



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA  
Dissertação de Mestrado**

**FERNANDA APARECIDA VARGAS DE BRITO E ALVES**

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO T102C DO RECEPTOR DE  
SEROTONINA (*HTR2A*) EM PACIENTES COM FIBROMIALGIA E  
CONTROLES**

**ORIENTADORA: Profa. Dra. Vera Aparecida Saddi**

**GOIÂNIA-GO  
2012**

**FERNANDA APARECIDA VARGAS DE BRITO E ALVES**

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO T102C DO RECEPTOR DE  
SEROTONINA (*HTR2A*) EM PACIENTES COM FIBROMIALGIA E  
CONTROLES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Genética.

**ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. Dra. Vera Aparecida Saddi.**

**GOIÂNIA-GO  
2012**

Alves, Fernanda Aparecida Vargas de Brito e.  
A474a Análise do polimorfismo T102C do receptor de serotonina  
(*HTR2A*) em pacientes com fibromialgia e controles [manuscrito]  
/ Fernanda Aparecida Vargas de Brito e Alves. – 2012.  
57 f. ; il. ; grafs. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de  
Goiás, Pró-reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2012.  
“Orientadora: Profa. Dra. Vera Aparecida Saddi”.

1. Fibromialgia. 2. Genes. 3. Polimorfismo (Genética). I.  
Título.

CDU: 616.72-002.77(043)



**PUC  
GOIÁS**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário  
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010  
Goiânia • Goiás • Brasil  
Fone: (62) 3946.1070 • Fax: (62) 3946.1070  
www.pucgoias.edu.br • prope@pucgoias.edu.br

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM GENÉTICA  
DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS  
DEFENDIDA EM 30 DE JUNHO DE 2012 E APROVADA  
PELA BANCA EXAMINADORA COM CONCEITO...A.....

**BANCA EXAMINADORA**

*Vera Aparecida Saddi*

.....  
Dr<sup>a</sup> Vera Aparecida Saddi  
(presidente-orientadora)

*Renata Bastos Ascenço Soares*

.....  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Renata de Bastos Ascenço Soares  
(membro interno)

*Flávio Monteiro Ayres*

.....  
Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres / UEG  
(membro externo)

Aos meus queridos pais, Solon e Edma, ao meu esposo Aleandro, ao meu amado filho Bernardo e aos meus irmãos Vanessa e Arthur pelo apoio, incentivo e amor incondicional em todos os momentos da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Deus por mais uma vitória, pelas oportunidades que me foram concedidas, pela força, coragem e pela sabedoria que me permite vencer os obstáculos da caminhada.

A minha orientadora professora Vera Saddi, pela dedicação, pelo empenho, sabedoria e conhecimento compartilhado durante todo o programa de mestrado.

Ao professor Antônio Márcio, professor Flávio Ayres e professora Renata de Barros pela colaboração e enriquecimento da presente pesquisa.

Aos meus pais Solon e Edma que mesmo distantes sinto-os sempre próximos, pelas orações, me encorajando e ensinando a nunca esmorecer. Sou grata por todas as oportunidades de aprendizado e conhecimento, pois não mediram esforços.

Ao meu esposo Aleandro sempre ao meu lado me apoiando, pelo amor, companheirismo, dedicação, incentivo, cumplicidade e paciência.

Ao meu filho Bernardo razão da minha vida e uma dádiva de Deus.

Aos meus irmãos Vanessa e Arthur pela presença constante em minha vida, meus eternos amigos e torcedores.

A Tia Gui, Yáskara e Yanuzzy pela prontidão em nos receber.

A Ilza e Vilma que com tanto amor e zelo cuidam do meu filho e da minha casa.

A minha querida avó Andreina pelas orações e pelo carinho.

A todos os amigos e familiares que mesmo distantes torceram por mim e me apoiaram em mais uma conquista.

“Bom mesmo é ir à luta com determinação,  
abraçar a vida e viver com paixão,  
perder com classe e vencer com ousadia,  
pois o triunfo pertence a quem se atreve  
e a vida é muito bela para ser insignificante”.

Charlie Chaplin

## RESUMO

**Introdução:** A Fibromialgia é uma síndrome reumática caracterizada por dor difusa e crônica. A síndrome é crônica com duvidosa possibilidade de cura. A prevalência na população mundial varia de 0,66 a 4,4%. Acredita-se que a fibromialgia seja o resultado de mudanças anormais no processamento sensorial da dor. Neste contexto, inserem-se os polimorfismos do gene T102C do gene do receptor de serotonina HTR2A. O polimorfismo T102C do gene HTR2A consiste na presença de uma timina (T) ou citosina (C), definida por uma transição de um T para C na posição nucleotídica 102. Trata-se de um polimorfismo silencioso do gene do receptor HTR2A, que determinam níveis de expressão gênica diferentes. **Objetivos:** Determinar e comparar a frequência alélica e genotípica do polimorfismo T102C do gene do receptor de serotonina HTR2A em um grupo de 48 mulheres diagnosticadas com fibromialgia e 50 controles saudáveis. **Metodologia:** Para isso foi utilizada a técnica de PCR-RFLP, a partir de DNA extraído de amostras de sangue periférico obtidas do grupo controle e testes. A comparação das frequências alélicas e genotípicas foi feita por meio de teste Chi-quadrado. **Resultados:** Os resultados demonstraram as frequências alélicas obtidas para os dois grupos foram: T (46,9%) e C (53,1%). As frequências genotípicas encontradas foram TT (22,9%); TC (47,9%) e CC (29,2%) para os pacientes com fibromialgia e TT (16%); TC (70%) e CC (14%) para os controles. **Conclusões:** A SFM é composta por múltiplas características que refletem em uma diversidade de causas. Nossos resultados demonstraram que o genótipo CC foi significativamente mais comum nas pacientes com a SFM, justificando parcialmente a menor resposta serotoninérgica observada nesse grupo.

**Palavras-chave:** Gene receptor de serotonina, genes candidatos, síndrome reumática, SNP.



## ABSTRACT

**Introduction:** Fibromyalgia is a syndrome characterized by widespread chronic pain. The syndrome is chronic with dubious possibility of healing. The prevalence in the world population varies from 0,66 to 4,4 %. It is believed that fibromyalgia is the result of abnormal changes in sensory processing of pain. In this context, are inserted gene polymorphisms T102C gene HTR2A serotonin receptor. The HTR2A gene T102C polymorphism is the presence of a thymine (T) or cytosine (C), defined by a transition from T to C at nucleotide position 102. It is a silent polymorphism receptor gene HTR2A, which determine the different levels of gene expression.

**Objectives:** To determine and compare the allele frequency and genotype of the T102C polymorphism of the serotonin receptor gene HTR2A in a group of 48 women diagnosed with fibromyalgia and 50 healthy controls. **Methodology:** For this we used the PCR- RFLP , from DNA extracted from peripheral blood samples obtained from control and testing. The comparison of allele and genotype frequencies was performed by Chi -square test. **Results:** The results showed allele frequencies obtained for both groups were: T (46,9%) and C (53,1%). The TT genotype frequencies were found (22,9%), TC (47,9%) and CC (29,2%) for patients with fibromyalgia and TT (16%), TC (70%) and CC (14%) for controls. **Conclusions:** The FMS is composed of multiple characteristics that reflect a diversity of causes. Our results showed a significantly higher frequency for the CC genotype in patients with FMS, partially explaining the reduced serotonergic response observed in such patients.

**Keywords:** Gene serotonin receptor, candidate genes, rheumatic syndrome , SNP.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Mapa corporal mostra os locais de incidência dos pontos dolorosos ou “*tender points*” no sistema músculo-esquelético. Estes locais devem ser investigados através da palpação digital, com a determinação da pontuação total relativa à dor do paciente.....09
- Figura 2** – Localização cromossômica do gene HTR2A.....11
- Figura 3** – Sistema Serotoninérgico. Os corpos dos neurônios serotoninérgicos estão localizados no tronco cerebral, nos núcleos da rafe. Estes neurônios se projetam para muitas áreas cerebrais como o córtex, os gânglios da base, cerebelo, tálamo, área límbica (hipocampo e amígdalas) e medula espinhal. Os diferentes subtipos de 5-HT têm distribuição específica no cérebro.....21
- Figura 4** – Síntese da 5 HT: A 5-HT é sintetizada a partir do aminoácido triptofano em duas etapas: a hidroxilação do triptofano, para formar 5- hidroxitriptofano, e a descarboxilação subsequente desse intermediário, produzindo a 5-HT. A triptofano hidroxilase é a enzima que limita a velocidade nessa via.....25
- Figura 5** - Regulação pré-sináptica da neurotransmissão da serotonina. A 5-HT é sintetizada a partir do triptofano em uma via de duas reações: a enzima que limita a velocidade é a triptofano hidroxilase. Tanto a 5-HT recém-sintetizada quanto a reciclada são transportadas do citoplasma para o interior de vesículas sinápticas pelo transportador de monoaminas vesicular (VMAT). A neurotransmissão é iniciada por um potencial de ação no neurônio pré-sináptico, que acaba produzindo a fusão das vesículas sinápticas com a membrana plasmática, através de um processo dependente de  $Ca^{2+}$ . A 5-HT é removida da fenda sináptica por um transportador seletivo de 5-HT, bem como por transportadores não-seletivos de recaptção. A 5-HT pode estimular aos auto-receptores HTR1D, proporcionando uma inibição por retroalimentação. A 5-HT citoplasmática é seqüestrada em vesículas sinápticas pelo VMAT ou degradada pelo MAO mitocôndria.....27
- Figura 6** – Gel de poliacrilamida a 8%, corado com nitrato de prata, mostrando bandas de fragmentos gênicos correspondentes aos alelos 102C e 102T. A canaleta (-) representa o controle negativo da amplificação e a última canaleta contem um

padrão de peso molecular de DNA com bandas de 100, 200, 300 e 400 pares de bases, respectivamente.....	36
--	----

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Genes Candidatos em Pacientes com SFM.....	13
<b>Tabela 2</b> - Estudo sobre as frequências genótípicas e alélicas do polimorfismo T102C do gene HTR2A em pacientes com a SFM e controles.....	30
<b>Tabela 3</b> - Frequências alélicas relativas ao polimorfismo T102C do gene HTR2A em pacientes com fibromialgia e controles.....	37
<b>Tabela 4</b> - Comparação entre as frequências genótípicas de pacientes com SFM e controles.....	37

**LISTA DE QUADROS**

- Quadro 1** – Relação dos principais sintomas da SFM nos diferentes sistemas.....05
- Quadro 2** – Critérios de classificação para a SFM de acordo com a ACR (1990)....08

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ACR	Colégio Americano de Reumatologia
ACTH	Adrenocorticotropina
ADRA1A	Alfa-1 adrenérgico
ADRB2	Beta-2 adrenérgico
ASIC3	Canal Iônico de Sensibilidade ao Ácido
ATT	Alfa-1 antripsina
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
COMT	Catecol-O-metiltransferase
CONEP	Conselho Nacional de Ética em Pesquisa
CRER	Centro de Reabilitação e Readaptação Henrique Santillo
DA	Dopamina
DAT	Transportador de Dopamina
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DRD4	Receptor de dopamina D4
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
eNOS	Sintase do óxido nítrico endotelial
EPI	Epinefrina
FDA	Do inglês <i>Food and Drug Administration</i>
HTR1	Receptor 1 de Hidroxitriptamina
HTR2	Receptor 2 de Hidroxitriptamina
HTR3	Receptor 3 de Hidroxitriptamina
HTR4	Receptor 4 de Hidroxitriptamina
HTR5	Receptor 5 de Hidroxitriptamina
HTR6	Receptor 6 de Hidroxitriptamina
HTR7	Receptor 7 de Hidroxitriptamina
HTR2A	Receptor 2A de Hidroxitriptamina
HTR3A	Receptor 3A de Hidroxitriptamina
HTR3B	Receptor 3B de Hidroxitriptamina

HTR1D	Receptor 1D de Hidroxitriptamina
IL-4	Interleucina-4
IMAO	Inibidores de monoaminoxidase
ISRS	Inibidores seletivos de recaptção da serotonina
LSD	Dietilamida do ácido lisérgico
MAO	Monoaminoxidase
MAO-A	Monoaminoxidase A
MAO-B	Monoaminoxidase B
NE	Norepinefrina
NET	Transportador de Norepinefrina
PCR	Reação em Cadeia da
PUC-GO	Pontifícia Universidade Católica de Goiás
P2X4	Receptores Purinérgicos tipo 2X4
P2X5	Receptores Purinérgicos tipo 2X4
RFLP	PolimerasePolimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição
SERT	Transportador de Serotonina
SFC	Síndrome da Fadiga Crônica
SFM	Síndrome da Fibromialgia
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Polimorfismo de Nucleotideo Único
SISNEP	Sistema Nacional de Informações Sobre Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos
TACR1	Receptor de taquiquinina NK1
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TOC	Transtorno obsessivo compulsivo
TPH	Triptofano hidroxilase
TRPV1	Receptor Transitório de Potencial Valinóide Tipo I
VMAT	Transportador de monoaminas vesicular
5-HT	5-hidroxitriptamina
5-HTT	Transportador de 5-hidroxitriptamina

**SUMÁRIO**

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	01
1.1 A Fibromialgia.....	01
1.2 Incidência e Prevalência.....	02
1.3 Fatores Etiológicos.....	03
1.4 Sinais e Sintomas.....	04
1.5 Diagnóstico.....	06
1.6 Possíveis Marcadores Moleculares Associados à Fibromialgia (SFM).....	10
1.7 Vias Serotoninérgicas.....	20
1.7.1 Localização.....	20
1.7.2 Associação da Serotonina à Síndrome Fibromiálgica.....	21
1.8 Mecanismos de Ação da Serotonina .....	23
1.9. Receptores de 5-HT.....	28
1.10 Estudos comparativos do polimorfismo T102C no receptor 5-HT2A em pacientes com fibromialgia.....	29
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	32
2.1 Objetivos Gerais.....	32
2.2 Objetivos Específicos.....	32
<b>3. METODOLOGIA</b> .....	32
3.1 Aspectos Éticos.....	32
3.2 Grupos da Pesquisa.....	33
3.3 Critérios de Inclusão.....	33
3.4 Critérios de Exclusão.....	33
3.5 Procedimentos da Coleta de Sangue Periférico.....	34
3.6 Extração de DNA das amostras de sangue periférico.....	34
3.7 Análise Molecular do Polimorfismo T102C do gene receptor de serotonina HTR2A .....	34
3.8 Análise Estatística.....	35
<b>4. RESULTADOS</b> .....	36
4.1 Descrição dos grupos caso e controle.....	36



4.2 Análises Moleculares.....	36
4.3 Frequências alélicas e genotípicas referentes ao polimorfismo T102C do gene do receptor HTR2A entre populações caso (SFM) e controles.....	37
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>41</b>
<b>7. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>42</b>
<b>8. APÊNDICE.....</b>	<b>52</b>
<b>9. ANEXO.....</b>	<b>57</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 A Fibromialgia

A primeira descrição presente na literatura de um quadro clínico semelhante ao da fibromialgia foi de William Gowers em 1974, que descreveu uma síndrome caracterizada por dor lombar e a presença de dor à palpação de pontos dolorosos localizados. Esse quadro foi denominado fibrosite<sup>1</sup> e considerado um quadro inflamatório adjacente às estruturas sensíveis<sup>2</sup>.

O termo fibromialgia foi descrito pela primeira vez em 1976<sup>3,4</sup> em um editorial na 22ª edição da revista *Rheumatism Review* da *American Rheumatism Association*. Derivou do latim (*fibra*: fibra) e do grego (*mio*: músculo; e *algia*: dor)<sup>4</sup>. É uma síndrome reumática caracterizada por dor difusa e crônica, caracterizada pelo surgimento de pontos dolorosos à palpação, denominados “*tender points*”<sup>5</sup>. Frequentemente está associada à fadiga, insônia, rigidez matinal, perda de memória, tontura, dor muscular generalizada<sup>6</sup>, parestesias de extremidades, sensação subjetiva de edema e distúrbios cognitivos. É freqüente a associação a outras comorbidades, que contribuem com o sofrimento e a piora da qualidade de vida destes pacientes. Dentre as comorbidades mais freqüentes, incluem-se a depressão, a ansiedade, a síndrome da fadiga crônica, a síndrome miofascial, a síndrome do cólon irritável e a síndrome uretral inespecífica<sup>7</sup>.

