



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

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO A118G DO GENE *OPRM1* EM
PACIENTES COM FIBROMIALGIA E CONTROLES**

MARCELO WATANABE DE MATOS

**ORIENTADORA: Prof.a. Dra. Vera Aparecida Saddi
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva**

**GOIANIA-GO
2012**

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

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO A118G DO GENE OPRM1 EM
PACIENTES COM FIBROMIALGIA E CONTROLES**

MARCELO WATANABE DE MATOS

Dissertação de Mestrado 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^a. Dra. Vera Aparecida Saddi.

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva.

**GOIÂNIA-GO
2012**

Dedico esta dissertação à minha família, que com todo o empenho e compreensão, incentivaram a transposição de todas as barreiras impostas ao longo destes anos. Em especial à minha esposa, pilar mestre de minha vida.

RESUMO

Introdução: A fibromialgia pode ser definida como uma síndrome de dor músculo-esquelética difusa e crônica, de caráter não inflamatório. Com processos etiológicos ainda não elucidados, esta patologia tem assumido um papel cada vez mais importante no cenário mundial, com uma prevalência estimada de 2% da população. Atualmente, o possível mecanismo patológico mais discutido é o de uma alteração na percepção da dor, mediada por neurotransmissores excitatórios e inibitórios no Sistema Nervoso Central. Neste contexto, inserem-se os opióides endógenos e seus receptores correlatos. O gene *OPRM1* codifica o principal receptor opióide, denominado receptor mu-opióide, cujo polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) na posição 118 (A118G) afeta significativamente a resposta aos opióides endógenos e sintéticos. **Objetivos:** Os objetivos deste estudo foram comparar a frequência do polimorfismo A118G no gene *OPRM1* em dois grupos de mulheres, incluindo 50 afetadas pela fibromialgia e 49 não afetadas, bem como investigar as possíveis associações entre o polimorfismo A118G e os sintomas clínicos e funcionais da doença. **Metodologia:** Os sintomas clínicos e funcionais do quadro algico das pacientes foram avaliados por meio do Questionário de Impacto da Fibromialgia (do Inglês: *Fibromyalgia Impact Questionnaire* – FIQ). O polimorfismo A118G do gene *OPRM1* foi analisado por meio da reação em cadeia de polimerase seguida de análise de polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição, a partir de DNA extraído de amostras de sangue periférico obtidas dos dois grupos de mulheres. Análise estatística descritiva e comparativa foi realizada a partir dos resultados obtidos. **Resultados:** A análise dos resultados dos sintomas clínicos e funcionais do quadro algico das pacientes com fibromialgia, obtidos por meio do FIQ, comprovaram a gravidade do quadro clínico das pacientes selecionadas neste estudo. As frequências alélicas obtidas para os dois grupos foram: A (86,0%) e G (14,0%) para as pacientes com fibromialgia e A (87,8%) e G (12,2%) para os controles. As frequências genotípicas encontradas foram AA (74,0%); AG (24,0%) e GG (2,0%) para pacientes com fibromialgia e AA (77,6%); AG (20,4%) e GG (2,0%) para os controles. **Conclusões:** Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi detectada entre o grupo de pacientes com fibromialgia e as pacientes do grupo controle. O polimorfismo A118G do gene *OPRM1* não esteve associado com os sintomas clínicos e funcionais do quadro algico das pacientes analisadas neste estudo.

Palavras-chave: Receptores opióides, Síndromes dolorosas, SNP, FIQ

ABSTRACT

Introduction: Fibromyalgia can be defined as a syndrome of chronic and diffuse musculoskeletal pain, with non-inflammatory characteristics. With the etiological processes still unclear, this disease has assumed an increasingly important role worldwide, with a prevalence of 2% estimated in the world population. Currently, the most discussed pathological mechanism for the disease is a change in pain perception mediated by excitatory and inhibitory neurotransmitters in the central nervous system. In this context are very relevant targets the endogenous opioids and their correlated receptors. The *OPRM1* gene encoding the major opioid receptor called mu-opioid receptor, presents a single nucleotide polymorphism (SNP) at position 118 (A118G) that significantly affects the response to endogenous and synthetic opioids. **Objectives:** The objectives of this study were to compare the frequency of A118G polymorphism in the *OPRM1* gene in two groups of women, including 50 women affected by fibromyalgia and 50 unaffected, as well as to investigate the possible associations between the A118G polymorphism with clinical and functional symptoms of the disease. **Methodology:** Patient's clinical and functional pain symptoms were assessed by using the Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ). The A118G polymorphism of the *OPRM1* gene was analyzed by polymerase chain reaction followed by analysis of restriction fragment length polymorphism DNA was extracted from peripheral blood samples obtained from the two groups of women. Descriptive and comparative statistical analysis were performed and the results obtained. **Results:** The results of clinical and functional pain symptoms from fibromyalgia patients, obtained by the FIQ, confirmed the clinical severity of the patients selected in this study. The allele frequencies obtained for the two groups were: A (86,0%) and G (14,0%) for patients with fibromyalgia and A (87,8%) and G (12,2%) for controls. The AA genotype frequencies were found (74,0%) and AG (24,0%) and GG (2,0%) for patients with fibromyalgia and AA (77.6%) and AG (20.4%) and GG (2,0%) for the controls. **Conclusions:** No statistically significant difference was detected between the group of patients with fibromyalgia and control patients. The A118G polymorphism of the *OPRM1* gene was not associated with clinical and functional pain symptoms of the patients analyzed in this study.

