogen. *Bone Res*. 2023;11(1):42. <http://doi.org/10.1038/s41413-023-00280-x>. PMid:37542028.
42. Belachew EB, Sewasew DT. Corrigendum: molecular mechanisms of endocrine resistance in estrogen-receptor-positive breast cancer. *Front Endocrinol*. 2021;12:689705. <http://doi.org/10.3389/fendo.2021.599586>. PMid:34046016.
43. Pöllänen E, Sipilä S, Alen M, Ronkainen PH, Ankarberg-Lindgren C, Puolakka J, Suominen H, Hämaläinen E, Turpeinen U, Konttinen YT, Kovanen V. Differential influence of peripheral and systemic sex steroids on skeletal muscle quality in pre- and postmenopausal women. *Aging Cell*. 2011;10(4):650-60. <http://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2011.00701.x>. PMid:21388496.
44. Nilsson S, Gustafsson JA. Estrogen receptors: therapies targeted to receptor subtypes. *Clin Pharmacol Ther*. 2011;89(1):44-55. <http://doi.org/10.1038/clpt.2010.226>. PMid:21124311.
45. Cauley JA. Estrogen and bone health in men and women. *Steroids*. 2015;99(Pt A):11-5. <http://doi.org/10.1016/j.steroids.2014.12.010>. PMid:25555470.
46. Gulati M, Dursun E, Vincent K, Watt FE. The influence of sex hormones on musculoskeletal pain and osteoarthritis. *Lancet Rheumatol*. 2023;5(4):e225-38. [http://doi.org/10.1016/S2665-9913\(23\)00060-7](http://doi.org/10.1016/S2665-9913(23)00060-7). PMid:38251525.
47. Amandusson Å, Blomqvist A. Estrogenic influences in pain processing. *Front Neuroendocrinol*. 2013;34(4):329-49. <http://doi.org/10.1016/j.yfrne.2013.06.001>. PMid:23817054.
48. Athnaiel O, Cantillo S, Paredes S, Knezevic NN. The role of sex hormones in pain-related conditions. *Int J Mol Sci*. 2023;24(3):1866. <http://doi.org/10.3390/ijms24031866>. PMid:36768188.
49. Lesnak JB, Inoue S, Lima L, Rasmussen L, Sluka KA. Testosterone protects against the development of widespread muscle pain in mice. *Pain*. 2020;161(12):2898-908. <http://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001985>. PMid:32658149.
50. Averitt DL, Hornung RS, Murphy AZ. Role of sex hormones on pain. In: Sherman SM, editor. Oxford research encyclopedia of neuroscience. Oxford: Oxford University Press; 2019. <http://doi.org/10.1093/acrefore/9780190264086.013.247>.
51. Stening K, Eriksson O, Wahren L, Berg G, Hammar M, Blomqvist A. Pain sensations to the cold pressor test in normally menstruating women: comparison with men and relation to menstrual phase and serum sex steroid levels. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007;293(4):R1711-6. <http://doi.org/10.1152/ajpregu.00127.2007>. PMid:17652363.
52. Smith MS, Freeman ME, Neill JD. The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat: prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy. *Endocrinology*. 1975;96(1):219-26. <http://doi.org/10.1210/endo-96-1-219>. PMid:1167352.
53. Spornitz UM, Socin CD, Dravid AA. Estrous stage determination in rats by means of scanning electron microscopic images of uterine surface epithelium. *Anat Rec*. 1999;254(1):116-26. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(19990101\)254:1<116::AID-AR15>3.0.CO;2-X](http://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(19990101)254:1<116::AID-AR15>3.0.CO;2-X). PMid:9892425.
54. Chen BL, Li YQ, Xie DH, He QL, Yang XX. Blocking TNF- $\alpha$  with infliximab alleviates ovariectomy induced mechanical and thermal hyperalgesia in rats. *Neurol Sci*. 2012;33(3):527-33. <http://doi.org/10.1007/s10072-011-0743-9>. PMid:21874299.
55. Masiukiewicz US, Mitnick M, Grey AB, Insogna KL. Estrogen modulates parathyroid hormone-induced interleukin-6 production in vivo and in vitro\*. *Endocrinology*. 2000;141(7):2526-31. <http://doi.org/10.1210/endo.141.7.7537>. PMid:10875254.
56. Liu H, Liu K, Bodenner DL. Estrogen receptor inhibits interleukin-6 gene expression by disruption of nuclear factor  $\kappa$ B transactivation. *Cytokine*. 2005;31(4):251-7. <http://doi.org/10.1016/j.cyto.2004.12.008>. PMid:16043358.
57. Torres-Chávez KE, Sanfins JM, Clemente-Napimoga JT, Pelegrini-Da-Silva A, Parada CA, Fischer L, Tambeli CH. Effect of gonadal steroid hormones on formalin-induced temporomandibular joint inflammation. *Eur J Pain*. 2012;16(2):204-16. <http://doi.org/10.1016/j.ejpain.2011.06.007>. PMid:22323373.
58. Okuda K, Iwasaka H, Hagiwara S, Takeshima N, Takatani J, Uchino T, Noguchi T. The antinociceptive effects of estradiol on adjuvant-induced hyperalgesia in rats involve activation of adrenergic and serotonergic systems. *J Anesth*. 2011;25(3):392-7. <http://doi.org/10.1007/s00540-011-1142-3>. PMid:21258403.
59. Liu C, Lo J, Kuo C, Chu CH, Chen LM, Tsai FJ, Tsai CH, Tzang BS, Kuo WW, Huang CY. Akt mediates 17 $\beta$ -estradiol and/or estrogen receptor- $\alpha$  inhibition of LPS-induced tumor necrosis factor- $\alpha$  expression and myocardial cell apoptosis by suppressing the JNK1/2-NF $\kappa$ B pathway. *J Cell Mol Med*. 2009;13(9B):3655-67. <http://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00669.x>. PMid:20196785.
60. Sluka KA, Frey-Law L, Hoeger Bement M. Exercise-induced pain and analgesia? Underlying mechanisms and clinical translation. *Pain*. 2018;159(Suppl 1):S91-7. <http://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001235>. PMid:30113953.
61. Hassett AL, Williams DA. Non-pharmacological treatment of chronic widespread musculoskeletal pain. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2011;25(2):299-309. <http://doi.org/10.1016/j.berh.2011.01.005>. PMid:22094203.
62. Mannerkorpi K, Henriksson C. Non-pharmacological treatment of chronic widespread musculoskeletal pain. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2007;21(3):513-34. <http://doi.org/10.1016/j.berh.2007.04.001>. PMid:17602997.

#### CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

**Hayla Lourenço Rodrigues:** Análise Estatística, Coleta de Dados, Investigação, Metodologia, Redação – Preparação do original, Redação – Revisão e Edição, Validação, Visualização  
**Beatriz Botasso Gomes:** Análise estatística, Coleta de Dados, Metodologia, Visualização  
**Graciana de Azambuja:** Coleta de Dados, Metodologia, Visualização  
**Maria Cláudia Gonçalves de Oliveira:** Análise Estatística, Aquisição de Financiamento, Conceitualização, Gerenciamento de Recursos, Gerenciamento do Projeto, Metodologia, Redação – Preparação do Original, Redação – Revisão e Edição, Software, Supervisão, Validação, Visualização