A síndrome é crônica, com pouca ou nenhuma tendência à cura<sup>5</sup>. Resulta de anormalidades no processamento central de sinais algícos, provavelmente resultantes da combinação de interações entre neurotransmissores, estressores externos, perfis comportamentais, hormônios e sistema nervoso simpático<sup>8</sup>. Em razão da dor e da cronicidade, essa desordem geralmente apresenta efeito negativo na qualidade de vida dos pacientes<sup>9</sup>. No presente estudo, será utilizado o termo Síndrome da Fibromialgia (SFM).

## 1.2 Incidência e Prevalência

A prevalência da SFM na população geral varia de 0,66 a 4,4 %<sup>9</sup>. A patologia é de 10 a 20 vezes mais freqüente em mulheres do que em homens, sendo mais prevalente na faixa dos 35 aos 60 anos, em ambos os sexos<sup>10</sup>. As mulheres são mais acometidas tanto pela SFM como pela dor miofascial em comparação aos homens, mas a percepção da dor relacionada ao gênero é detectada de forma inconsistente<sup>11</sup>.

Vários estudos investigaram a prevalência da SFM em diferentes populações. Um desses estudos, realizado nos Estados Unidos<sup>12</sup>, apresenta uma prevalência de 3,4% em mulheres e 0,5% em homens, com uma relação de aproximadamente 9:1. Comumente a SFM pode se manifestar até os 70 anos e após esta idade diminui ligeiramente a probabilidade de ocorrência. As crianças também estão suscetíveis com taxa de prevalência de 1,2% a 1,4%<sup>13,14</sup>. Para a SFM familiar, pesquisas reportam que a relação sexo masculino/feminino entre os indivíduos afetados foi de 0,8 e 1,5 respectivamente, para o grupo estudado<sup>15</sup>. Menor morbidade é observada na Europa, onde a SFM afeta cerca de 1% de toda a população<sup>8</sup>. Acredita-se que parentes de primeiro grau de pacientes com a SFM estão 8 vezes mais suscetíveis a desenvolver a doença, quando comparados com a população em geral<sup>16</sup>. Em pesquisas realizadas com gêmeos, observou-se que a dor crônica generalizada, na qual se insere a SFM, a hereditariedade é de 48 a 52%<sup>16</sup> e há um componente genético compartilhado com outros distúrbios funcionais como a depressão e a ansiedade<sup>17</sup>.

Em estudo realizado na América Latina, em Minas Gerais, Brasil, observou-se que a SFM é a segunda doença reumática mais comumente encontrada, com prevalência de 2,5% na população, com maior acometimento dos indivíduos do sexo feminino, das quais 40,8% se encontram na faixa etária entre 35 e 44 anos de idade<sup>18</sup>. Pesquisas somente com mulheres na Noruega, constataram que a incidência global da SFM é de 2,6%, e que 3,2% dos indivíduos estão na faixa etária entre 20 a 44 anos e 1,7% com idade  $\geq 45$  anos<sup>19</sup>.

A SFM é o segundo distúrbio osteomuscular com maior incidência na população, precedendo a osteoartrose. Além disso, pode coexistir e afetar o curso de outras doenças reumáticas. Estimou-se que 20% dos pacientes com Artrite Reumatóide e 50% dos pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico apresentam a SFM<sup>20</sup>.

### 1.3 Fatores Etiológicos

Embora seja uma doença reconhecida, a SFM tem sido pesquisada somente há três décadas. A etiologia exata da SFM é desconhecida e nenhum fator isolado pode levar a todos os sintomas da doença. Estresse e patologias clínicas podem desencadear sua manifestação<sup>12</sup>. Acredita-se que a SFM seja o resultado de mudanças anormais no processamento sensorial da dor, a partir de uma interação entre neurotransmissores, estressores externos, fatores comportamentais, hormonais e sistema nervoso simpático<sup>21</sup>.

Uma redução nos níveis de serotonina (5-HT) e de outros neurotransmissores aumenta a sensibilidade a estímulos dolorosos e pode implicar na diminuição do fluxo sanguíneo nos músculos e tecidos superficiais de pacientes com a SFM. Alterações no gene que codifica a proteína recaptadora de serotonina estão associados a fatores de risco de diversas desordens psiquiátricas<sup>22,23</sup>, como a depressão, esquizofrenia, transtorno obsessivo compulsivo, agressividade, alcoolismo e autismo<sup>24</sup>.

Fatores como nascimento prematuro, a exposição ao estresse, a privação materna excessiva e a utilização abusiva de fármacos no período perinatal podem influenciar o desenvolvimento neurobiológico e psicológico, podendo ser causadores de distúrbios semelhantes aos relatados em portadores da SFM. As vias nociceptivas de processamento da dor podem ser alteradas, com um impacto potencial sobre o desenvolvimento da SFM na vida adulta<sup>25</sup>.

Entre mulheres adultas, os distúrbios do sono estão intimamente associados ao risco de desenvolver SFM. Mas, é desconhecido se a insônia se desenvolve como consequência da doença, ou se é causadora do distúrbio. A associação entre

a SFM e os distúrbios do sono apresenta progressão relacionada à idade, com predomínio em pacientes com faixa etária  $\geq 45$  anos<sup>26</sup>.

Presume-se que a exposição de um indivíduo geneticamente predisposto a uma série de agressões ambientais pode levar ao desenvolvimento da SFM<sup>27</sup>. Estudos têm abordado a frequência da síndrome em famílias de pacientes com SFM e sugerem que fatores genéticos e familiares podem desempenhar um papel significativo na sua etiopatogenia<sup>28</sup>.

A SFM é caracterizada por uma herança genética marcante. Há evidências da influência dos polimorfismos dos genes dos sistemas serotoninérgicos, dopaminérgicos e catecolaminérgicos na etiopatogenia da doença. Estes polimorfismos não são específicos para a SFM e são igualmente associados à outras comorbidades<sup>27</sup>.

#### **1.4 Sinais e Sintomas**

O quadro clínico dos pacientes com a SFM freqüentemente é polimórfico. Os pacientes apresentam dor difusa e crônica, envolvendo o esqueleto axial e periférico. É comum a dificuldade de localização da dor, muitas vezes apontando regiões peri-articulares, com inespecificidade da origem, se muscular, óssea ou articular. O caráter da dor é bastante variável, podendo ser em queimação, em pontada, sensação de peso, “tipo cansaço” ou como uma contusão. Há relatos de exacerbação dos sintomas relacionados ao frio, umidade, esforço físico, tensão emocional e mudança climática<sup>28</sup>.

A SFM pode estar associada à fadiga, insônia, rigidez matinal, perda de memória, tontura, dor muscular generalizada<sup>29</sup>, parestesias de extremidades, sensação subjetiva de edema, particularmente de mãos, antebraços e trapézios<sup>30</sup> e distúrbios cognitivos. Dentre esta multiplicidade de sintomas, ainda é possível evidenciar cefaléias, zumbido, dor torácica atípica, palpitação, dor abdominal, constipação, diarreia, dispepsia, tensão pré-menstrual, urgência miccional, dificuldade de concentração, falta de memória, dentre outros sintomas relatados<sup>31</sup>.

No quadro 1 são apresentados os principais sintomas da SFM relacionados aos diferentes sistemas.

**Quadro 1.** Associação dos sintomas e sensações dolorosas vivenciados por muitos pacientes com a SFM<sup>32</sup>.

---

**Gastrointestinal**

Síndrome do cólon irritável

Hérnia de hiato

Refluxo gastroesofágico

Diarréia

Constipação Intestinal

Plenitude abdominal

**Genitúário**

Freqüência miccional

Incontinência urinária

Desconforto no assoalho pélvico

Cistite Intersticial

**Neurológico**

Cefaléias

Alterações Cognitivas

Ataxia

Parestesias

Síndrome das pernas inquietas

**Evidências Laboratoriais**

Não há exames específicos para os sintomas

**Psicológicos**

Depressão

Ansiedade

Culpa

Raiva

Frustração

Distúrbios do sono

Incapacidade de concentração

Dependência

**Diversos**

Aumento do índice de massa corpórea

Fadiga

Astenia

Descondicionamento

Edema de membros inferiores

Disfunção temporomandibular

Fenômeno de Raynaud

Rigidez matinal

---

## 1.5 Diagnóstico

Apesar do elevado número de estudos, não são relatados métodos diagnósticos ou tratamentos eficazes para essa doença<sup>33</sup>. Seu diagnóstico é puramente clínico e baseado na história clínica do paciente, onde os exames laboratoriais normalmente apresentam-se sem alterações significativas<sup>34</sup>. Eventuais exames subsidiários podem ser solicitados apenas para diagnóstico diferencial. A completa compreensão da SFM requer uma avaliação abrangente da dor, da função e do contexto psicossocial<sup>35</sup>.

Além da dor, é importante avaliar a gravidade dos outros sintomas como fadiga, distúrbios do sono, do humor, da cognição e o impacto destes sobre a qualidade de vida do paciente<sup>11</sup>. Os diagnósticos diferenciais que geralmente são considerados no espectro da SFM são doenças somatoformes, especialmente o distúrbio de somatização e o distúrbio de dor<sup>5</sup>.

Em muitos indivíduos que apresentam SFM ou dor neuropática, sendo esta última consequência de uma lesão direta no nervo ou de danos neurais ao tecido, a doença resulta em um processamento sensorial anormal. A dor neuropática associa-se ainda aos critérios diagnósticos para os principais transtornos depressivos. Os indivíduos com SFM, seguidos dos que apresentam transtornos depressivos, apresentam riscos significativos de desenvolverem alterações psiquiátricas<sup>36</sup>. A depressão e a ansiedade, em geral, estão entre as comorbidades mais comuns da SFM, com taxas de prevalência variando de 20 a 80% e de 13 a 63,8%, respectivamente<sup>37</sup>. A SFM pode ser associada a 25% das artrites reumatóides, 30% dos lúpus eritematosos sistêmicos e 50% das síndromes de Sjögren<sup>5</sup>.

A fisiopatologia das disfunções relacionadas à SFM inclui o comprometimento do sistema neuroendócrino, na resposta ao estresse e alterações na função dos neurotransmissores e ainda na conectividade e estrutura cerebral<sup>25</sup>. O modelo fisiopatológico que melhor descreve a SFM parte da observação de que o aparecimento dos sintomas dolorosos ocorre de forma geralmente espontânea, simétrica e num sentido craniocaudal, contrariando a hipótese de lesões periféricas

e sugerindo uma origem nervosa central para a síndrome<sup>38,39</sup>. O único achado clínico importante é a presença de sensibilidade dolorosa em determinados sítios anatômicos, chamados de *tender points* (Figura 1). Estes “pontos dolorosos” não são geralmente conhecidos pelos pacientes e normalmente não se situam na zona central de dor por eles referida<sup>5</sup>.

Do ponto de vista diagnóstico, a obtenção de informações sobre a dor generalizada e posterior avaliação para indicar pontos sensíveis é pertinente<sup>8</sup>. Segundo os critérios do *American College of Rheumatology* (ACR) de 1990, o diagnóstico da SFM baseia-se na avaliação de no mínimo de 11 pontos dolorosos dos 18 pontos específicos (Tabela 2), por meio de dígito-pressão<sup>5</sup>, com relato de dor local e generalizada com duração de pelo menos 3 meses<sup>29, 40</sup>. Pacientes com dor crônica generalizada apresentam limiar de dor mais baixo e maior quantidade de pontos dolorosos<sup>29,41</sup>, se comparados à pacientes saudáveis. Os diagnósticos diferenciais, que geralmente são considerados na SFM, são as doenças somatoformes, especialmente o distúrbio de somatização e o distúrbio de dor<sup>5</sup>.



**Quadro 2** – Critérios de classificação para SFM de acordo com o ACR (1990)<sup>29</sup>.

---

**A.** Relato de dor generalizada (em todos os itens abaixo):

1. Dor no lado esquerdo do corpo
2. Dor no lado direito do corpo
3. Dor acima da cintura
4. Dor abaixo da cintura
5. Dor na região axial (coluna cervical, parte anterior do tórax, coluna torácica ou na região lombossacra)

---

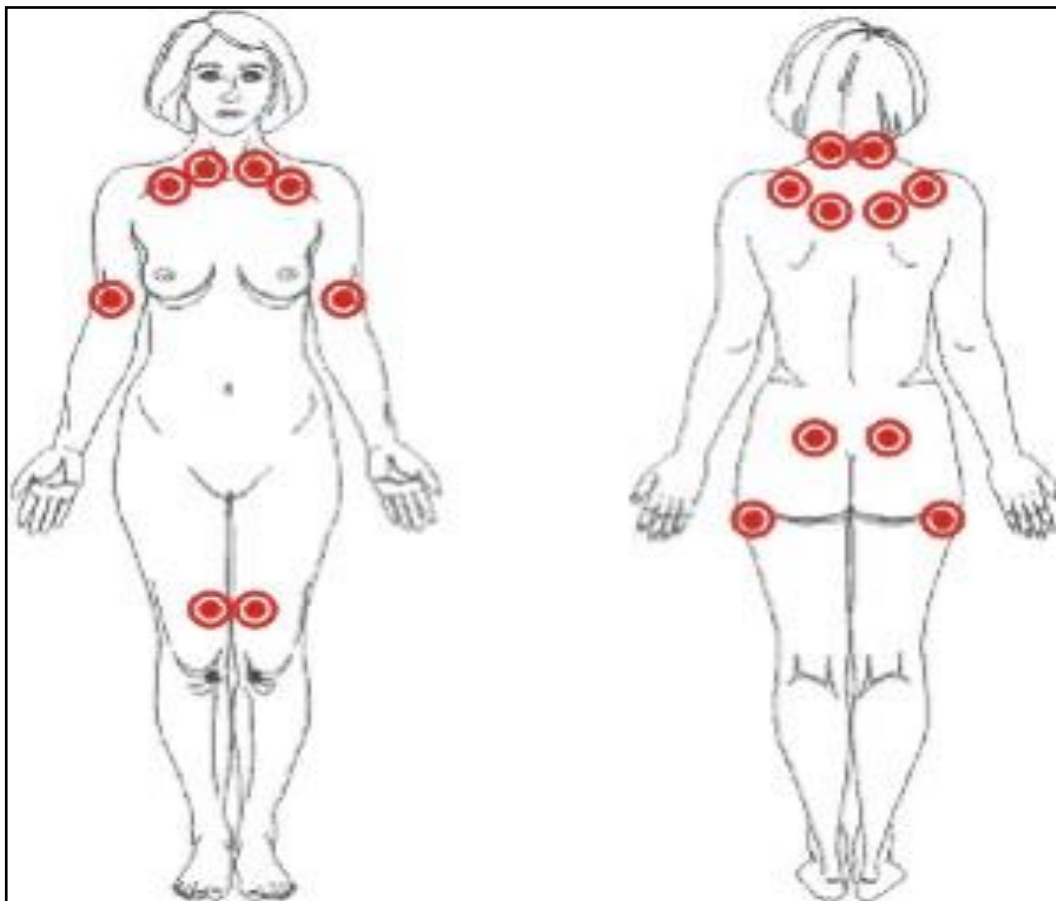
**B.** Dor induzida por pressão digital em pontos dolorosos, a dor deverá ser relatada em pelo menos 11 dos 18 pontos que seguem:

1. Região occipital: ambos os lados, inserções dos músculos suboccipitais
2. Parte inferior da coluna cervical: ambos os lados, localizada na região anterior dos processos transversos de C5-C7
3. Músculo Trapézio: ambos os lados, região interna da borda superior
4. Músculo supra-espinhal: ambos os lados, origem e acima da espinha da escápula
5. Segunda costela: ambos os lados, superfície lateral superior da segunda junção costochondral
6. Epicôndilo lateral: ambos os lados, 2 cm distal a partir dos epicôndilos
7. Músculo glúteo: ambos os lados, região superior, prega anterior do músculo
8. Trocânter maior: ambos os lados, posterior à proeminência trocantérica
9. Articulação do joelho: ambos os lados, próximo ao côndilo medial

---

*Para efeitos de classificação, os critérios de avaliação A e B deverão ser cumpridos e a dor generalizada persistir por pelo menos 3 meses. A palpação digital deverá ser realizada com uma pressão digital de aproximadamente 4 Kg<sup>29</sup>.*

---



**Figura 1.** Mapa corporal mostra os locais de incidência dos pontos dolorosos ou “*tender points*” no sistema músculo-esquelético. Estes locais devem ser investigados através da palpação digital, com a determinação da pontuação total relativa à dor do paciente. (Adaptado: Sociedade Brasileira de Reumatologia, 2004<sup>42</sup>).