Key words: Opioid receptors, Pain syndromes, SNP, FIQ

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mapa corporal mostrando a localização dos pontos dolorosos ou “tender points” no sistema músculo-esquelético. Estes locais devem ser investigados por meio da palpação digital, com a determinação da pontuação total relativa à dor do paciente.....16

Figura 2: Distribuição das pacientes com fibromialgia de acordo com o score de gravidade dos sintomas clínicos avaliados pelo FIQ. É possível notar um predomínio de pacientes com sintomas considerados intensos (n=14) e graves (n=33) de acordo com Bennet (2005). Tal fato demonstra a severidade dos sintomas presentes no grupo de estudo.....39

Figura 3. Gel de poliacrilamida a 8%, corado com nitrato de prata, mostrando bandas de fragmentos gênicos correspondentes aos alelos A118 e G118. As amostras número 1 e 4 correspondem a indivíduos homozigotos (A118A); a amostra número 2 corresponde a um indivíduo homozigoto (G118G); e as amostras 3 e 5 correspondem aos indivíduos heterozigotos (A118G). As canaletas 6 e 7 apresentam bandas correspondentes a padrões de peso molecular de DNA com bandas de 50 e 100 pares de bases, respectivamente.....42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultado das questões 1 a 11 do FIQ, sobre a influência da Fibromialgia nas atividades da vida diária (AVD's).....	40
Tabela 2 - Resultados das questões 12 e 13 do FIQ, sobre o bem estar geral e o absenteísmo ao trabalho, na semana anterior ao preenchimento do questionário.....	41
Tabela 3 - Frequências alélicas relativas ao polimorfismo A118G do gene <i>OPRM1</i> de pacientes e controles.....	43
Tabela 4 - Comparação entre as frequências genótípicas de pacientes e controles.....	43
Tabela 5 - Distribuição das frequências alélicas absolutas e relativas nas pacientes com fibromialgia de acordo com o <i>score</i> de gravidade dos sintomas clínicos.....	44
Tabela 6 - Distribuição das frequências genótípicas absolutas e relativas nas pacientes com fibromialgia de acordo com o <i>score</i> de gravidade dos sintomas clínicos.....	45

SUMÁRIO

1.0 - INTRODUÇÃO	10
1.1 - Definição de Fibromialgia.....	10
1.2 - Histórico da Fibromialgia.....	10
1.3 - Incidência e Prevalência.....	11
1.4 - Sinais e Sintomas.....	13
1.5 - Fatores Etiológicos.....	14
1.6 - Diagnóstico da Fibromialgia.....	15
1.6.1 - Neuroimagem.....	17
1.6.2 - Gatilhos da Fibromialgia.....	17
1.6.3 - Possíveis Marcadores Moleculares.....	18
1.7 - Fatores Associados e Qualidade de Vida.....	19
1.8 - Via de sinalização de estímulos dolorosos.....	20
1.9 - Substâncias Opióides.....	23
1.9.1 - Opióides Endógenos.....	23
1.10 - Receptores Opióides.....	24
1.11 - Gene <i>OPRM1</i>	25
1.12 - Relação entre o SNP A118G e a Fibromialgia.....	28
2.0 - JUSTIFICATIVAS	30
3.0 - OBJETIVOS	31
3.1 - Objetivo Geral.....	31
3.2 - Objetivos Específicos.....	31
4.0 - METODOLOGIA	32
4.1 - Aspectos Éticos.....	32
4.2 - Grupos da Pesquisa.....	32
4.3 - Critérios de Inclusão.....	33
4.4 - Critérios de Exclusão.....	34
4.5 - Coleta de Dados Sintomatológicos (FIQ).....	34
4.6 - Procedimentos da Coleta de Sangue Periférico.....	35
4.7 - Extração de DNA das Amostras de Sangue Periférico.....	36

4.8 - Análise Molecular do Polimorfismo A118G do Gene <i>OPRM1</i>	36
4.9 - Análise Estatística.....	37
4.10 - Análise dos Dados do FIQ.....	38
5.0 - RESULTADOS	38
5.1 - Descrição dos Grupos Caso e Controle.....	38
5.2 - Resultados do FIQ.....	38
5.3 - Análises Moleculares.....	41
5.4 - Frequências Alélicas e Genótípicas Referentes ao Polimorfismo A118G do Gene <i>OPRM1</i> entre Populações Caso (FM) e Controle.....	42
5.5 - Possíveis Associações entre o Polimorfismo A118G e os Sintomas Clínicos dos Pacientes com Fibromialgia.....	44
6.0 - DISCUSSÃO	45
7.0 - CONCLUSÃO	50
8.0 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
9.0 - ANEXOS	59
9.1 Anexo 1: Licença para Uso Acadêmico e Clínico do <i>Fibromylgia Impact Questionnaire</i> (FIQ).....	59
9.2 Anexo 2: Versão Original do FIQ na Língua Inglesa.....	60
9.3 Anexo 3: Versão Adaptada do FIQ para a Língua Portuguesa.....	62
9.4 Anexo 4: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	64
9.5 Anexo 5: Certificado de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás.....	68
9.6 Anexo 6: Termo de Aceitação de Co-Participação em Pesquisa Científica.....	69