Atualmente existem 3 drogas aprovadas pela FDA (*Food and Drug Administration*) para a SFM, incluindo a pregabalina (*Lyrica; Pfizer, Inc*), a duloxetina

(*Cymbalta, Eli Lilly e Cia*) e o Milnacipran (*Savella; Forest Laboratories e Cypress Bioscience*)<sup>43</sup>.

Para a modalidade de tratamento não farmacológico, são utilizados exercícios aeróbicos, tratamento fisioterapêutico, tratamento comportamental cognitivo, terapias manuais e acupuntura<sup>44</sup>. Acredita-se que exercícios aeróbicos podem estimular sistemas analgésicos endógenos<sup>45</sup>, melhorando a qualidade do sono e proporcionando bem estar físico e mental<sup>46</sup>.

### **1.6 Possíveis Marcadores Moleculares Associados à Fibromialgia (SFM)**

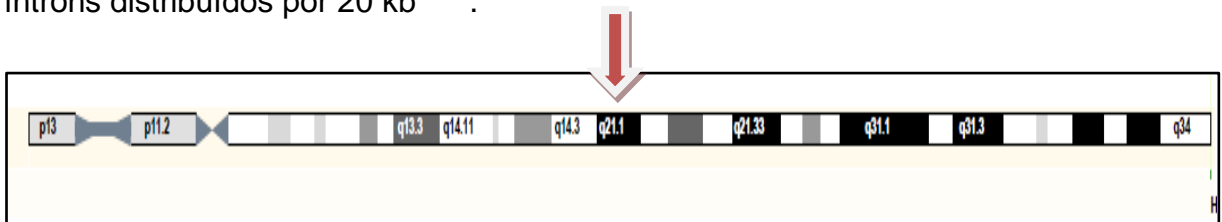
Os marcadores moleculares compreendem pequenas regiões do DNA que apresentam polimorfismo entre os indivíduos de uma espécie. Os polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) constituem o tipo de variação mais comum do genoma humano. Conceitualmente, SNPs correspondem às posições onde ocorrem duas bases alternativas consideráveis na população humana, acima de 1%. Embora muitas vezes não haja uma relação direta entre SNPs e o aparecimento de doenças, um número crescente de polimorfismos tem sido identificados com envolvimento nas bases moleculares de doenças genéticas. Além disso, os SNPs podem ser usados como marcadores genéticos úteis em estudos de desequilíbrio de ligação, clonagem posicional, construção de mapas genéticos, associação com doenças comuns cujo componente genético é mais complexo, como doenças cardiovasculares, auto-imunes e psiquiátricas, e no entendimento das variações fenotípicas entre os indivíduos em relação à propensão às doenças, resistência à exposição a agentes tóxicos e resposta a tratamentos diversos<sup>47</sup>.

No que diz respeito à SFM, dezenove genes candidatos foram estudados até o momento. Os genes associam-se principalmente aos aspectos da neurotransmissão, incluindo enzimas envolvidas na síntese de neurotransmissores, sistemas de recaptação e degradação, além de receptores específicos dos neurotransmissores (Tabela 2).

O gene mais estudado em pacientes com SFM é o que codifica a COMT, a catecol-O-metiltransferase, uma enzima que degrada neurotransmissores

catecolaminérgicos, incluindo epinefrina, dopamina e norepinefrina<sup>48</sup>. A variante alélica V158M está implicada na redução substancial da atividade enzimática da COMT e à sua maior termolabilidade<sup>48</sup>. O SNP V158M da COMT foi investigado em vários estudos. Associações significativas entre a SFM e este SNP foram observadas em populações de Israel<sup>49</sup>, da Espanha<sup>50,51</sup> e do México<sup>51</sup>, sendo que nestas duas últimas, outros polimorfismos também foram analisados como rs6269, rs4633, rs4818, rs20907 e todos apresentaram associação com a SFM<sup>51</sup>. Porém, associações significativas não foram detectadas em populações da Noruega<sup>52</sup> e da Turquia<sup>53</sup>.

Outro gene bastante estudado em pacientes com SFM é o *HTR2A* (*hydroxytryptamine receptor 2A*) que codifica um dos receptores da 5-hidroxitriptamina (5-HT), um neurotransmissor também conhecido como serotonina e que apresenta múltiplas funções. Mutações no gene *HTR2A* estão associadas com a susceptibilidade à SFM, à esquizofrenia e ao transtorno obsessivo compulsivo (TOC), dentre outras. Variações genéticas na região regulatória do gene *5-HT2A* podem contribuir para mudanças em sua expressão. *HTR2A* está localizado no braço longo do cromossomo 13 (13q14-q21) (figura2) e contém três éxons e dois íntrons distribuídos por 20 kb<sup>54,55</sup>.



**Figura 2:** Localização cromossômica do gene *HTR2A* (Fonte: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/LocusLink/>).

Dentre vários polimorfismos genéticos investigados em pacientes com a SFM, associações significativas foram detectadas entre os genes receptores alfa-1-adrenérgicos (*ADRA1A*)<sup>56</sup>, receptores beta-2-adrenérgicos (*ADRB2*)<sup>56</sup>, gene do receptor de dopamina D4 (*DRD4*)<sup>57</sup>, gene da enzima monoaminoxidase (MAO-A)<sup>58</sup>,

gene do inibidor de protease (SERPINA1) e do gene transportador de serotonina (SLCA4, polimorfismo *5-HTTLRP*)<sup>59</sup>.

Polimorfismos dos genes dos receptores de serotonina 3A (*HTR3A*)<sup>60</sup>, receptor de serotonina 3B (*HTR3B*)<sup>60</sup>, receptor de dopamina 3D (*DRD3*)<sup>61</sup>, transportador de dopamina (DAT)<sup>62</sup>, monoaminoxidase-B (MAO-B)<sup>58</sup>, sintase do óxido nítrico endotelial (e NOS)<sup>63</sup>, receptor de taquiquinina NK1 (*TACR1*)<sup>62</sup>, alfa-1 antitripsina (ATT)<sup>62</sup>, do gene interleucina-4 (IL-4)<sup>64</sup> e do gene polimorfismo *5-HTTLPR* - VNTR do íntron 2 (*SLC6A4*)<sup>67</sup> também foram investigados, porém, não foram detectadas associações significativas entre estes marcadores e a SFM (Tabela 3).

Outro polimorfismo bastante estudado em pacientes com a SFM é o T102C do gene *HTR2A*. Dois estudos observaram uma maior proporção do genótipo 102TT em pacientes com SFM, associando também este fenótipo com os maiores escores de dor na SFM<sup>66,67</sup>. Entretanto, em outros três estudos, associações entre polimorfismo T102C e a SFM não foram detectadas<sup>21,53,68</sup>.

Uma série de estudos sobre genes candidatos à SFM tem sido publicados com amostras relativamente pequenas, portanto há escassez de dados sobre a associação de polimorfismos dos genes candidatos<sup>69</sup>.

**Tabela 1.** Genes Candidatos em Pacientes com SFM<sup>51,70</sup>.

GENE	MARCADOR GENÉTICO	Nº DE CASOS	Nº DE CONTROLES	SEXO	ETNIA	RESULTADOS	REFERÊNCIAS
COMT (Catechol-O-metiltransferase)	rs4680 (V158M)	1529	1488	M/F	Noruega	Não apresenta associação.	[52]
COMT	rs4680 (V158M)	46	40	M/F	Espanha	Genótipos mais freqüentes nos pacientes com SFM e no grupo controle: MM e VM.	[50]
COMT	rs4680 (V158M)	50	51	M/F	Brasil	Genótipos mais freqüentes em pacientes com SFM e do grupo controle: L/L	[21]
COMT	rs4680 (V158M)	209	152	F	Israel	Houve menor freqüência do alelo M no grupo controle.	[49]
COMT	rs4680 (V158M)	80	91	F	Turquia	Não houve associação. Genótipos ligeiramente mais freqüentes A/G tanto em pacientes com SFM, quanto em pacientes do grupo controle.	[53]
COMT	rs4680 (V158M)	57	33	F	México	Genótipo AG mais freqüente em pacientes com SFM, e genótipo GG com maior freqüência no grupo controle, em pacientes do México.	[51]
		78	80		Espanha	Genótipo AG mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes da Espanha	

COMT	rs6269	57	33	F	México	Genótipo AA mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes do México. Genótipo AG mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes da Espanha.	[51]
		78	80		Espanha		
COMT	rs4633	57	33	F	México	Genótipo CT mais freqüente em pacientes com SFM, e genótipo CC com maior freqüência no grupo controle em pacientes do México. Genótipo CT mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes da Espanha.	[51]
		78	80		Espanha		
COMT	rs4818	57	33	F	México	Genótipo CC mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes do México. Genótipo CG mais freqüente em pacientes com SFM, e genótipo GG mais freqüente em grupo controle em pacientes da Espanha.	[51]
		78	80		Espanha		
COMT	rs20907	57	33	F	México	Genótipo AA mais freqüente em pacientes com SFM, e genótipos AA e AG com a mesma freqüência em pacientes do grupo controle. Genótipo AG maior freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto em pacientes do grupo controle em pacientes da Espanha.	[51]
		78	80		Espanha		
<b>HTR2A (Hidroxitriptamina receptor 2A)</b>	<b>T102C</b>	<b>168</b>	<b>115</b>	<b>M/F</b>	<b>Alemanha</b>	<b>Genótipo 102TT com reduzida expressão; Genótipo 102TT associou-se a maiores escores de dor.</b>	<b>[66]</b>
<b>HTR2A</b>	<b>T102C</b>	<b>58</b>	<b>58</b>	<b>F</b>	<b>Turquia</b>	<b>Não apresentou associação. Genótipo 102TT associado ao limiar de dor mais baixo.</b>	<b>[68]</b>

HTR2A	T102C	80	91	F	Turquia	Não apresentou associação.	[53]
HTR2A	T102C	34	36	F	Alemanha	Genótipo 102TT com expressão diminuída em pacientes com a SFM; Genótipo 102TT apresentou maiores escores de dor.	[67]
HTR2A	T102C	51	51	M/F	Brasil	Não apresentou associação significativa.	[21]
HTR3A	Múltiplos SNPs	48	62	M/F	Caucasiano	Não apresenta associação.	[60]
HTR3B	Múltiplos SNPs	48	62	M/F	Caucasiano	Não apresenta associação.	[60]
ADRA1A (receptor alfa-1 adrenérgico)	rs574584	78	48	F	México Espanha	Genótipo AA mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes do México. Genótipo AA mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes da Espanha.	[56]
ADRA1A	rs1383914	78	48	F	México Espanha	Genótipo AG mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle. Genótipo AG mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes da Espanha	[56]
ADRA1A	rs1048101	78	48	F	México	Genótipo CT mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes do México. Genótipo CT mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo	[56]



					Espanha	controle em pacientes da Espanha.	
ADRA1A	rs573542	78	48	F	México	Genótipo AA mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes do México.	[56]
					Espanha	Genótipo AA mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes da Espanha.	
ADRB2 (receptor beta-2 adrenérgico)	rs1042713	78	48	F	México	Genótipo AG mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes do México.	[56]
					Espanha	Genótipo AG mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes da Espanha.	
ADRB2	rs1042714	78	48	F	México	Genótipo CC mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes do México.	[56]
					Espanha	Genótipo CC mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle.	
ADRB3 (receptor beta-3 adrenérgico)	rs4994	78	48	F	México	Genótipo TT mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes do México.	[56]
					Espanha	Genótipo TT mais freqüente tanto em pacientes com SFM, quanto no grupo controle em pacientes da Espanha.	
DRD3	Ser9Gly	37	36	F	Canadá	Genótipo ser-ser e ser-gly com maior freqüência em pacientes com SFM e gly-gly com maior freqüência no grupo controle.	[61]
DRD4 (receptor de dopamina D4)	VNTR no éxon 3	81	458	F	Israel	7 repetições DRD.	[57]

DAT (transportador de dopamina)	VNTR	87	200	F	Israel	Não apresenta associação.	[62]
MAO A (Monoaminoxidase)	rs6323	62	101	M/F	Taiwan	Não apresenta associação.	[64]
MAO A	Promotor VNTR	107	90	F	Turquia	Não houve diferença significativa. Há probabilidade do alelo 3 estar associado ao fator de risco.	[99]
MAO A	G941T	62	101	M/F	Taiwan	Genótipo TG mais frequente em pacientes com SFM e no grupo controle.	[54]
MAO B	Íntron 13 G/A	107	90	F	Turquia	Não houve diferença significativa. Há probabilidade do alelo 3 estar associado ao fator de risco.	[58]
IL-4 (Interleucina-4)	VNTR do íntron 3	62	101	M/F	Taiwan	Não houve diferença significativa, predomínio ligeiramente maior do genótipo T/G.	[64]
e NOS3 (Sintase do óxido nítrico endotelial)	Glue298Asp (G894T)	96	79	F	Turquia	Não apresenta associação.	[63]
TACR1 (Receptor da substância P)	G1354C	87	200	F	Israel	Não apresenta associação.	[62]
ATT (alfa-1)						Não apresenta associação.	

antripsina)	E342K	87	200	F	Israel		[62]
SERPINA1 (inibidor de protease)	AT-PI	238	111	M/F	Espanha	Aumento da frequência Pi*Z.	[71]
SLC6A4 (transportador de serotonina)	5-HTTLPR	62	110	M/F	Alemanha	Aumento da frequência do genótipo SS (5HTTPLR).	[72]
SLC6A4	5-HTTLPR, 17 bp VNTR no intron 2	53	60	F	Turquia	Não apresenta associação.	[59]
SLC6A4	5-HTTLPR	99	559	F	Israel/Árabia	5HTTLPR (aumento significativo na frequência do genótipo SS em ambas as etnias) .	[65]

Em pesquisa realizada com marcadores moleculares na Síndrome da Fadiga Crônica (SFC) foi relatado que 25 minutos de exercício moderado aumenta a expressão dos genes do sistema metabólico, adrenérgico e imunológico em pacientes com SFM e SFC quando comparados ao grupo controle<sup>73</sup>. O aumento da expressão gênica leva conseqüentemente, ao aumento no número de receptores de metabólitos, ocasionando dor muscular aguda e fadiga crônica<sup>73</sup>. Foram pesquisados os receptores do Canal Iônico de Sensibilidade ao Ácido (ASIC3), os Receptores Purinérgicos tipo 2X (P2X4, P2X5), e o Receptor Valinóide do tipo I de Potencial Transitório (TRPV1)<sup>72</sup>.

Dois estudos<sup>74,75</sup>, sugeriram que a SFM familiar apresenta um modelo de herança autossômica dominante. Um deles<sup>73</sup> mostrou preponderância do sexo feminino, e mostrou a existência de uma fase latente, caracterizada por consistência muscular anormal à palpação. Este estudo demonstrou que 70% dos filhos de pacientes com SFM são afetados, uma taxa que excede consideravelmente o esperado a partir da herança autossômica dominante (50%) e sugere diagnósticos diferenciais para a síndrome. Outro estudo com 40 famílias com múltiplos casos confirmou a existência de um possível gene para a SFM, que está relacionada com a região HLA, porém apresentando uma fraca associação<sup>76</sup>.

Em análise de 58 filhos de 20 mães com a SFM, 16 filhos (28%) apresentaram a SFM. A razão homem/mulher entre as pessoas afetadas foi de 0,8% e 1,5% respectivamente<sup>23</sup>. Em outro estudo, foram analisadas 30 mulheres com a SFM e 117 parentes próximos como pais, irmãos, irmãs, filhos e maridos<sup>77</sup>. A prevalência foi de 26% entre os parentes, comparado a 19% entre seus maridos. A correlação com o gênero foi de 14% para o sexo masculino e 41% para o sexo feminino<sup>77</sup>.

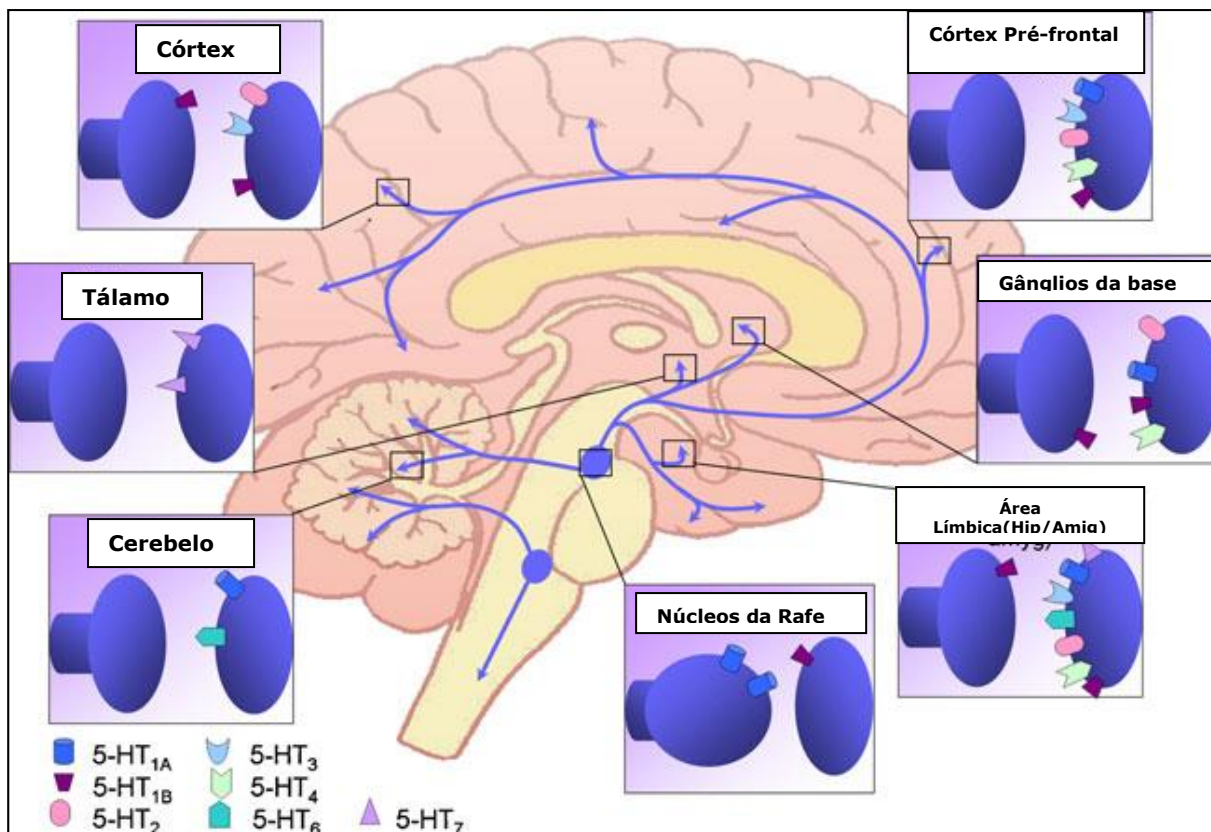
Estudos analisaram variações genéticas na região promotora do gene transportador de serotonina (5-HTT) em 62 pacientes com SFM e 110 controles saudáveis. Uma maior frequência do genótipo S/S foi encontrada em pacientes com SFM (31%) em comparação com controles saudáveis (16%). O subgrupo S/S apresentou maiores níveis de depressão e alterações psíquicas. Os resultados denotam alteração no metabolismo da 5-HT em pelo menos um subgrupo de pacientes com SFM<sup>72</sup>.

O modo de herança da SFM é desconhecido, mas sugere-se que seja poligênica. Fatores ambientais como trauma mecânico e trauma emocional podem desencadear o desenvolvimento da SFM em indivíduos geneticamente predispostos<sup>78</sup>.

## **1.7 As Vias Serotoninérgicas**

### **1.7.1 Localização**

Os corpos celulares dos neurônios contendo 5-HT estão concentrados na ponte e na parte superior do bulbo, próximos aos núcleos da rafe mediana. Os núcleos situados anteriormente projetam-se difusamente para o córtex, hipocampo, núcleos da base, sistema límbico e hipotálamo<sup>79</sup>. As células que estão localizadas caudalmente se projetam para o cerebelo, bulbo e medula espinhal<sup>79</sup> (Figura 3).



**Figura 3:** Sistema Serotoninérgico. Os corpos dos neurônios serotoninérgicos estão localizados no tronco cerebral, nos núcleos da rafe. Estes neurônios se projetam para muitas áreas cerebrais como o córtex, os gânglios da base, cerebelo, tálamo, área límbica (hipocampo e amígdala) e medula espinhal. Os diferentes subtipos de 5-HT têm distribuição específica no cérebro<sup>80</sup>.

### 1.7.2 Associação da Serotonina à Síndrome Fibromiálgica

Estudos sobre os receptores de 5-HT como possíveis transmissores do sistema nervoso central (SNC) iniciaram em 1953, quando foi descoberta a dietilamida do ácido lisérgico (LSD), um fármaco alucinógeno, com função antagonista da 5-HT nos tecidos periféricos, sugeriu-se que seus efeitos centrais poderiam também estar relacionados a esta função<sup>24,81</sup>.

A 5-HT está possivelmente envolvida na função neuroendócrina e nos ritmos circadianos. É um dos muitos neurotransmissores que participam do controle hipotalâmico da glândula pituitária, particularmente na regulação da adrenocorticotropina (ACTH), prolactina e secreção do hormônio de crescimento. Ações da serotonina nos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>4</sub> parecem

estar envolvidos nos efeitos sobre o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal<sup>28</sup>. Outras possíveis funções atribuídas a 5-HT estão associadas às várias funções anatômicas e endócrinas, como a regulação da temperatura corporal, da pressão sanguínea e da função sexual<sup>82</sup>.

Papel relevante na função normal do cérebro é atribuído a 5-HT, onde modula respostas comportamentais, o controle do humor e das emoções, o comportamento alimentar, o controle do sono/despertar, o controle da memória, dos vômitos e das vias sensitivas<sup>83</sup>. Disfunções das vias serotoninérgicas são traduzidas em alterações globais de atenção, alucinações, alterações comportamentais, do sono, vigília, humor, comportamento alimentar, além do controle de transmissão sensorial, como das sensações dolorosas<sup>84</sup>.

Substratos funcionais para a hipótese de percepção dolorosa de pacientes com a SFM incluem a elevação da concentração de substância P e os distúrbios metabólicos do metabolismo da 5-HT<sup>6</sup>. A substância P é neuropeptídeo da família das taquicininas, um neurotransmissor nociceptivo responsável entre outras funções, pela modulação e sensação de dor e liberado em resposta a estímulos dolorosos mecânicos. A liberação aumentada da substância P é influenciada pelos baixos níveis de 5-HT<sup>6</sup>.

Métodos quantitativos de testes sensoriais têm identificado anormalidades na percepção da dor pelos pacientes com a SFM, apresentando baixo limiar de dor em comparação a controles saudáveis<sup>85</sup>. As vias descendentes inibitórias de dor, que partem de estruturas do tronco encefálico para os diversos níveis segmentares de medula, também parecem estar envolvidas na fisiopatologia da SFM. Este processamento anormal da dor pode estar associado às alterações do metabolismo da 5-HT, que implicam na redução da atividade do Sistema Inibidor de Dor, com uma conseqüente elevação da resposta dolorosa frente a estímulos algio gênicos, ou mesmo, o aparecimento de dor espontânea. Os principais neurotransmissores envolvidos no funcionamento do Sistema Inibidor de Dor são a 5-HT e noradrenalina ao nível do tronco encefálico e as dinorfinas e encefalinas a nível segmentar medular<sup>6</sup>. Em pacientes com SFM, níveis reduzidos de 5-HT foram detectados no líquido e soro, assim como os níveis dos seus precursores<sup>28,86</sup>. O mesmo foi observado com os níveis de receptores plaquetários e séricos para essa substância.

Outra hipótese para a reduzida atividade da 5-HT em pacientes com a SFM é que seus receptores apresentem algum tipo de diferença funcional<sup>85</sup>.

Polimorfismos do gene codificador de receptores para 5-HT foram identificados em pacientes com a SFM<sup>6</sup>, indicando mais uma evidência de disfunção na resposta a estímulos dolorosos, além de constituir uma explicação para o habitual agrupamento familiar de pacientes portadores de dor crônica, generalizada ou não<sup>74,76,77</sup>. Estudos de pacientes com evidência de dor demonstram que o polimorfismo do gene receptor *HTR2A* pode influenciar nas diferenças individuais de sensibilidade à dor<sup>15</sup>.

Algumas drogas de amplo uso terapêutico exercem sua função analgésica através da via serotoninérgica. Outros fármacos utilizados no tratamento da dor crônica têm como mecanismo de ação a inibição ou bloqueio da recaptação da serotonina e noradrenalina. Os antidepressivos são os principais representantes deste grupo de drogas e alguns possuem uma ação mais seletiva sobre a recaptação da 5-HT, os inibidores seletivos de recaptação da serotonina (ISRS)<sup>85</sup>.

## 1.8 Mecanismo de Ação da Serotonina

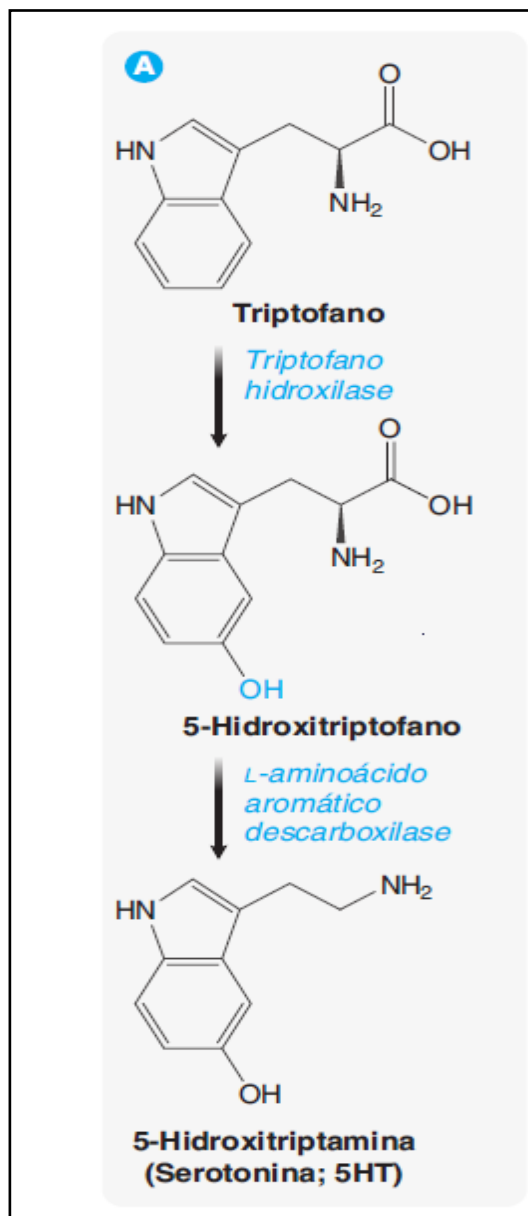
A 5-HT tem efeito inibidor juntamente com um efeito modulador geral da atividade psíquica. Assim, a 5-HT influencia quase todas as funções cerebrais, inibindo ou estimulando o sistema GABAérgico. É dessa forma que a 5-HT regula o humor, o sono, a atividade sexual, o apetite, o ritmo circadiano, as funções neuroendócrinas, a temperatura corporal, a sensibilidade à dor, a atividade motora e as funções cognitivas<sup>87</sup>.

As projeções serotoninérgicas para a medula espinal estão envolvidas na percepção da dor, regulação visceral e controle motor, enquanto as projeções para o prosencéfalo são importantes na modulação do humor, na cognição e na função endócrina<sup>88</sup>. A liberação de 5-HT ocorre primariamente através de varicosidades. Ao contrário das sinapses, que formam contatos firmes com neurônios-alvo específicos, as varicosidades liberam grandes quantidades de neurotransmissor a partir de vesículas presentes no espaço extracelular, estabelecendo gradientes de concentração de neurotransmissor nas áreas de projeção das varicosidades<sup>80</sup>.



As células que contêm 5-HT nos núcleos da rafe projetam-se amplamente através do córtex cerebral, enquanto a dopamina apresenta um padrão mais focado de projeções. Cada um desses sistemas possui auto-receptores pré-sinápticos proeminentes, que controlam as concentrações locais de transmissores<sup>89</sup>. Essa auto-regulação resulta em uma descarga coordenada, produzindo ondas espontâneas e sincrônicas de atividade, que podem ser medidas como frequências de descarga. Por exemplo, as células nos núcleos da rafe habitualmente apresentam descargas numa taxa de 0,3 a 7 picos por segundo. Como a frequência de descarga não se modifica rapidamente, a quantidade de transmissor liberado em cada descarga é razoavelmente bem conservado, e a concentração de neurotransmissor nas proximidades das varicosidades é mantida dentro de uma estreita faixa<sup>90</sup>.

A 5-HT é sintetizada a partir do aminoácido triptofano. A enzima triptofano hidroxilase (TPH) converte o triptofano em 5-hidroxitriptofano. A seguir, a L-aminoácido aromático descarboxilase converte o 5-hidroxitriptofano em serotonina (Fig. 4). Essas enzimas são encontradas no citoplasma dos neurônios serotoninérgicos, tanto no corpo celular quanto nos processos celulares. A 5-HT é concentrada e armazenada no interior de vesículas localizadas nos axônios, corpos celulares e dendritos<sup>80</sup>. O ciclo metabólico da serotonina envolve a sua síntese, captação em vesículas sinápticas, exocitose, recaptação na fenda sináptica e, a seguir, degradação. Pode ocorrer regulação dos níveis de neurotransmissão da 5-HT em qualquer uma dessas etapas<sup>90,88</sup>.



**Figura 4.** Síntese da 5-HT: A 5-HT é sintetizada a partir do aminoácido triptofano em duas etapas: a hidroxilação do triptofano, para formar 5-hidroxitriptofano, e a descarboxilação subsequente desse intermediário, produzindo a 5-HT. A triptofano hidroxilase é a enzima que limita a velocidade nessa via<sup>90</sup>.

A 5-HT é estritamente regulada por retroalimentação inibitória, por meio de auto-receptores. Os auto-receptores pré-sinápticos de 5-HT respondem a aumentos locais das concentrações de 5-HT através de sinalização de proteínas G inibitórias, o que leva a uma redução dos níveis de AMPc, resultando em atividade diminuída da proteína cinase A e da cálcio-CaM cinase II. Como a fosforilação da TPH aumenta a sua atividade, a redução da atividade da cinase resulta em síntese diminuída de 5-HT<sup>90</sup>. Essa alça de auto-regulação pode fornecer uma explicação para o tempo de ação observado para os antidepressivos<sup>88</sup>.