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – Definição de Fibromialgia

A Fibromialgia (FM) é descrita como uma síndrome de dor músculo-esquelética crônica multifocal, de caráter não inflamatório e etiologia desconhecida, que provoca o surgimento de pontos musculares sensíveis à palpação, denominados “*Tender Points*”, em locais específicos do corpo, sem sinais de patologia orgânica detectável em exames laboratoriais e de imagem (Provenza *et al.*, 2004). Como principais características, concomitantes às dores musculares difusas, estão presentes o cansaço e a fadiga crônicos, o sono não repousante e múltiplos pontos dolorosos musculares, detectados ao exame físico por pressão digital (Provenza *et al.*, 2004; Podolecki *et al.*, 2009)

1.2 – Histórico da Fibromialgia

A descrição inicial da FM foi realizada no ano de 1904, quando Willian Gowers criou o termo “fibrosite” (Smith *et al.*, 2011). Já em 1977, Smythe e Moldofsky substituíram o termo “fibrosite” por fibromialgia, criando a relação de seus primeiros critérios diagnósticos e estimulando, nesta época, uma cascata de mais de 60 pesquisas, que levaram a um maior reconhecimento da patologia pela comunidade científica internacional (Podolecki *et al.*, 2009; Wolfe *et al.*, 1990).

Inicialmente, a FM foi considerada uma síndrome resultante de processos de somatização, devido ao alto grau de alterações emocionais experimentadas pelos pacientes, bem como por sua frequente associação com um quadro psicológico depressivo. Entretanto, com a rápida evolução científica, a partir da década de 80, a FM passou a ser reconhecida como uma síndrome dolorosa crônica real, de caráter não

inflamatório e de etiologia desconhecida (Provenza *et al.*, 2004). Na década de 90, o *American College of Rheumatology* lançou as diretrizes para classificação dos pacientes com FM, bem como os principais sinais e sintomas apresentados, incluindo os pontos musculares de dor crônica, denominados “*tender points*”, fadiga global, distúrbios do sono, depressão e ansiedade (Wolfe *et al.*, 1990). Em 1991, a Organização Mundial da Saúde (OMS) incorporou a FM na décima revisão da Classificação Internacional de Doenças (CID-10), dando-lhe a designação M79.0 e a classificando como reumatismo não articular (Heymann *et al.*, 2010). Apesar da FM ter sido reconhecida e caracterizada há tempos como uma doença real, sua investigação científica foi aprofundada apenas nas últimas três décadas. Desta forma, pouco se sabe sobre seus mecanismos etiológicos e sua patogênese, resultando na ausência de tratamentos eficazes até os dias atuais (Miquel *et al.*, 2010).

O caráter crônico e potencialmente incapacitante da FM somado ao fato de sua etiopatogenia ainda não ter sido completamente esclarecida (Provenza *et al.*, 2004; Podolecki *et al.*, 2009; Goldenberg *et al.*, 2008), tem estimulado um número crescente de hipóteses acerca de seu provável caráter patogênico multifatorial em indivíduos com predisposição genética (Podolecki *et al.*, 2009).

1.3 – Incidência e Prevalência

Os distúrbios decorrentes da fibromialgia ocorrem principalmente em pacientes do sexo feminino, com faixa etária prevalente entre 30 e 60 anos de idade, em uma proporção que varia entre 6 e 10 mulheres para cada homem afetado (Provenza *et al.*, 2004). Corroborando tal fato, a prevalência estimada da FM nos Estados Unidos atinge cerca de 3,4% das mulheres e 0,5% dos homens daquele país (Podolecki *et al.*, 2009),

podendo sofrer um aumento em sua frequência com o avanço da idade, chegando a 7,4% das mulheres acima dos 70 anos (Podolecki *et al.*, 2009).

Em relação à maior prevalência no sexo feminino, foi relatado que as mulheres costumam apresentar mais dores musculares que os homens, além de maiores respostas à dor aplicada por pressão, ou injeção de substância algica na musculatura (Dannecker *et al.*, 2008). Também foi relatado que mulheres portadoras de FM reportam mais sintomas gerais e inespecíficos, além dos sintomas clássicos da patologia, em comparação com mulheres saudáveis da mesma faixa etária (Bjorkegren *et al.*, 2009).

Em escala global, os pacientes com fibromialgia correspondem a aproximadamente 2% da população mundial, sendo responsáveis por 10% das consultas em ambulatórios de clínica geral e 15% das consultas em ambulatórios de reumatologia (Provenza *et al.*, 2004). Também há relatos uma prevalência mundial com valores variando entre 2,2% e 6,6% (Hauser *et al.*, 2010), enquanto nos Estados Unidos, foi relatada uma prevalência em torno de 5 milhões de indivíduos (Goldenberg *et al.*, 2008).

Outro dado importante a respeito da FM é a sua provável história familiar, visto que os parentes de primeiro grau de um portador possuem uma propensão 8 vezes maior de desenvolver os sintomas (Smith *et al.*, 2011), além de maior prevalência de "tender points", indicando forte potencial de caráter hereditário (Goldenberg *et al.*, 2008).

Dados consistentes a este respeito começaram a ser divulgados em 2004, quando foi pesquisada a agregação familiar na FM. Neste estudo, foram avaliados 533 parentes de primeiro grau de 78 indivíduos com FM, bem como 272 parentes de 40

indivíduos com Artrite Reumatóide. Foi demonstrado que a FM possui um elevado padrão de segregação familiar, usualmente associado à depressão maior nas famílias (Arnold *et al.*, 2004), além de uma maior propensão para o surgimento de síndromes dolorosas em parentes diretos (Smith *et al.*, 2011). No ano seguinte, foi relatada a disseminação da FM segundo um padrão autossômico dominante em 70% dos filhos de fibromiálgicos, sobrepujando os 50% esperados para este tipo de segregação, sendo que o excesso percentual foi explicado, na época, como erro diagnóstico (Buskila *et al.*, 2005).