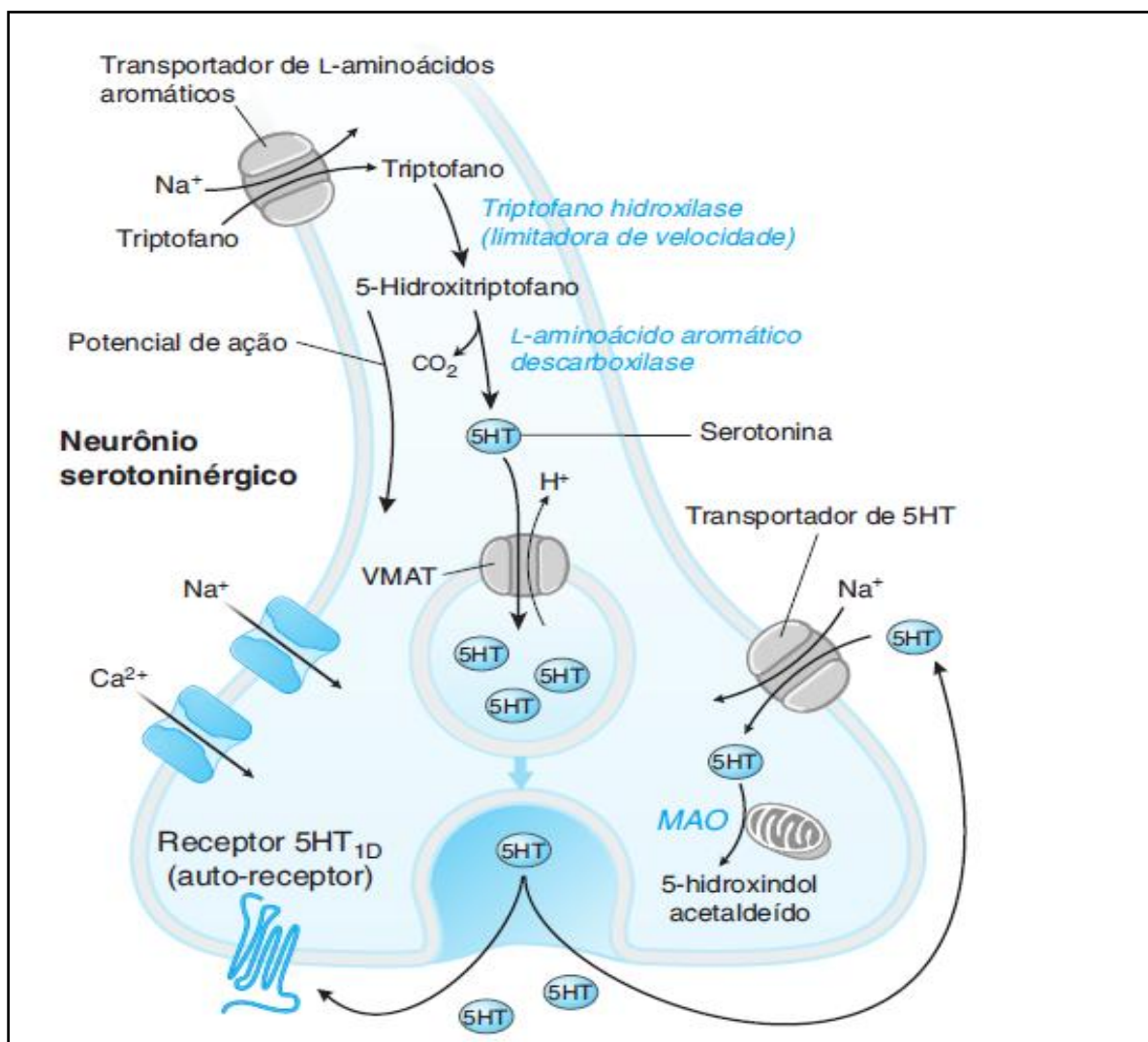
A 5-HT é transportada em vesículas por intermédio do transportador de monoaminas vesicular (VMAT, *vesicular monoamine transporter*). Este é um transportador inespecífico de monoaminas, que é importante no acondicionamento vesicular da dopamina (DA) e da epinefrina (EPI), bem como da 5-HT. A reserpina liga-se irreversivelmente ao VMAT e, portanto, inibe o acondicionamento da DA, da NE, da EPI e da 5-HT em vesículas<sup>88</sup>.

Os transportadores envolvidos na recaptção seletiva da serotonina (SERT) removem a 5-HT da fenda sináptica de volta ao neurônio pré-sináptico. Os transportadores da recaptção seletiva de monoaminas são proteínas que atravessam 12 vezes a membrana e que acoplam o transporte do neurotransmissor ao gradiente de sódio transmembranar<sup>80,91</sup>. Ao contrário do VMAT, que é um transportador inespecífico de monoaminas, os transportadores de recaptção de monoaminas exibem seletividade, alta afinidade e baixa capacidade para cada monoamina específica. Os transportadores seletivos de monoaminas, que incluem o SERT, o transportador de norepinefrina (NET) e o transportador de dopamina (DAT), também são capazes de transportar as outras monoaminas, porém com menor eficiência<sup>88</sup>.

O SERT localizado na região pré-sináptica é determinante para a regulação da transmissão de 5-HT, uma vez que controla a disponibilidade de 5-HT no local dos receptores pós-sinápticos<sup>92</sup>. A proteína SERT é expressa em densidade elevada na região medial e dorsal nos núcleos da rafe, núcleo caudado, putâmen e tálamo, mas em densidades relativamente baixas no córtex<sup>80</sup>. Mais especificamente, a SERT está localizada em corpos celulares no núcleo da rafe e sobre os axônios serotoninérgicos e terminações nervosas. Tanto os receptores cerebrais de 5-HT como a proteína SERT podem responder a alterações crônicas em níveis de 5-HT<sup>93,94</sup>.

A principal via de degradação da serotonina é mediada pela MAO (monoaminoxidase) e, por conseguinte, os IMAO (inibidores de monoaminoxidase) possuem efeitos significativos sobre a neurotransmissão serotoninérgica. Os IMAO são classificados com base na sua especificidade para as isoenzimas MAO-A e MAO-B e de acordo com a reversibilidade ou irreversibilidade de sua ligação. Ao inibir a degradação das monoaminas, os IMAO aumentam a 5-HT e a NE (noradrenalina) disponíveis no citoplasma dos neurônios pré-sinápticos<sup>88</sup>. O

aumento dos níveis citoplasmáticos dessas monoaminas leva não apenas a um aumento na captação e no armazenamento da 5HT e da NE nas vesículas sinápticas, como também a algum extravasamento constitutivo das monoaminas na fenda sináptica, (figura 5)<sup>88</sup>.



**Figura 5.** Regulação pré-sináptica da neurotransmissão da serotonina. A 5-HT é sintetizada a partir do triptofano em uma via de duas reações: a enzima que limita a velocidade é a triptofano hidroxilase. Tanto a 5-HT recém-sintetizada quanto a reciclada são transportadas do citoplasma para o interior de vesículas sinápticas pelo transportador de monoaminas vesicular (VMAT). A neurotransmissão é iniciada por um potencial de ação no neurônio pré-sináptico, que acaba produzindo a fusão das vesículas sinápticas com a membrana plasmática, através de um processo dependente de  $\text{Ca}^{2+}$ . A 5-HT é removida da fenda sináptica por um transportador seletivo de 5-HT, bem como por transportadores não-seletivos de recaptção. A 5-HT pode estimular os auto-receptores *HTR1D*, proporcionando uma inibição por retroalimentação. A 5-HT citoplasmática é seqüestrada em vesículas sinápticas pelo VMAT ou degradada pela MAO mitocondrial<sup>88</sup>.

## 1.9 Receptores de 5-HT

Múltiplos subtipos de receptores de 5-HT foram caracterizados e todos eles, à exceção de um, estão acoplados à proteína G. Em geral, a classe de receptores *HTR1* inibe a adenilil ciclase, a classe *HTR2* aumenta a renovação do fosfatidilinositol, e as classes *HTR4*, *HTR6* e *HTR7* estimulam a adenilil ciclase. O único canal iônico regulado por ligante conhecido é o receptor *HTR3*, embora vários subtipos de receptores de 5-HT ainda não estejam totalmente caracterizados<sup>80</sup>. O receptor *HTR1A* é expresso tanto nos corpos celulares serotoninérgicos dos núcleos da rafe quanto em neurônios pós-sinápticos no hipocampo, e a sua ativação resulta em diminuição dos níveis de AMPc (adenosina monofosfato cíclico)<sup>88</sup>. O receptor *HTR1D* pré-sináptico media os mecanismos auto-inibitórios da neurotransmissão da 5-HT nos terminais axônicos. A sinalização dos receptores *HTR2A* e *HTR2C* é excitatória e baixa o limiar de descarga neuronal. O receptor *HTR2A* é heterogêneo e distribuído em concentrações elevadas em várias áreas corticais<sup>95</sup>. Os receptores *HTR2A* no cérebro são expressos principalmente em neurônios piramidais glutamatérgicos, neurônios colinérgicos, e interneurônios GABAérgicos<sup>96</sup>. Entretanto, existe uma considerável superposição na expressão dos subtipos de receptores, e a importância fisiológica dessa superposição não está bem elucidada<sup>88</sup>.

As vias descendentes inibitórias de dor, que partem de estruturas do tronco encefálico para os diversos níveis segmentares da medula, também parecem estar envolvidas na fisiopatologia da SFM. Esse conjunto de estruturas é denominado Sistema Inibidor de Dor e os principais neurotransmissores envolvidos no seu funcionamento são a serotonina e noradrenalina ao nível do tronco encefálico e as dinorfinas e encefalinas a nível segmentar medular<sup>97</sup>.

As alterações do metabolismo de 5-HT implicam na redução da atividade do Sistema Inibidor de Dor, com uma conseqüente elevação da resposta dolorosa frente a estímulos algogênicos ou mesmo o aparecimento de dor espontânea<sup>98,99</sup>. Deste modo, somam-se evidências de uma atuação não coordenada dos mecanismos de nocicepção e de inibição da dor, resultando numa percepção aumentada da dor<sup>2</sup>.

### **1.10 - Estudos que avaliaram o polimorfismo T102C no receptor *HTR2A* em pacientes com fibromialgia.**

O polimorfismo T102C do gene do receptor *HTR2A* consiste na presença de uma timina (T) ou citosina (C), na posição 102 do gene, com três possíveis genótipos TT, TC ou CC. Trata-se de um polimorfismo silencioso do gene receptor *HTR2A*, definido por uma transição de um T para C na posição nucleotídica 102<sup>100</sup>. As seqüências TCT ou TCC codificam a serina, por isso é denominado polimorfismo silencioso, pois a seqüência de aminoácidos não é modificada. Todavia, é considerado um polimorfismo funcional, pois os alelos T e C determinam níveis de expressão gênica diferentes. Estudos funcionais demonstram que a ocorrência do alelo C, em comparação ao alelo T, determina uma diminuição aproximada de 20% na expressão gênica, reduzindo, portanto a quantidade de receptores<sup>101</sup>.

**Tabela 2.** Meta-análise das freqüências genóticas e alélicas do polimorfismo T102C no gene *HTR2A*.

	Genótipos TT (%)	Genótipos TC (%)	Genótipos CC (%)	Freqüência Alélica T	Freqüência Alélica C	Sexo	Idade média	<i>P</i>	Referências
<b>Pacientes com a SFM (n=168)</b>	19 <sup>a</sup> (11%)	87 (52%)	62 (37%)	0,37	0,63 <sup>b</sup>	F=142 M=26	47anos	<sup>a</sup> Genótipo=0,023 <sup>b</sup> Alelo= 0,07	[66]
<b>Pacientes Controles (n=115)</b>	27 (23%)	50 (44%)	38 (32%)	0,45	0,55	F=60 M=55		P>0,05	[66]
<b>Pacientes com a SFM (n=58)</b>	11 (19%)	29 (50%)	18 (31%)	0,51 (45%)	0,65 (55%)	F=116	42 anos		[68]
<b>Pacientes Controles (n=58)</b>	14 (24,1%)	31 (53,4%)	13 (22,4%)	0,59 (51%)	0,57 (49%)				[68]
<b>Pacientes com a SFM (n=80)</b>	22 (27,%) <sup>a</sup>	31 (38,7%) <sup>b</sup>	27 (33,8%) <sup>c</sup>	0,53 <sup>d</sup>	0,47	F=171	40 anos	<sup>a</sup> Genótipo=0,13 <sup>b</sup> Genótipo=0,13 <sup>c</sup> Genótipo=1,00 <sup>d</sup> alelo T=0,17	[53]
<b>Pacientes Controles (n=91)</b>	22 (27,5%) <sup>a</sup>	42 (46,3%) <sup>b</sup>	20 (21,9%) <sup>c</sup>	0,45 <sup>d</sup>	0,55		37 anos		[53]

<b>Pacientes com a SFM (n=51)</b>	25,49	49,02	25,49	-	-	F=49 M=2	50 anos	P=0,05	[21]
<b>Pacientes Controles (n=51)</b>	19,61	62,74	17,65	-	-	F=48 M=3	45 anos		[22]
<b>Pacientes com a SFM (n=34)</b>	8 (23,5%) <sup>a</sup>	19 (56%) <sup>b</sup>	7 (20,5%)	51,5% <sup>c</sup>	48,5%	F=41	48 anos	<sup>a</sup> Genótipo=0,28 <sup>b</sup> Genótipo=0,052 <sup>c</sup> alelo=0,12	[67]
<b>Pacientes Controles (n=36)</b>	18 (50%) <sup>a</sup>	11 (30,5%) <sup>b</sup>	7 (19,4%)	63,5% <sup>c</sup>	34,7%	F=49			[67]



## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Investigar a prevalência do polimorfismo T102C do gene do receptor de serotonina *HTR2A* em pacientes com a SFM e controles.

### 2.2 Objetivos Específicos

- 1) Determinar a frequência alélica e genotípica do polimorfismo T102C do gene receptor de serotonina *HTR2A* em um grupo de 48 mulheres diagnosticadas com a SFM e 50 controles saudáveis.
- 2) Comparar a frequência alélica e genotípica do polimorfismo T102C do gene receptor *HTR2A* nos dois grupos de mulheres.

## 3 - METODOLOGIA

### 3.1 – Aspectos Éticos

Por envolver a participação direta de seres humanos, esta pesquisa foi devidamente cadastrada, pela internet, no Sistema Nacional de Informações Sobre Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos (SISNEP), órgão pertencente ao Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). A pesquisa recebeu o número de cadastro CAAE-0115.0.168.000-10, sendo posteriormente submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (CEP-PUC-GO), no dia 3 de setembro de 2010, e aprovada no dia 26 de novembro do mesmo ano. O certificado de aprovação do CEP-PUC-GO apresenta-se em sua forma íntegra no Anexo I ao final deste estudo.

Para garantir a participação segura das voluntárias neste estudo, foi redigido um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), que também foi submetido ao processo de aprovação pelo CEP-PUC-GO e, após liberado, foi lido e assinado por todas as voluntárias participantes desta pesquisa. O TCLE encontra-se em sua forma plena no Apêndice I ao final deste estudo.

### **3.2 – Grupos de Pesquisa**

O grupo de estudo foi composto por 48 mulheres diagnosticadas com a SFM, selecionadas por randomização computadorizada do grupo total de pacientes regulares da Clínica de Reumatologia do Centro de Reabilitação e Readaptação Dr. Henrique Santillo (CRER), em Goiânia, Goiás. As 48 pacientes com diagnóstico comprovado da SFM, ao serem recrutadas receberam uma primeira explicação sobre os objetivos da pesquisa, bem como sobre os procedimentos envolvidos em sua participação (coleta de sangue) e bem como sobre a importância desta pesquisa no avanço rumo ao melhor entendimento dos fatores etiológicos da SFM.

O grupo controle foi composto por 50 participantes, porém todas saudáveis, sem qualquer sinal de dor muscular crônica e difusa. Estas voluntárias saudáveis foram selecionadas pela Dra. Ângela Maria Costa de Souza, médica neurofisiologista do CRER, dentro do grupo de funcionárias da instituição, buscando-se ao máximo a equiparação da faixa etária com as participantes do grupo de estudo.

### **3.3 – Critérios de Inclusão**

Pacientes do sexo feminino, com diagnóstico clínico comprovado de fibromialgia há mais de seis meses, com idade de 30 a 60 anos, em atendimento regular no Ambulatório de Reumatologia do CRER, que estivessem em tratamento clínico, sem grau de parentesco próximo com funcionários do CRER e que aceitassem participar do projeto e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Para a composição do grupo controle, foram aceitos indivíduos do sexo feminino, assintomáticos, com a mesma faixa etária do grupo randomizado para o estudo, que não possuíssem parentes próximos sem tratamento da SFM no CRER, também submetidos à aceitação e assinatura do TCLE.

### **3.4 – Critérios de Exclusão**

Pacientes diagnosticadas com fibromialgia não comprovado há 03 meses com parentes próximos em tratamento com SFM no CRER, que não estivessem realizando o tratamento clínico regular e que não se enquadrem nos parâmetros da pesquisa.

### **3.5 – Procedimentos da Coleta de Sangue Periférico**

Após confirmarem participação, as pacientes foram submetidas a agendamento no CRER, quando receberam novamente informações com SFM sobre os objetivos e a metodologia da pesquisa, além de serem convidadas a assinar o TCLE. A leitura dos termos da pesquisa, a assinatura do TCLE foi realizada em sala apropriada disponibilizada pelo CRER.

A seguir, as participantes foram levadas ao Laboratório de Análises Clínicas do CRER, para a coleta das amostras de sangue periférico. Elas receberam imediatamente um número de identificação, fornecido pelo próprio laboratório, permanecendo cego para os pesquisadores até o final das análises do polimorfismo. As amostras de sangue foram coletadas a vácuo por profissionais legalmente habilitados, pertencentes ao Laboratório de Análises Clínicas do CRER. Foram usados tubos contendo EDTA como anticoagulante, seguindo diretamente para o armazenamento em câmara fria no mesmo local. Após a coleta de sangue, de pacientes e controles, foram levadas para o Laboratório de Diversidade Genética da PUC-Goiás, onde foram realizadas as análises moleculares.