1.4 – Sinais e Sintomas

O quadro clínico dos fibromiálgicos tem caráter polimorfo, podendo apresentar sintomas variados em diferentes locais e sistemas do corpo. O sintoma clássico presente em todos os pacientes é a dor muscular crônica difusa, que envolve, concomitantemente, a musculatura do tronco e membros e, comumente, o paciente não consegue determinar seu local exato (Provenza *et al.*, 2004). Também são descritos a fadiga crônica com sono pouco reparador, cefaléia, tontura, dificuldades de concentração e memorização (Bjorkegren *et al.*, 2009), alterações do humor, irritabilidade, ansiedade e depressão, sendo que estas duas últimas condições estão presentes em até 70% e 30% dos casos, respectivamente (Santos *et al.*, 2006). Pacientes fibromiálgicos também possuem uma sensibilidade elevada a um grande espectro de estímulos sensoriais, como calor, frio, estímulos mecânicos e pressão isquêmica (Bradley LA, 2009). Frequentemente, os pacientes apresentam sintomas associados, como a cefaléia e parestesias (Dannecker *et al.*, 2008), além de síndrome uretral não-específica (Marques *et al.*, 2006) e disfunções sexuais (Bennett R, 2005).

A dor percebida pelos pacientes possui características de cronicidade elevada, sendo relatada como uma experiência torturante, que perdura por todo o dia, não apresentando horários específicos de agudização. Além dos sintomas físicos, foi relatado que um dos problemas que mais afeta os fibromiálgicos é a dificuldade no diagnóstico da doença, o que leva a um descrédito do indivíduo perante a sociedade, ferindo sua dignidade e provocando a exacerbação psicossomática dos sintomas físicos, em um padrão de *feedback* contínuo (Juuso *et al.*, 2011).

1.5 – Fatores Etiológicos

Os principais fatores etiológicos da fibromialgia não foram ainda completamente elucidados. Alguns estudos dividem os fatores etiológicos da fibromialgia em cinco grandes grupos, sendo estes os fatores genéticos, os ambientais, os neuroendócrinos, as anormalidades do sistema nervoso autônomo e a percepção dolorosa elevada (Goldenberg *et al.*, 2008; DeSantana e Sluka, 2008).

A teoria mais aceita atualmente para justificar a intensa dor na síndrome fibromiálgica é a de alterações no mecanismo de controle da dor, como a disfunção de neurotransmissores. A deficiência funcional de neurotransmissores inibitórios espinhais (opióides endógenos) e supra-espinhais (serotonina, noradrenalina, encefalinas), bem como a hiperatividade de neurotransmissores excitatórios (substância P, bradicinina, etc.) parecem estar intimamente associados à doença (Podolecki *et al.*, 2009; Goldenberg *et al.*, 2008; DeSantana e Sluka, 2008). Recentemente, foi descrito um provável mecanismo de alteração dos sistemas serotoninérgicos, dopaminérgicos e catecolaminérgicos do SNC, por meio de polimorfismos nos genes associados à ação desses neurotransmissores, em um provável padrão de herança poligênica (Buskila e

Puttini, 2006). Alterações no eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA), principalmente distúrbios na resposta aos corticóides, também podem estar associadas à etiologia da fibromialgia (Juruena *et al.*, 2004), na qual indivíduos fibromiálgicos apresentam uma inabilidade em controlar os níveis plasmáticos de cortisol. Também foi relatado que indivíduos normais, submetidos a estímulos causadores de dor em fibromiálgicos, não apresentaram sensibilidade dolorosa, enquanto um estímulo 50% menor que este foi necessário para provocar dor em fibromiálgicos, em comparação com os controles. Tal fato ressalta uma provável associação entre a elevação dos impulsos sensoriais periféricos e o aumento de sensibilidade central a impulsos dolorosos (Bradley LA, 2009).

Outro ponto importante citado pelas pesquisas científicas é a participação dos fatores ambientais no surgimento da patologia. Tal correlação ocorre a partir de uma predisposição genética, a qual parece promover o surgimento dos sintomas após o envolvimento do indivíduo com os fatores de estresse, de ordem emocional ou psicossocial (Becker *et al.*, 2010). Também foi descrita a provável participação de traumas mecânicos como possíveis gatilhos para o surgimento da patologia em indivíduos com predisposição genética (Goldenberg *et al.*, 2008). Estudos com gêmeos demonstram uma participação equivalente dos dois tipos de fatores no surgimento da FM, com fatores genéticos correspondendo a 50% e 50% de fatores ambientais (Smith *et al.*, 2011).

1.6 – Diagnóstico da Fibromialgia

O diagnóstico da Fibromialgia envolve um processo longo, devido à ausência de sinais anátomo-patológicos, o que leva à inexistência de exames clínico-laboratoriais

específicos (Provenza *et al.*, 2004). Sendo assim, o exame inicial dos pacientes envolve a observação dos pontos dolorosos (*tender points*) na musculatura, sendo estes no total de 18 pontos (9 pares separados em cada hemicorpo) (Provenza *et al.*, 2004; Wolfe *et al.*, 1990). Estes pontos (Figura 1) devem emitir uma resposta dolorosa, no momento em que o examinador realiza sobre eles a dígito-pressão com seu polegar (Provenza *et al.*, 2004; Wolfe *et al.*, 1990). A resposta dolorosa recebe uma pontuação específica de acordo com a reação do paciente, sendo 0 para ausência de dor, 1 para dor leve, 2 para exclamação verbal de dor e finalmente 3 para movimento de retirada ou expressão facial de dor, completando um total possível de 54 pontos para os 18 “*tender points*” relacionados pelo “*American College of Rheumatology*” (Provenza *et al.*, 2004; Wolfe *et al.*, 1990). Também devem ser analisados os aspectos psicossomáticos frequentes da patologia (Provenza *et al.*, 2004; Wolfe *et al.*, 1990; Bjorkegren *et al.*, 2009).

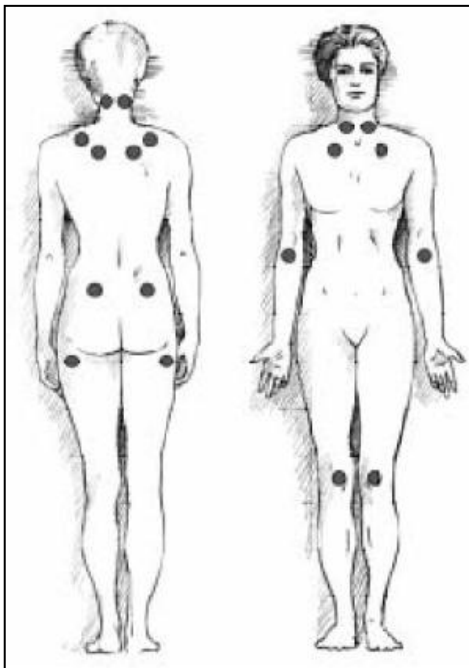


Figura 1: Mapa corporal mostrando a localização dos pontos dolorosos ou *tender points* no sistema músculo-esquelético. Estes locais devem ser investigados por meio da palpação digital, com a determinação da pontuação total relativa à dor do paciente. Fonte: Provenza *et al.*, 2004.

1.6.1 – Neuroimagem

O avanço dos exames de imagem tem possibilitado uma grande evolução na compreensão dos processos de sensibilização central da FM. Foi relatado em estudo que, ao se utilizar o exame de ressonância magnética funcional, pacientes com FM ativaram diferentes áreas do cérebro, quando submetidos a estímulos dolorosos, em comparação com indivíduos sadios. Estas áreas estimuladas têm relação com a antecipação da dor, bem como com a manutenção da atenção à dor e seus aspectos emocionais. Também foi relatado que o exame de tomografia por emissão de positrons em indivíduos com FM revela uma redução severa de receptores mu-opioides em áreas importantes do controle da dor no SNC, o que poderia estar associado à baixa ação de opioides endógenos e de opioides exógenos administrados a esta população (Buskila, 2009).

1.6.2 – Gatilhos da Fibromialgia

Pesquisas recentes têm investigado uma provável associação entre a suscetibilidade genética do paciente com fibromialgia e a exposição a fatores ambientais específicos. Indivíduos com polimorfismos específicos nos sistemas serotoninérgico, dopaminérgico e catecolaminérgico quando expostos a fatores nocivos como traumas físicos, traumas psicológicos, infecções ou síndromes de dor periférica apresentam maior probabilidade de desenvolver a FM comparados aos indivíduos normais. Em uma pesquisa realizada pela internet, com 2.596 pessoas, 73% relataram um trauma emocional ou estresse crônico como fator desencadeante dos sintomas, enquanto 26,7% relataram como gatilhos as doenças agudas e os traumas físicos. A respeito da participação de agentes virais no surgimento da FM, o vírus da hepatite C e

o HIV têm sido comumente relatados como fatores desencadeantes dos sintomas. Contudo, faltam estudos aprofundados a respeito dos benefícios do uso de antibióticos e antivirais em fibromiálgicos. Já os traumas físicos incluem principalmente as lesões cervicais do tipo “chicote” ou “*whiplash*”, onde a cervical é flexionada e estendida rapidamente e os sintomas da FM se desenvolvem em aproximadamente 7,8% dos casos (Buskila, 2009).

1.6.3 – Possíveis Marcadores Moleculares

Devido à inexistência de exames diagnósticos específicos para a FM somada à sobreposição de sintomas variados presentes em fibromiálgicos, o diagnóstico da FM permanece obscuro (Provenza *et al.*, 2004). Contudo, à luz da descoberta dos mecanismos genético-patológicos desta síndrome dolorosa, os estudos têm apontado para uma possível detecção da patologia por meio de seus marcadores moleculares. Em seu estudo sobre a presença de marcadores moleculares na Síndrome da Fadiga Crônica (SFC) e FM, Light *et al.* (2009), relataram que o exercício físico moderado eleva a expressão de genes dos sistemas sensorial, adrenérgico e imunológico, em indivíduos com SFC e FM, em comparação com controles assintomáticos. Tais genes, hiperexpressos, levam a um aumento no número de receptores de neurotransmissores, os prováveis responsáveis pela dor muscular aguda e a fadiga muscular. Os receptores estudados foram o canal iônico de sensibilidade ao ácido (ASIC3), os receptores purinérgicos tipo 2X (P2X4, P2X5), e o receptor transitório de potencial vanilóide Tipo 1 (TRPV1) (Light *et al.*, 2009). Já em seu estudo sobre os avanços no conhecimento sobre a FM, Buskila (2009) relatou possíveis marcadores genéticos relacionados ao sistema serotoninérgico (5-HT_{2A} com fenótipo T/T e SLC6A4 do transportador de

serotonina), ao sistema dopaminérgico (polimorfismo de repetição do exon III do receptor de dopamina D4) e ao sistema de catabolismo catecolaminérgico (polimorfismo da catecol-orto-metil-transferase, COMT, com alteração enzimática).