### **3.6 – Extração de DNA das Amostras de Sangue Periférico**

As amostras de sangue, coletadas pela equipe do Laboratório de Análises Clínicas do CRER, foram usadas para extração e purificação de DNA, no Laboratório de Diversidade Genética da PUC-GO, utilizando o Kit *Wizard* – Promega. A extração foi realizada segundo o protocolo fornecido pelo fabricante.

### **3.7 – Análise Molecular do Polimorfismo T102C do Gene Receptor de Serotonina HTR2A.**

Um fragmento do gene *HTR2A*, contendo 352bp, foi amplificado usando oligonucleotídeos iniciadores descritos por Gursoy<sup>68</sup>. Esses oligonucleotídeos (senso: 5-HT2A-F 5'-CTGTCT GCT ACA AGT TCT GGC TTT-3', 5'-HT2A- R 5'-CTG CAG CTT TTT CTC TAG GGG-3') permitem a amplificação de um fragmento do gene *HTR2A* contendo o polimorfismo T102C. A extração de sangue foi realizado com o Kit comercial Purelink (Invitrogen). Um fragmento do gene *HTR2A* contendo 352 bp, foi amplificado usando oligonucleotídeos iniciadores descritos por Gursoy<sup>68</sup>. As reações de PCR foram realizadas em um volume total de 25 µml, contendo 50 ng de DNA, 0,6 µmol de cada *primer*, 200 µmol de dTNPs, 10 mmol/l de MgCL<sub>2</sub> e Taq polimerase. O protocolo de amplificação incluiu 35 ciclos, com uma etapa de desnaturação a 95° C por 30 segundos, seguida de anelamento a 60° C e uma extensão a 72° C. Após a amplificação por PCR, 20 ul do produto amplificado foi submetido à digestão por 14 horas co 20 UI da enzima MspI (Roche Molecular Biochemicals). Após a digestão, os fragmentos de restrição foram analisados por eletroforese em gel de poliacrilamida a 8% e as bandas visualizadas pela coloração com nitrato de prata. A digestão do fragmento de 352 pb do gene *HTR2A* resulta em fragmentos de 215pb e 126 pb, quando o alelo C está presente. O fragmento não é digerido quando o alelo T está presente. Desta forma, para os indivíduos homocigotos (TT), um fragmento com 352 pb é visualizado, enquanto para os heterocigotos (TC), fragmentos com 342 pb, 215 pb e 126pb são visualizados. Para os homocigotos (CC), duas bandas com 215 pb e 126 pb são visualizadas no gel.

### 3.8 Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada por meio do *software* GenePop<sup>®</sup> *Webversion* 4.1.0. A utilização deste programa permitiu avaliar as frequências alélicas e genotípicas das populações caso e controle. A comparação das frequências alélicas e genotípicas foi feita por meio do teste Chi-quadrado.

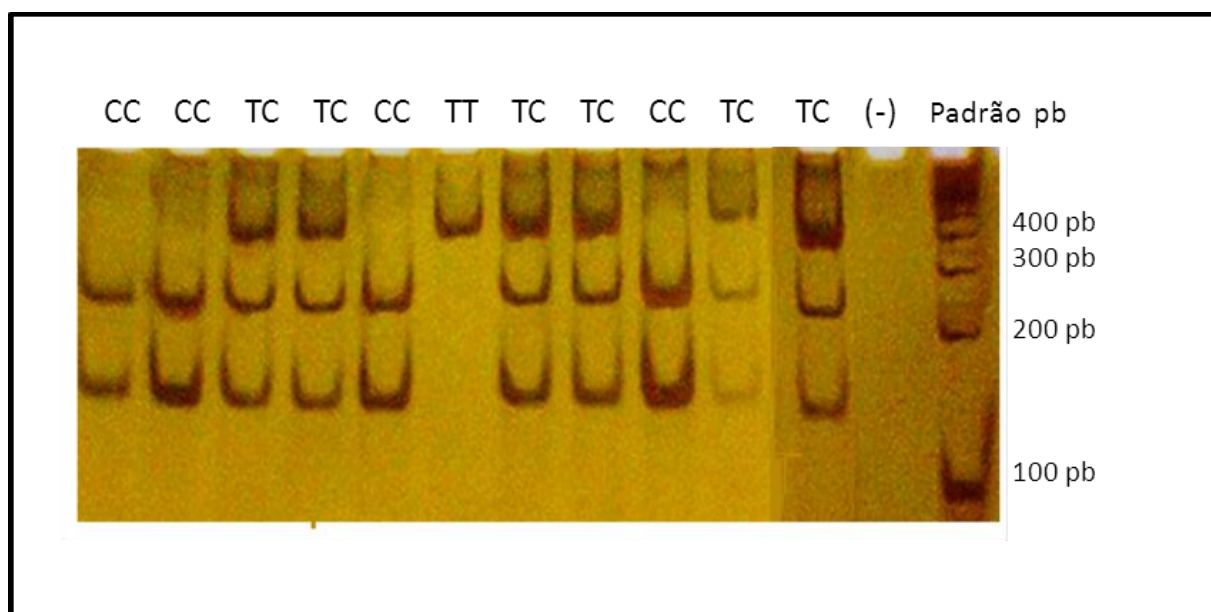
## 4 - RESULTADOS

### 4.1 – Descrição dos grupos caso e controle

O grupo de pacientes foi composto por 48 mulheres portadoras da SFM, com média de idade de 50,3 anos ( $\pm 6,6$ ). Já o grupo controle foi composto por um total de 50 voluntárias saudáveis, pertencentes ao quadro de funcionários do CRER, com média de idade de 45,9 anos ( $\pm 7,2$ ).

### 4.2 – Análises Moleculares

As amostras de DNA obtidas do sangue periférico de pacientes (n=48) e controles (n=50) foram submetidas à amplificação gênica por PCR, resultando em um fragmento de 342 pb. A digestão deste fragmento com a enzima MspI resulta em dois fragmentos (215 pb e 126 pb), quando o alelo “C” está presente, e no fragmento intacto (342 pb), quando o alelo “T” está presente. Todas as amostras incluídas no estudo apresentaram resultados satisfatórios. A figura 6 mostra um gel de poli-acrilamida utilizado para a análise molecular deste estudo.



**Figura 6:** Gel de poli-acrilamida a 8% corado com nitrato de prata, mostrando bandas de fragmentos gênicos correspondentes aos alelos 102C e 102T. A canaleta (-) representa o controle negativo da amplificação e a última canaleta contém um padrão de peso molecular de DNA com bandas de 100, 200, 300 e 400 pares de bases, respectivamente

### 4.3 – Frequências alélicas e genóticas referentes ao polimorfismo T102C do gene do receptor *HTR2A* entre populações caso (SFM) e controles.

As frequências dos alelos 102T e 102C foram respectivamente de 46,9% (45/96) e 53,1% (51/96) para os pacientes com fibromialgia. Para o grupo controle 51% (51/100) e 49% (49/100) (Tabela 4). Não houve diferença estatisticamente significativa entre as frequências alélicas obtidas para os dois grupos estudados ( $P=0,6184$ ).

**Tabela 3:** Frequências alélicas relativas ao polimorfismo T102C do gene *HTR2A* em pacientes com fibromialgia e controles

Grupos de estudo	Alelos – T	Alelos – C	Total de Alelos
	n (%)	n (%)	
Pacientes	45 (46,9%)	51(53,1%)	96
Controles	51(51%)	49(49%)	100

As frequências genóticas encontradas para os casos foram de (11/48) para os homozigotos TT; 47,9% (23/48) para heterozigotos TC e 29,1% (14/48) para homozigotos CC. No grupo controle, as frequências genóticas encontradas foram de 16% (8/50) homozigotos TT; 70% (35/50) para heterozigotos TC e 14% (7/50) para homozigotos CC (tabela 6). Diferença estatisticamente significativa foi observada entre as frequências genóticas obtidas para os dois grupos estudados ( $P=0,0048$ )

**Tabela 4:** Comparação entre as frequências genóticas de pacientes com SFM e controles.

Grupos de estudo	Genótipos			Total
	TT n (%)	CT n (%)	CC n (%)	
Pacientes	11(22,9%)	23 (47,9%)	14 (29,2%)	48
Controles	8 (16 %)	35 (70%)	7(14%)	50
<b>Total por genótipo</b>	<b>19 (19,4%)</b>	<b>58 (59,2%)</b>	<b>21 (21,4%)</b>	<b>98</b>

## 5. – DISCUSSÃO

O polimorfismo T102C do gene do receptor HTR2A em 168 pacientes com a SFM e 115 controles saudáveis, com idade média de 47 anos, em Munique e Bad Sackingen, na Alemanha. Entre os indivíduos do estudo, 84% pertenciam ao sexo feminino. Foi utilizada uma escala de contagem de pontos dolorosos (*tender point count – TPC*) e o SPN T102C do gene receptor de serotonina HTR2A foi avaliado por Reação em Cadeia da Polimerase/ Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição (PCR-RFLP). Resultados mostram uma distribuição genotípica diferenciada em pacientes com a SFM, com uma menor frequência do genótipo 102TT (11% com SFM e 23% controles) e um aumento dos genótipos 102TC e 102CC (juntos 89% com a SFM e 77% controles) em comparação ao grupo controle. Todavia, o aumento do alelo C102 ficou aquém de significância. Em contrapartida, o escore de dor foi significativamente mais alto em pacientes com genótipo 102TT. Foi sugerido que o polimorfismo 102TC pode estar envolvido nos circuitos complexos de nocicepção<sup>66</sup> (Figura 4).

O polimorfismo T102C do gene do receptor de HTR2A foi investigado em 58 pacientes com SFM e 58 controles saudáveis, com idade média de 42 anos, todos pertencentes à mesma etnia e área geográfica na Turquia. O SPN T102C do gene receptor de serotonina HTR2A foi avaliado por Reação em Cadeia da Polimerase/ Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição (PCR-RFLP). Os grupos, os genótipos 102CC, 102TC e 102TT do gene 5-HT foram representados em 31% (22,4% nos controles), 50% (53,4%), e 19% (24,1%) dos pacientes com a SFM e controles, respectivamente. As frequências gênicas e alélicas para o SNP T102C do gene do receptor 5-HT2A não foram significativamente diferentes entre pacientes e controles<sup>68</sup>. O estudo conseguiu relacionar o genótipo 102TT aos sintomas psiquiátricos da SFM, mas não à própria síndrome. Concluiu-se, portanto, que o polimorfismo T102C não está diretamente envolvido na etiologia da SFM, mas poderia haver um desequilíbrio de ligação da variante funcional, que ainda tende a ser elucidado<sup>68</sup>.

Outro estudo analisou 80 mulheres com a SFM e 91 pacientes do grupo controle com idade média de 40 anos, todos os indivíduos da pesquisa possuíam a

mesma origem étnica e residia na mesma área geográfica, na Região Costeira do Mar Negro, na Turquia. O SNP T102C do gene *HTR2A* foi avaliado por Reação em Cadeia da Polimerase/ Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição (PCR-RFLP). Uma escala visual analógica (EVA), que auxilia na aferição da intensidade da dor no paciente e questionário de qualidade de vida, o *revised symptom checklist-90* (SCL-90 R) foram utilizados. O estudo não mostrou diferença significativa entre pacientes acometidos pela SFM e o grupo controle com relação ao polimorfismo T102C do gene receptor de *HTR2A*<sup>53</sup>, com resultados semelhantes ao de Gursoy *et al*<sup>68</sup>.

O polimorfismo T102C no receptor de *HTR2A* foi analisado em outro estudo, em Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. Participaram da pesquisa 51 pacientes com SFM e 51 controles saudáveis, com idade média de 50 anos. Os resultados deste estudo não demonstraram associações significativas entre o polimorfismo genético T102C do gene *HTR2A* com a SFM na população brasileira. Resultados semelhantes foram relatados por Gursoy *et al*<sup>68</sup> e Tander *et al*<sup>63</sup> em pacientes turcos.

O meio ambiente também influencia a saúde humana, e neste contexto, um estudo analisou a interação entre a variabilidade do gene *HTR2A* e a percepção da qualidade ambiental sobre a susceptibilidade à SFM<sup>66</sup>. A pesquisa utilizou uma amostra total de 70 pacientes, sendo 34 com a SFM e 36 controles saudáveis, caracterizada predominantemente pela colônia de origem alemã em Novo Hamburgo no Rio Grande do Sul, Brasil, com idade média de 48 anos. O SPN T102C do gene receptor de serotonina *HTR2A* foi avaliado por Reação em Cadeia da Polimerase/ Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição (PCR-RFLP) e ainda foi solicitado às pacientes que respondessem ao questionário WHOQOL-100, para análise da qualidade de vida relacionada ao ambiente<sup>67</sup>. Foi observado uma frequência genotípica diminuída de homozigotos 102TT e aumentada de portadores do alelo 102C entre pacientes com SFM em brasileiros com descendência alemã<sup>67</sup>. Estes resultados são similares ao estudo de Bondy *et al*.<sup>66</sup>, porém diverge na intensidade da dor que foi maior no genótipo 102TT do SNP T102C do gene *HTR2A* em pacientes com SFM, em comparação aos controles. Os resultados do questionário WHOQOL-100 sugerem que dificuldades financeiras e principalmente, a falta de atividades de lazer e de oportunidades de aprendizado podem ser os fatores relacionados ao desenvolvimento de síndromes crônicas como a SFM<sup>67</sup>.



O polimorfismo T102C não impede a expressão e não altera a estrutura do gene receptor *HTR2A*, portanto seu envolvimento na SFM é indireto. Acredita-se que exista um desequilíbrio de ligação com uma variante funcional verdadeira, que talvez faça parte da região promotora ou de outras regiões regulatórias do gene, reduzindo seus níveis de expressão e conseqüentemente o número de receptores *HTR2A* em indivíduos com SFM<sup>102,103</sup>.

O sistema serotoninérgico é um importante componente do controle sensorial da dor<sup>21</sup>. Fatores que afetam as atividades desse sistema ocasionam aumento da sensibilidade a estímulos dolorosos<sup>22,23</sup>. O receptor *HTR2A* é um componente essencial do sistema serotoninérgico, estando sua expressão sob controle gênico. Os polimorfismos dos genes que codificam o receptor podem afetar o estado funcional do mesmo e, por sua vez, a atividade serotoninérgica<sup>85</sup>. O polimorfismo T102C está localizado no éxon 1, na região promotora do gene, permitindo um papel na regulação do gene<sup>55</sup>. Este estudo teve como objetivo investigar a prevalência do polimorfismo T102C do gene do receptor de serotonina *HTR2A* em pacientes com a SFM na população brasileira, pois até o momento houve somente um estudo<sup>21</sup>, com origem étnica brasileira. Dois estudos abordaram indivíduos de origem alemã<sup>66,67</sup> e os demais foram realizados com a população turca<sup>53,68</sup>.

A SFM é mais encontrada no sexo feminino, com faixa etária de 35 a 60 anos na população mundial, e na população brasileira de 34 a 44 anos<sup>18</sup>, o que diverge da nossa pesquisa e do estudo com indivíduos portadores da SFM no Brasil<sup>21</sup> em que a idade média é de 50 anos. As idades médias dos demais estudos mostraram média de idade de 44,25 anos<sup>67</sup>. Nosso estudo ainda abordou população homogênea, indivíduos do sexo feminino, com mesma origem étnica e região geográfica, contrária aos estudos de Bondy *et al.*,<sup>66</sup>.

A amostra utilizada em nosso estudo foi de 50 pacientes com a SFM e 49 controles saudáveis. Os estudos realizados por Gursoy *et al.*,<sup>68</sup> Matsuda *et al.*<sup>21</sup> utilizaram amostra semelhante. Do ponto de vista evolutivo, na espécie humana o alelo T é a mutação ocorrida e o alelo C é o selvagem. A frequência dos alelos é equilibrada na espécie humana independente da etnia, acredita-se que esta seja uma mutação evolutivamente precoce. O equilíbrio na frequência alélica, independentemente da etnia varia de 45 a 55% o que favorece a utilização do

polimorfismo T102C em estudos, pois diminui a quantidade de indivíduos da amostra<sup>104</sup>.