1.7 – Fatores Associados e Qualidade de Vida

Pacientes acometidos pela fibromialgia, geralmente apresentam alguns fatores agravantes decorrentes da patologia de base. Tais agravantes incluem distúrbios do sono, fadiga crônica e parestesias não dermatômicas, cefaléia, tontura, dor torácica atípica, palpitação, dor abdominal, constipação, diarreia, dispepsia, urgência miccional, dificuldades de concentração e falta de memória (Provenza *et al.*, 2004). Também foram relatados como fatores associados as desordens temporomandibulares e doenças auto-imunes crônicas, como a artrite reumatóide e o lúpus eritematoso sistêmico (Goldenberg *et al.*, 2008), além da síndrome do cólon irritável (Bjorkegren *et al.*, 2009) e depressão maior (Provenza *et al.*, 2004). Desta forma, em 1991, foi publicado um questionário para avaliação da qualidade de vida de pacientes portadores da fibromialgia, o *Fibromyalgia Impact Questionnaire* (FIQ) (Santos *et al.*, 2006; Marques *et al.*, 2006; Bennett R, 2005). Atualmente, os questionários criados com o intuito de mensurar, de forma objetiva, sintomas subjetivos como dor, ansiedade e depressão têm sido amplamente aplicados na área da pesquisa em saúde e se transformaram em uma ferramenta clínica de grande utilidade (Marques *et al.*, 2006). Este questionário é específico para a fibromialgia e contém 10 questões relacionadas à capacidade funcional, à vida profissional do paciente, aos distúrbios psicológicos e aos sintomas físicos que apresenta (Santos *et al.*, 2006; Marques *et al.*, 2006; Bennett R, 2005). Para a obtenção da pontuação (*score*) final, deve haver uma normalização dos *scores* das

questões 1, 2 e 3, devido ao número de itens selecionáveis das mesmas. Desta forma, na questão 1, a pontuação deve ser multiplicada por 3,33, enquanto a pontuação das questões 2 e 3 devem ser multiplicadas por 1,43, para que se obtenha um valor compatível com as 7 questões restantes, as quais possuem 10 alternativas selecionáveis e para que seja possível uma soma total dos escores obtidos em todas as questões (Bennett R, 2005). Quanto maior a pontuação atingida pelo paciente, maior o impacto em sua qualidade de vida (Marques *et al.*, 2006; Bennett, 2005).

Para este estudo, foi escolhida a versão 2.1 do FIQ (Bennett R, 2005), traduzida para o idioma português e previamente validada cientificamente (Rosado *et al.*, 2006), seguindo uma recomendação expressa do próprio autor, constante em seu *web site* (Bennett, 2010). Neste mesmo *site*, foi obtida também a licença eletrônica gratuita, para utilização restrita do FIQ para fins acadêmicos, que está presente no Anexo 1 ao final deste estudo (Bennett, 2010).

1.8 - Via de sinalização de estímulos dolorosos

Atualmente, a dor é um dos maiores problemas de saúde pública e afeta a sociedade como um todo, sendo um grande motivo de preocupação para pacientes e terapeutas, além de ser o principal motivo das consultas médicas (Buskila, 2009). Uma sensação dolorosa pode ser definida como uma experiência sensório-discriminativa, envolvendo mecanismos cognitivos e emocionais complexos. A dor pode ser caracterizada como uma experiência individual, resultante de fatores biológicos, comportamentais e psicológicos (Vossen *et al.*, 2010). Estímulos dolorosos são produzidos a partir do momento em que os nociceptores são lesados ou estimulados, ou quando o próprio sistema nervoso central é estimulado (Xie *et al.*, 2009). A

percepção da dor passa por um processo de modulação no sistema nervoso central, através de mecanismos facilitadores (pronociceptivos), ou inibidores (antinociceptivos) (DeSantana e Sluka, 2008; Xie *et al.*, 2009; Ribeiro *et al.*, 2009). Estes mecanismos envolvem vias sinápticas de transmissão de impulsos até a porção posterior da medula espinhal, onde os neurônios nociceptores fazem conexão com os neurônios carreadores que se direcionam ao córtex cerebral. Tais conexões sofrem influência de interneurônios com caráter facilitatório ou inibitório, que liberam neurotransmissores ativadores, como as catecolaminas (adrenalina, noradrenalina e dopamina), ou inibidores como opióides endógenos, a somatostatina e o ácido gama-aminobutírico “GABA” (Xie *et al.*, 2009; Ribeiro *et al.*, 2009).

Os principais receptores que atuam inibindo a percepção da dor estão no grupo dos receptores opióides (mu, delta e kappa), com destaque especial para os mu-opióides (MOR) que são o alvo principal dos compostos opióides endógenos e exógenos (Raehal e Bohn, 2005; Hwang *et al.*, 2007; Shabalina *et al.*, 2009). Estes receptores pertencem a uma família denominada receptores transmembranares com sete hélices acoplados à proteína G. Portanto, possuem os mesmos mecanismos de regulação, como a dessensibilização do receptor, a internalização, a ressensibilização e a baixa regulação (Raehal e Bohn, 2005). A estimulação por opióides agonistas provoca a fosforilação do receptor pelas cinases específicas, tendo as beta-arrestinas como principal mediador desta reação e principal responsável por desacoplar o receptor e o agonista opióide, prevenindo assim a reestimulação do mesmo e o consequente prolongamento do impulso produzido (Ehlers *et al.*, 2008).

O gene que codifica os receptores mu-opióides é o *OPRM1* (Raehal e Bohn, 2005; Ehlers *et al.*, 2008). Até o momento foram catalogados 20 polimorfismos de

nucleotídeo único (SNPs) deste gene, sendo que o mais frequente é o A118G, responsável pela mudança do códon Asp40Asn, que aparenta ter funcionalidade (Ehlers *et al.*, 2008). Após uma série de estudos sobre o SNP A118G em pacientes saudáveis e outros com dor crônica, verificou-se menor efeito analgésico, após a administração prolongada de morfina, em portadores do genótipo GG, com dessensibilização do receptor mu-opiáceo (MOR) (Raehal e Bohn, 2005; Tapocik *et al.*, 2009). Também foi relatado que os SNPs do gene *OPRM1* parecem ser a causa principal das diferenças individuais de resposta exacerbada aos opiáceos, considerando-se também os possíveis efeitos colaterais (Ehlers *et al.*, 2008). Outro fator importante de regulação relatado para este gene foi o controle epigenético de seus promotores. A expressão do gene *OPRM1* muda drasticamente dependendo do grau de metilação do DNA combinado à modificação estrutural das histonas, que mudam a conformação espacial da cromatina. Estudos relatam que a hipometilação ao redor da região promotora do gene causa a sua ativação, enquanto a hipermetilação da mesma região provoca seu silenciamento (Hwang *et al.*, 2007).

Devido ao fato dos receptores mu-opiáceos serem o alvo primário das substâncias opiáceas, como a morfina e a metadona, pacientes com polimorfismos nestes receptores aparentam apresentar uma variação nos efeitos induzidos no sistema nervoso central (Shabalina *et al.*, 2009).

1.9 – Substâncias Opiáceas

O termo opiáceo se refere a substâncias similares às derivadas do ópio. Os opiáceos, como a morfina, possuem reconhecidamente uma elevada capacidade analgésica, bem como alguns possíveis efeitos colaterais, como a tolerância, a

dependência física, o bloqueio respiratório e a constipação (Raehal e Bohn, 2005). Estes opióides, devido ao seu potencial analgésico elevado, têm sido histórica e amplamente utilizados no tratamento de vários estados dolorosos. Tais estados de dor compreendem desde uma dor moderadamente aguda e nociceptiva, a uma dor crônica avançada ou de estados terminais. A ação analgésica destas substâncias opióides se dá, principalmente, pela sua ligação com os receptores opióides do cérebro e da medula espinhal (Lesniak e Lipkowski, 2011).

1.9.1 – Opióides Endógenos

Os mamíferos possuem três tipos principais de opióides endógenos. Entre eles estão as endorfinas, as encefalinas e as dinorfinas. Todas são neuropeptídeos produzidos pela clivagem de moléculas precursoras (Lesniak e Lipkowski, 2011), que são, respectivamente, a pró-opiomelanocortina “POMC” (Sprouse-Blum *et al.*, 2010), a pró-encefalina “PENK” e a pró-dinorfina “PDYN” (Sehgal *et al.*, 2011). Entre estes, destaca-se a endorfina, que atua tanto no sistema nervoso central quanto no periférico, pelas reações inflamatórias (Sehgal *et al.*, 2011).

A endorfina é produzida, no sistema nervoso central pela glândula pituitária, que processa a pró-opiomelanocortina em resposta a estímulos de estresse fisiológico, como a dor. Contudo, no sistema nervoso periférico, as reações inflamatórias geram a migração de células de defesa como macrófagos, monócitos, linfócitos T e B, que expressam transcritos de mRNA para a POMC e expressam também endorfina durante as fases inflamatórias de uma lesão. No sistema nervoso periférico, a endorfina secretada tem a função de se ligar com os receptores mu-opiídes, pré e pós-sinápticos, inibindo a liberação da substância P que atua como neuropeptídeo essencial

na transmissão de impulsos dolorosos. Já no SNC, a endorfina se liga aos receptores mu-opioides pré-sinápticos e inibe a liberação do ácido gama-aminobutírico (GABA), que é um inibidor da dopamina. A dopamina, quando liberada, provoca uma sensação prazerosa de bem-estar físico e emocional. No sistema nervoso central, os receptores mu-opioides são mais abundantes nas vias descendentes do controle da dor, incluindo a amígdala, a formação reticular mesencefálica e a massa cinzenta periaquedutal (Sprouse-Blum *et al.*, 2010).

1.10 – Receptores Opióides

Segundo Kieffer e Evans (2009), os receptores opioides foram descritos pela primeira vez em 1973 pelos pesquisadores Pert e Snyder, por Simon *et al.* e pelo pesquisador Terenius. Estes opioides podem existir em diversos locais do sistema nervoso central e do sistema nervoso periférico, bem como em diferentes tecidos de origem não neural, como o cólon intestinal.

Os receptores opioides são protótipos dos receptores acoplados da proteína-G, pertencentes à subfamília dos receptores de rodopsina e possuem aproximadamente 400 aminoácidos (Kieffer e Evans, 2009). Os receptores mu-opioides, delta-opioides e kappa-opioides possuem grande homologia em suas sequências e nos níveis pós-traducionais (Kapitzke *et al.*, 2005), podendo atingir até 60% de igualdade em sua sequência de aminoácidos (Kieffer e Evans, 2009). Suas divergências se restringem principalmente às regiões N/C-terminais e aos *loops* extracelulares, responsáveis pelas características farmacológicas únicas destes receptores (Kapitzke *et al.*, 2005).