Relacionado à frequência genotípica do polimorfismo T102C, nosso estudo detectou diferenças significativas entre os dois grupos estudados. Os indivíduos com a SFM apresentaram menor frequência do genótipo TC (47,9%) em relação ao controle (70%). Estes resultados são similares aos encontrados por Matsuda *et al.*<sup>21</sup> Acredita-se que sejam necessárias outras associações como fatores ambientais, comportamentais, estressores externos e hormonais estejam atuando em conjunto para as manifestações da SFM<sup>21</sup>.

Por outro lado, o genótipo TT foi mais frequente em pacientes com a SFM (22,9%), comparado aos controles (16%), corroborando com os resultados apresentados por Matsuda *et al.*<sup>21</sup>. É importante ressaltar que os resultados na frequência dos genótipos TT, TC e CC similares foram evidenciados por Matsuda *et al.*<sup>21</sup>

Com relação ao processamento da dor em indivíduos acometidos pela SFM, acredita-se que o surgimento dos sintomas dolorosos na SFM ocorra de forma geralmente espontânea, simétrica e num sentido craniocaudal, contrariando a hipótese de lesões periféricas e sugerindo uma origem nervosa central para a SFM<sup>38</sup>. Estudos evidenciam uma atuação não coordenada dos mecanismos de nocicepção e de inibição da dor em pacientes com a SFM resultando em uma hiperalgesia e alodinia<sup>105</sup>.

Achados recentes sugerem que o genótipo CC está associado a menores níveis de expressão do receptor *HTR2A*<sup>67</sup>. Foi observado menores níveis de 5-HT tanto no sangue quanto no liquor de pacientes com a SFM. Assim entendemos que pacientes com genótipo CC podem apresentar menor resposta as ações da 5-HT, justificando as maiores frequências deste fenótipo nos pacientes com a SFM.

## 6. – CONCLUSÃO

A SFM é composta por múltiplas características que refletem em uma diversidade de causas. Nossos resultados permitem concluir que:

- A) Nas pacientes com a SFM, a frequência do alelo T foi 46,9% e a do alelo C foi 53,1%, enquanto que no grupo controle, a frequência do alelo T foi 51% e a do alelo C foi 49%;
- B) Nas pacientes com a SFM, as frequências genotípicas foram: TT= 22,9%, TC=47,9% e CC=29,2%, enquanto que no grupo controle, as frequências genotípicas foram: TT= 16%, TC=70% e CC=14%.
- C) O genótipo CC foi significativamente mais comum nas pacientes com a SFM, justificando parcialmente a menor resposta serotoninérgica observada nesse grupo.

## 7- REFERÊNCIAS

1. Maletic V, Raison CL; Neurobiology of depression, fibromyalgia and neuropathic pain. *Frontiers in Bioscience*, 2009; 14, 5291-5338, June 1.
2. Harris R E, P. C. Sundgren, Y. Pang, M. Hsu, M. Petrou, S. H. Kim, S. A. McLean, R. H. Gracely and D. J. Clauw: Dynamic levels of glutamate within the insula are associated with improvements in multiple pain domains in fibromyalgia. *Arthritis Rheum*, 2008; 58(3), 903-7.
3. Gowers WR. Lumbago: its lesions and analogues. *BMJ* 1904;1:117-21
4. Pertovaara A: Plasticity in descending pain modulatory systems. *Prog Brain Res*, 2000; 129, 231-42.
5. Provenza J.R., Pollak D.F., Martinez J.E., Paiva E.S., Helfenstein M., Heymann R., Matos J.C.M., Sousa E.J.R. Projeto Diretrizes: Fibromialgia. Sociedade Brasileira de Reumatologia, Brasil: 2004.
6. Riberto M, Pato T R. Fisiopatologia da fibromialgia. *Acta Fisiatr* 2004; 11(2): 78-81
7. Xie YF. Glial involvement in trigeminal central sensitization. *Acta Pharmacol Sin* 2008; 29: 641-5.
8. Podolecki T, Podolecki A, Hrycek A. Fibromyalgia: pathogenetic, diagnostic and therapeutic concerns. *Pol Arch Med Wewn*. 2009; 119 (3): 157-161
9. Björkegren K, Wallander MA, Johansson S, Svärdsudd K. General symptom reporting in female fibromyalgia patients and referents: a population-based case-referent study. *BMC Public Health* 2009, 9:402

10. Buskila D, Neumann L, Hershman E, Gedalia A, Press J, Sukenik S. Fibromyalgia syndrome in children – an outcome study. *J Rheumatol* 1995; 22:525-8.
11. Buckhardt CS, Goldenberg D, Crofford L, Gerwin R, Gowans S, Kugel P et al. Guideline for the management of fibromyalgia syndrome pain in adults and children. *APS Clinical Practice Guidelines Series, No 4*. Glenview, IL: American Pain Society; 2005.
12. Bradley RG, Binder EB, Epstein MP, Tang Y, Nair HP, Liu W, Gillespie CF, Berg T, Evces M, Newport DJ, Stowe ZN, Heim CM, Nemeroff CB, Schwartz A, Cubells JF and Ressler KJ: Influence of child abuse on adult depression: moderation by the corticotropinreleasing hormone receptor gene. *Arch Gen Psychiatry*, 2008; 65(2), 190-200.
13. Marek GJ, Zhang C. Activation of metabotropic glutamate 5 (mGlu5) receptors induces spontaneous excitatory synaptic currents in layer V pyramidal cells of the rat prefrontal cortex. *Neurosci Lett*, 2008; 442:239–243
14. Molinaro G, Traficante A, Riozzi B, Di Menna L, Curto M, Pallottino S et al. Activation of mGlu2/3 metabotropic glutamate receptors negatively regulates the stimulation of inositol phospholipid hydrolysis mediated by 5-hydroxytryptamine<sub>2A</sub> serotonin receptors in the frontal cortex of living mice. *Mol Pharmacol*, 2009; 76:379–387
15. Pompeiano M, Palacios JM, Mengod G. Distribution and cellular localization of mRNA coding for 5-HT<sub>1A</sub> receptor in the rat brain: correlation with receptor binding. *J Neurosci*, 1992; 12:440–453.
16. Kato K, Sullivan PF, Evengard B, Pedersen NL. Importance of genetic influences on chronic widespread pain. *Arthritis Rheum* 2006;54:1682–6.
17. Kato K, Sullivan PF, Evengard B, Pedersen NL. A populationbased twin study of functional somatic syndromes. *Psychol Med* 2008;39:497–505.
18. Senna ER, De Barros AL, Silva EO, Costa IF, Pereira LV, Ciconelli RM *et al*. Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. *J Rheumatol* 2004; 31:594-759.
19. Cusin C, Serretti A, Zanardi R, Lattuada E, Rossini D, Lilli R, et al. Influence of monoamine oxidase A and serotonin receptor 2A polymorphisms in SSRI antidepressant activity. *Int J Neuropsychopharmacol* , 2002; 5:27–35.

20. Caspi A, K. Sugden, T. E. Moffitt, A. Taylor, I. W. Craig, H. Harrington, J. McClay, J. Mill, J. Martin, A. Braithwaite and R. Poulton: Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science*, 2003; 301(5631), 386-9.
21. Matsuda JB, Barbosa FR, Morel LJF, França, SC, Zingaretti SM, Silva LM, Pereira, MAS; Fachin AL; Serotonin receptor (5-HT 2A) and catechol-O-methyltransferase (COMT) gene polymorphisms: Triggers of fibromyalgia? *Rev Bras Reumatol* 2010;50(2):141-9
22. Senna ER, De Barros AL, Silva EO, Costa IF, Pereira LV, Ciconelli RM et al. Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. *J Rheumatol* 2004; 31:594-759.
23. Buskila D, Neumann L, Hazanov I, Carmi R. Familial aggregation in the fibromyalgia syndrome. *Semin Arthritis Rheum* 1996, 26: 605-611.
24. Veenstra-VanderWeele J., Anderson GM, Cook Jr EH. Pharmacogenetics and the serotonin system: initial studies and future directions. *European Journal of Pharmacology* 410 \_2000. 165–181
170. Frishman, W.H., Grewall, P. Serotonin and the heart. *Ann. Med.* 2000, 32: 195–209.
25. Low LA, Schweinhardt P. Early Life Adversity as a Risk Factor for Fibromyalgia in Later Life. Hindawi Publishing Corporation Pain Research and Treatment Volume 2012.
26. Mork PJ, Nilsen TIL. Sleep Problems and Risk of Fibromyalgia: Longitudinal Data on an Adult Female Population in Norway. *Arthritis & Rheumatism* Vol. 64, No. 1, January 2012.
27. Yunus MB, Kalyan-Raman UP. Muscle biopsy findings in primary fibromyalgia and other forms of nonarticular rheumatism. *Rheum Dis Clin North Am* 1989;15:115-134.
28. Buskila D, Press J, Gedalia A, Klein M, Neumann L, Boehm R, et al. Assessment of nonarticular tenderness and prevalence of fibromyalgia in children. *J Rheumatol* 1993;20:368-70.
29. Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, Bennett RM, Bombardier C, Goldenberg DL et al. The American College of Rheumatology criteria for the classification of fibromyalgia: report of the multicenter criteria committee. *Arthritis Rheum* 1990; 33:160-72

30. Lessard JA, Russel IJ. Fibrositis/Fibromyalgia in private rheumatology practice: systematic analysis of a patient data base. In: Hyde BM, Goldestein J, Levine P, editors. The clinical and scientific basis of myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome. Ottawa: Nightingale Research Foundation; 1992.
31. Yunus, MB. Fibromyalgia in men: comparison of clinical features with women. *J Rheumatol* 2000; 27 (2):485-90.
32. Smith HS, MD; Barkin RL. Fibromyalgia Syndrome. A Discussion of the Syndrome and Pharmacotherapy. *Amer Jrnl Therapeutics* 2010;17(4):418-39
33. Martinez JE, Ferraz MB, Saio EI, Atra E. Avaliação seqüencial do impacto de fibromialgia e artrite reumatóide na qualidade de vida. *Rev Bras Reumatol* 1994; 34:309-16.
34. Krsinch-Shriwise, S. Fibromyalgia syndrome: an overview. *Physical Therapy* 1997. V.77, Nº.1, p. 68-75.
35. Heymann RE, Paiva ES, Júnior MH, Pollak DF, Martinez JE, Provenza JR, Paula AP et al. Brazilian consensus on the treatment of fibromyalgia. *Rev Bras Reumatol* 2010;50(1):56-6
36. Arnold LM. Biology and therapy of fibromyalgia. *New therapies in fibromyalgia. Arthritis Res Ther*, 2006; 8(4), 212.
37. Fietta P and Manganelli P. Fibromyalgia and psychiatric disorders. *Acta Biomed*, 2007; 78(2), 88-95.
38. Lautenbacher S, Rollman GB. Possible deficiencies of pain modulation in fibromialgia. *Clin J Pain* 1997; 13: 189-96.
39. Clauwn DJ, Chrousos GP. Chronic pain and fatigue syndromes: overlapping clinical and neuroendocrine features and potential pathogenetic mechanisms. *Neuroimmunomodulation* 1997; 4: 134-53
40. Pongratz DE, Sievers M. Fibromyalgia - symptom or diagnosis: A definition of the position. *Scand J Rheumatol* 2000, 29(Suppl 113):3-7.
41. Croft P, Schollum J, Silman A. Population study of tender point counts and pain as evidence of fibromyalgia. *Br Med J* 1994;309:696-9
42. Provenza JR, Paiva E, Heymann RE. Manifestações Clínicas. In: Heymann RE, coordenador. *Fibromialgia e Síndrome Miofascial*. São Paulo: Legnar, 2006, pp. 31-

43. Halberstadt AL, Lehmann-Masten VD; Geyer MA, Powell SB. Interactive effects of mGlu5 and 5-HT<sub>2A</sub> receptors on locomotor activity in mice. *Psychopharmacology*, 2011; 215:81–92
44. Yong-Yeow Chong, Beng-Yeong Ng. Clinical Aspects and Management of Fibromyalgia Syndrome. *Annals Academy of Medicine* November 2009, Vol. 38 No. 11
45. Janal MN. Pain sensitivity, exercise and stoicism. *J R Soc Med* 1996;89:376-381
46. McCain GA, Bell DA, Mai FM, Halliday PD. A controlled study of the effects of a supervised cardiovascular fitness training program on manifestations of primary fibromyalgia. *Arthritis Rheum* 1988;31: 1135-41.
47. Marth GT, Korf I, Yandel MD, Yeh RT, Gu Z, Zakeri H, Stitzel NO, Hillier L, Kwok PW, Gish WR. A general approach to single-nucleotide polymorphism discovery. *Nature Genetics*. 1999, v. 23, p. 452–456.
48. Syvanen AC, Tilgmann C, Rinne J, Ulmanen I. Genetic polymorphism of catechol-O-methyltransferase (COMT): correlation of genotype with individual variation of S-COMT activity and comparison of the allele frequencies in the normal population and Parkinsonian patients in Finland. *Pharmacogenetics* 1997;7:65–71.
49. Cohen H, Neumann L, Glazer Y, Ebstein RP, Buskila D. The relationship between a common catechol-O-methyltransferase (COMT) polymorphism val (158) met and fibromyalgia. *Clin Exp Rheumatol*, 2009; 27:S51–S56
50. Garcia-Fructoso F, Beyer K, Lao-Villadoniga J. Analysis of Val158Met genotype polymorphisms in the COMT locus and correlation with IL-6 and IL-10 expression in fibromyalgia syndrome. *J Clin Res* 2006; 9:1–10.
51. Vargas-Alarcon G, Fragoso JM, Cruz-Robles D, Vargas A, Lao-Villadoniga JI, Garcia-Fructuoso F, Ramos-Kuri M, Hernandez F, Springall R, Bojalil R, Vallejo M, Martinez-Lavin M. Catechol-O-methyltransferase gene haplotypes in Mexican and Spanish patients with fibromyalgia. *Arthritis Res Ther* 2007, 9:R110
52. Gursoy S, Erdal E, Herken H, Madenci E, Ala B, Erdal N: Significance of catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in fibromyalgia syndrome. *Rheumatol Int* 2003, 23:104-107.
53. Tander B, Gunes S, Boke O, Alayli G, Kara N, Bagci H, Canturk F Polymorphisms of the serotonin-2A receptor and catechol- O-methyltransferase genes: a study on fibromyalgia susceptibility. *Rheumatol Int* 2008, 28:685–691

54. Chen K, Yang W, Grimsby J, Shih JC. The human 5-HT<sub>2</sub> receptor is encoded by a multiple intron-exon gene. *Brain Res Mol Brain Res* 1992; 14:20–26
55. Sparkes RS, Lan N, Klisak I, Mohandas T, Diep A, Kojis T, et al. Assignment of a serotonin 5HT-2 receptor gene (HTR2) to human chromosome 13q14-q21 and mouse chromosome 14. *Genomics*, 1991; 9:461– 465.
56. Vargas-Alarcon G, Fragoso JM, Cruz-Robles D, Vargas A, Martinez A, Lao-Villadoniga JI, Garcia-Fructuoso F, Vallejo M, Martinez-Lavin M. Association of adrenergic receptor gene polymorphisms with different fibromyalgia syndrome domains. *Arthritis Rheum* 2009, 60:2169–2173
57. Buskila D, Cohen H, Neumann L, Ebstein RP. An association between fibromyalgia and the dopamine D4 receptor exon III repeat polymorphism and relationship to novelty seeking personality traits. *Mol Psychiatry* 2004;9:730–1.
58. Gursoy S, Erdal E, Sezgin M, Barlas IO, Aydeniz A, Alasehirli B, Sahin G. Which genotype of MAO gene that the patients have are likely to be most susceptible to the symptoms of fibromyalgia? *Rheumatol Int* , 2008;28:307–311
59. Gursoy S. Absence of association of the serotonin transporter gene polymorphism with the mentally healthy subset of fibromyalgia patients. *Clin Rheumatol* 2002;21:194–7.
60. Frank B, Niesler B, Bondy B et al. Mutational analysis of serotonin receptor genes: HTR3A and HTR3B in fibromyalgia patients. *Clin Rheumatol* 2004;23:338–4
61. Potvin S, Larouche A, Normand E, de Souza JB, Gaumond I, Grignon S, Marchand S. DRD3 Ser9Gly polymorphism is related to thermal pain perception and modulation in chronic widespread pain patients and healthy controls. *J Pain* 2009; 10:969–975
62. Ablin JN, Bar-Shira A, Yaron M, Orr-Urtreger A. Candidate gene approach in fibromyalgia syndrome: association analysis of the genes encoding substance P receptor, dopamine transporter and alpha1-antitrypsin. *Clin Exp Rheumatol* 2009; 27:S33–S3
63. Alasehirli B, Demiryurek S, Arica E, Gursoy S, Demiryurek AT. No evidence for an association between the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene and fibromyalgia syndrome. *Rheumatol Int* 2007;27:275–80.



64. Su SY, Chen JJ, Lai CC, Chen CM, Tsai FJ. The association between fibromyalgia and polymorphism of monoamine oxidase A and interleukin-4. *Clin Rheumatol* 2007;26:12–6.
65. Cohen H, Buskila D, Neumann L, Ebstein RP: Confirmation of an association between fibromyalgia and serotonin transporter promoter region (5-HTTLPR) polymorphism, and relationship to anxiety related personality traits. *Arthritis Rheum* 2002, 46: 845-847.
66. Bondy B, Spaeth M, Offenbaeher M, Glatzeder K, Stratz T, Schwarz M, de Jong S, Kruger M, Engel RR, Farber L, et al.: The T102 C polymorphism of the 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene in fibromyalgia. *Neurobiol Dis* 1999, 6:433-439.
67. Mergener M, Becker RM R, Santos AF, Santos GA, Andrade FM. Influência da interação entre qualidade ambiental e o SNP T102C do gene HTR2A sobre a suscetibilidade à fibromialgia. *Rev Bras Reumatol* 2011; 51(6):587-602
68. Gursoy S, Erdal E, Herken H, Madenci E, Alasehirli B. Association of T102C polymorphism of the 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene with psychiatric status in fibromyalgia syndrome. *Rheumatol Int* 2001; 21:58-61.
69. Lee HY, Choi SJ, DJ Jong DJ,• Song GG. Candidate gene studies of fibromyalgia: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatol Int* 2012; 32:417–426
70. Limer KL, Nicholl BI, Thomson W, McBeth J. Exploring the genetic susceptibility of chronic widespread pain: the tender points in genetic association studies. *Rheumatology* 2008; 47:572–577
71. Blanco I, Arbesu D, Al Kassam D, De Serres F, Fernandez-Bustillo E, Rodriguez C. Alpha1-antitrypsin polymorphism in fibromyalgia syndrome patients from the Asturias Province in Northern Spain: a significantly higher prevalence of the PI<sub>Z</sub> deficiency allele in patients than in the general population. *J Musculoskelet Pain* 2006;14:5–12.
72. Offenbaecher M, Bondy B, de Jong S, Glatzeder K, Kruger M, Schoeps P, Ackenheil M: Possible association of fibromyalgia with a polymorphism in the regulatory region. *Arthritis Rheum* 1999, 42:2482-2488.
73. Light AR, White AT, Huguen RW, Light KC. Moderate exercise increases expression for sensory, adrenergic and immune genes in chronic fatigue syndrome patients, but not in normal subjects. *J Pain*. 2009 October ; 10(10): 1099–1112

74. Pellegrino MJ, Walonis GW, Sommer A. Familial occurrence of primary fibromyalgia. *Arch Phys Med Rehabil* 1989, 70:61-63.
75. Stormorken H, Brosstad F. Fibromyalgia: family clustering and sensory urgency with early onset indicate genetic predisposition and thus a “true” disease. *Scand J Rheumatol* 1992, 221:207.
76. Yunus MB, Khan MA, Rawlings KK, Green JR, Olson JM, Shah S. Genetic linkage analysis of multicase families with fibromyalgia syndrome. *J Rheumatol* 1999, 26:408-412.
77. Buskila D, Neumann L. Fibromyalgia syndrome (FM) and nonarticular tenderness in relatives of patients with FM. *J Rheumatol* 1997, 24:941-944
78. Buskila D, Sarzi-Puttini P. Genetic aspects of fibromyalgia syndrome. *Arthritis Research & Therapy* 2006, 8:218
79. Varnaš K, Halldin C, Hall H. Autoradiographic distribution of serotonin transporters and receptor subtypes in human brain. *Hum Brain Mapp*, 2004; 22:246 – 260.
80. Visser AKD, Waarde AV, Willemsen A TM, Bosker FJ, Luiten PG.M, Boer JAD, Kema IP, Dierckx RAJO. Measuring serotonin synthesis: from conventional methods to PET tracers and their (pre)clinical implications. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2011; 38:576–591.
81. Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. *Biochemical basis of neuropharmacology*. Oxford university Press 2003, New York.
82. Azmitia EC, Whitaker-Azmitia PM. Anatomy, cell biology and plasticity of the serotonergic system. In Bloom FE, Kupfer DJ. *Pharmacology: a fourth generation of progress*. 1995, Raven Press, New York
83. Erritzoe D, Holst K, Frokjaer VG, Licht CL, Kalbitzer J, Nielsen FÅ, Svarer C, Madsen Knudsen GM. A Nonlinear Relationship between Cerebral Serotonin Transporter and 5-HT<sub>2A</sub> Receptor Binding: An In Vivo Molecular Imaging Study in Humans. *The Journal of Neuroscience*, March 3, 2010 • 30(9):3391–3397
84. Henriksson KG. Is fibromyalgia a central pain state? *J Musculoskeletal pain* 2002;10:45-57
85. Geisser ME, Casey KL, Brucksch CB, Ribbens CM, Appleton BB, Croff ord LJ. Perception of noxious and innocuous heat stimulation among healthy women and

women with fibromyalgia: association with mood, somatic focus, and catastrophizing. *Pain* 2003; 102:243-250.

86. Mense S. Nociception from skeletal muscle in relation to clinical muscle pain.

*Pain* 1993; 54:241-89

87. Gilman AG, Goodman LS. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1987.

88. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. *Farmacologia*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007.

89. Lam DD, Przydzial MJ, Ridley SH, Yeo GSH, Roshford JJ, O'Rahilly S, Heisler LK. Serotonin 5-HT<sub>2C</sub> Receptor Agonist Promotes Hypophagia via Downstream Activation of Melanocortin 4 Receptors. *Endocrinology* 2008; 149(3):1323-8.

90. Nadal-Vicens M, Chyung JH, Turner TJ. *Princípios de Farmacologia*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan; 2009.

91. Blakely RD, De Felice LJ, Hartzell HC. Molecular physiology of norepinephrine and serotonin transporters. *J Exp Biol*, 1994; 196:263–281.

92. Zhou FC, Tao-Cheng JH, Segu L, Patel T, Wang Y. Serotonin transporters are located on the axons beyond the synaptic junctions: anatomical and functional evidence. *Brain Res* 1998; 805:241–254.

93. Zhou FC, Sari Y, Zhang JK . Expression of serotonin transporter protein in developing rat brain. *Brain Res Dev Brain Res*, 2000; 119:33– 45.

94. Pazos A, Probst A, Palacios JM. Serotonin receptors in the human brain-IV. Autoradiography mapping of serotonin-2 receptors. *Neuroscience* 1987, 21:123–139.

95. Morilak DA, Somogyi P, Lujan-Miras R, Ciaranello RD (1994) Neurons expressing 5-HT<sub>2</sub> receptors in the rat brain: neurochemical identification of cell types by immunocytochemistry. *Neuropsychopharmacology* 11:157–166.

96. Zhuo M: Cortical excitation and chronic pain. *Trends Neurosci*, 2008; 31(4), 199-207.

97. Ren K and R. Dubner. Pain facilitation and activitydependent plasticity in pain modulatory circuitry: role of BDNF-TrkB signaling and NMDA receptors. *Mol Neurobiol*, 2007; 35(3), 224-35.

98. Ji R R, T. Kohno, K. A. Moore and C. J. Woolf. Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms? *Trends Neurosci*, 2003; 26(12), 696-705.

99. Warren JT, Jr., Peacock ML, Rodrigues LC, Fink JK. An MspI polymorphism in the human serotonin receptor gene (HTR2A): detection by DGGE and RFLP analysis. *Hum Mol Genet* 2;338
100. Polesskaya OO, Sokolov BP. Differential expression of the "C" and "T" alleles of the 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics. *J Neurosci Res.* 2002 Mar 15;67(6):812-22.
101. Sanders-Bush E, Fentress H, Hazelwood L. Serotonin 5-HT<sub>2</sub> receptors: molecular and genomic diversity. *Mol Interv* 2003; 3(6):319–30.
102. Lane HY, Liu YC, Huang CL, Hsieh CL, Chang YL, Chang L et al. Prefrontal executive function and D1, D3, 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>6</sub> receptor gene variations in healthy adults. *J Psychiatry Neurosci* 2008; 33(1):47–5
103. Petroutko SJ. Serotonin receptor variants in disease: New therapeutic opportunities? *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1998;861:16-25
104. Buskila D. Developments in the scientific and clinical understanding of fibromyalgia. *Arthritis Research & Therapy* 2009, 11:242.
105. Sanger, G.J. 5-Hydroxytryptamine and functional bowel disorders. *Neurogastroenterol. Motil* 1996, 8: 319–331

**APÊNDICE I****PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE  
GOIÁS****PROGRAMA DE MESTRADO ACADÊMICO EM GENÉTICA****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**Goiânia, 31 de agosto de 2010.**

Você está sendo convidado(a) a participar como voluntário, em uma pesquisa científica. Meu nome é Marcelo Watanabe de Matos, sou o pesquisador responsável e minha área de atuação é a Fisioterapia em Ortopedia e Traumatologia. Após ler com atenção este documento e ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte deste estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável, Dr. Marcelo Watanabe de Matos, pelos telefones: (62) 3251-0800 / (62) 8429-3838. Se desejar deixar de fazer parte desta pesquisa, a qualquer momento, você não será penalizado de forma alguma. Em casos de maiores dúvidas quanto à sua participação nesta pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da PUC-Goiás pelos telefones 3246-1070 ou 3246-1431.

## INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

**Título do projeto:** ANÁLISE DO POLIMORFISMO T102C DO RECEPTOR DE SEROTONINA (5-HT<sub>2A</sub>) EM PACIENTES COM FIBROMIALGIA E CONTROLES

- **Pesquisador responsável:** Fernanda Aparecida Vargas de Brito e Alves
- **Contatos:** (64) 3671-2814 ramal 246 / (64) 8116-6065
- **Objetivos:** o objetivo desta pesquisa é esclarecer a participação de algumas mutações genéticas no surgimento da Fibromialgia.
- **Procedimentos:** para este estudo, será necessária apenas 01 amostra de sangue, que será coletada por funcionários do Laboratório de Análises Clínicas do CRER, com seringas descartáveis e materiais apropriados para a coleta, como luvas de procedimento e máscaras.
- **Acompanhamento:** sua participação será feita pela coleta da amostra de sangue. Sendo assim, o tempo máximo que você precisará para participar será de 05 minutos. Durante este tempo, você será acompanhado pelo pesquisador e por um enfermeiro do CRER, que fará a coleta do sangue.
- **Grupos:** caso você seja paciente cadastrado no CRER, você fará parte do grupo de estudo dos genes contidos no sangue. Caso não seja paciente do CRER, você fará parte, então, do grupo de comparação dos resultados. Os dois grupos são fundamentais para a pesquisa e têm igual importância nos resultados.
- **Riscos:** esta pesquisa não possui grandes riscos à sua saúde, pois todo o material usado na coleta de sangue será esterilizado e descartável, e o único procedimento que pode gerar uma dor leve e momentânea é a aplicação da agulha durante a coleta do sangue. Todos os procedimentos serão realizados por profissionais especializados do CRER. Porém, caso ocorra qualquer acidente

durante a coleta de sangue ou caso você se sinta mal, a equipe médica do CRER lhe prestará a assistência necessária, de forma total e imediata, gratuitamente.

- **Danos recorrentes da pesquisa:** a coleta de sangue é um procedimento simples e comum, não havendo efeitos colaterais causados pelo uso de agulha descartável. Entretanto, a coleta de sangue pode causar um leve desconforto, semelhante ao de uma injeção na veia e em alguns casos, pode deixar uma pequena mancha roxa, que habitualmente melhora em algumas horas ou em poucos dias.
- **Lesões causadas pela pesquisa:** a coleta do sangue não provoca reações colaterais, e será realizada somente após o seu consentimento total, sendo que você tem o direito de desistir da pesquisa a qualquer momento, mesmo antes da coleta do sangue.
- **Direito de ressarcimento e indenização:** qualquer prejuízo que você entenda que tenha sido causado pela sua participação na pesquisa, será passível de indenização a ser paga pelo pesquisador, que se compromete a acatar uma possível decisão judicial legalmente estabelecida, desde que seja comprovada a relação do dano pessoal com a participação na pesquisa.
- **Sua participação neste estudo é voluntária, não havendo portanto, remuneração ou pagamento de qualquer tipo.**
- **Benefícios:** sua participação nesta pesquisa pode ajudar a descobrir novos tratamentos para a Fibromialgia, além de novos métodos de diagnosticar esta doença.
- **Participação:** você precisará doar uma amostra de sangue apenas 01 vez, não sendo preciso que retorne para outras coletas.
- **Período:** esta pesquisa será feita até dezembro de 2010, onde os resultados serão divulgados em revista científica.

- **Sigilo dos dados:** todas as suas informações serão mantidas sob absoluto sigilo, onde o seu nome não será divulgado, ou qualquer resposta que tenha colocado no questionário de sintomas.
- **Garantia de recusa:** você tem a garantia total de poder desistir de sua participação na pesquisa a qualquer momento, sem prejuízo qualquer de seu tratamento no CRER, ou em qualquer outro centro de saúde, público ou privado.
- **Garantia de exclusividade da pesquisa:** os dados obtidos nesta pesquisa serão utilizados somente para ela, não sendo repassados, em hipótese alguma, para outro estudo ou outro centro de ensino e pesquisa.
- **Garantia de ressarcimento de despesas:** suas despesas decorrentes da participação nesta pesquisa serão totalmente ressarcidas pelo pesquisador.

Nome do pesquisador: \_\_\_\_\_

Assinatura do pesquisador: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_



## CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO PESSOAL COMO VOLUNTÁRIO DA PESQUISA

Eu,

\_\_\_\_\_,  
RG: \_\_\_\_\_ CPF: \_\_\_\_\_ / abaixo assinado, concordo em participar do estudo ANÁLISE DO POLIMORFISMO T102C DO RECEPTOR DE SEROTONINA (5-HT<sub>2A</sub>) EM PACIENTES COM FIBROMIALGIA E CONTROLES sob a responsabilidade da pesquisadora Fernanda Aparecida Vargas de Brito e Alves, como sujeito voluntário. Declaro que fui devidamente informado e esclarecido pela pesquisadora sobre os termos da pesquisa, os procedimentos envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Certifico que me foi garantido o direito de poder retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento, assistência ou tratamento.

Local e data:

\_\_\_\_\_

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável:

\_\_\_\_\_

Nome e assinatura do Pesquisador Responsável:

\_\_\_\_\_

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimento sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Observações complementares

## ANEXO I



**PUC  
GOIÁS**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário  
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010  
Goiânia • Goiás • Brasil  
Fone: (62) 3946.1070 • Fax: (62) 3946.1070  
www.pucgoias.edu.br • prope@pucgoias.edu.br

Registro CEP 1563/2010


## DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que o Projeto **ANÁLISE DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EM PACIENTES COM FIBROMIALGIA**, coordenado pelo (a) pesquisador (a) **Marcelo Watanabe de Matos** foi cadastrado no Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (CEP-SGC/PUC Goiás) sob o **CAAE 0115.0.168.000-10**, em 03/09/2010 e **aprovado** em 26/11/2010.

- CEP-SGC/PUC Goiás pode, a qualquer momento, fazer escolha aleatória de estudo em desenvolvimento para avaliação e verificação do cumprimento das normas da Resolução 196/96 (Manual Operacional Para Comitês de Ética em Pesquisa – item 13).
- Informamos que é obrigatória a entrega do relatório de acompanhamento da pesquisa, conforme a categoria de pesquisa realizada, em cumprimento da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.
- Modelo do relatório de acompanhamento da pesquisa se encontra no site do Comitê de Ética <http://www.pucgoias.edu.br/cep> - modelos documentos.

**Categorias de pesquisa**

TCC: Final da pesquisa  
Especialização: Final da pesquisa  
Mestrado: Relatório anual e final  
Doutorado: Relatório anual e final  
Outros: Relatório anual e final

  
Prof. Dr. José Rodrigues do Carmo Filho  
Coordenador do CEP-SGC/PUC Goiás

Goiânia, 26 de novembro 2010.