Quanto ao mecanismo de ação, a estimulação de receptores opioides pode ativar canais de potássio, bem como os canais de cálcio voltagem-dependentes e

provocar a inibição da adenil-ciclase. Há estudos também citando como consequências a ativação da fosfolipase-C e da cascata da MAP-kinase (Kapitzke *et al.*, 2005). Funcionalmente, a alteração dos canais de cálcio e potássio, resultantes da ativação dos receptores opióides, leva à redução da excitabilidade neuronal e da frequência de disparo, além da inibição da liberação de neurotransmissores. Tais fatos parecem estar relacionados com os efeitos da ativação dos receptores opióides, dependendo de sua localização anatômica e de seu subtipo expresso (Kapitzke *et al.*, 2005).

1.11 – Gene *OPRM1*

O termo opióide é utilizado para definir qualquer substância, natural ou sintética, cujo efeito resulte de sua interação com os receptores opióides do SNC (μ , δ , κ) (Ribeiro *et al.*, 2002). O principal representante dos opióides é a morfina. Esta classe de substâncias é amplamente utilizada para o manejo clínico da dor oncológica e da dor aguda, devido à sua potente ação analgésica (Uhl *et al.*, 1999). Porém, existem algumas ressalvas, como seu efeito colateral de depressão respiratória, sensação de euforia e a falta de conhecimento sobre os níveis individuais de tolerância, dependência química e psicológica (Ribeiro *et al.*, 2002).

O gene *OPRM1* é o sítio principal de ligação das substâncias opióides exógenas e endógenas, como a morfina e as endorfinas, respectivamente, sendo possivelmente o principal responsável por variações individuais nos efeitos clínicos resultantes do tratamento analgésico por opióides (Janicki *et al.*, 2006).

Alguns polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) do gene *OPRM1* tem sido frequentemente relacionados com as variações individuais na ação dos opióides, resultando em diferentes níveis de percepção dolorosa e em quantidades diferentes de

administração de analgésicos opióides (Foulkes e Wood, 2008). Dentre os principais SNPs relatados para o gene *OPRM1*, o principal é o A118G (Wand *et al.*, 2002), que causa uma substituição do tipo Asn40Asp (Holliday *et al.*, 2009) (asparagina – ácido aspártico na posição 40 da sequência de aminoácidos) (Bart *et al.*, 2006), no domínio N-terminal extracelular do receptor mu-opióide (Wand *et al.*, 2002). O SNP A118G tem sido amplamente relacionado com níveis elevados de sensibilidade dolorosa, além de ter sua capacidade de ligação com as beta-endorfinas triplicada (Holliday *et al.*, 2009). Os receptores mu-opióides são muito expressos nos neurônios com fator de liberação de corticotropina (CRF), do núcleo paraventricular do hipotálamo, os quais iniciam a ativação do eixo HPA. Estes neurônios têm sua ação inibida pela beta-endorfina do núcleo arqueado (Wand *et al.*, 2002).

Estudos mostram que indivíduos portadores do alelo recessivo 118G apresentam variações na resposta clínica à ação dos opióides, devido à elevação da afinidade pelas beta-endorfinas que alteram a atividade dos canais de potássio (Janicki *et al.*, 2006), apresentando também resposta elevada do eixo HPA à naloxona, uma substância antagonista dos opióides (Janicki *et al.*, 2006). Este mesmo estudo relatou que portadores do alelo recessivo 118G possuem padrões de dor relativamente elevados, em comparação com portadores homozigotos do alelo comum (Janicki *et al.*, 2006). O eixo HPA exerce papel fundamental na resposta aos estímulos internos e externos, onde suas anormalidades parecem estar relacionadas à redução da capacidade dos glicocorticóides circulantes em realizar o feedback negativo na secreção dos hormônios do próprio eixo HPA, como o cortisol (Juruena *et al.*, 2004). Em resposta a estresses físicos, emocionais ou cognitivos, o hipotálamo secreta o hormônio de liberação de corticotropina (CRH), que serve de sinal para a pituitária liberar o hormônio adreno-

corticotrópico (ACTH), que por sua vez estimula o córtex adrenal a elevar a produção de corticosteróides, principalmente glicocorticóides, como o cortisol (Tatro *et al.*, 2009).

Outros estudos mostraram que a baixa atividade dos receptores opióides em portadores do alelo 118G está possivelmente relacionada à baixa expressão de seu mRNA (Bart *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2005), aos baixos níveis protéicos do OPRM1 (Zhang *et al.*, 2005), e também que indivíduos normais portadores do alelo 118G mostraram um nível elevado de resposta do eixo HPA, medido pelos níveis séricos de cortisol após administração de naloxona (Bart *et al.*, 2006; Wand *et al.*, 2002). Outro fator de baixa regulação foi relatado em um estudo publicado em 2006, onde os autores relatam que a interação sinérgica entre o Fator Silenciador Neuronal Restritivo (FSNR) e a proteína Sp3 é necessária para regular negativamente a expressão do gene *OPRM1* (Kim *et al.*, 2006). Estes dados mostram que o gene *OPRM1* é um gene relevante no que tange aos mecanismos da percepção e modulação da dor e que a presença do SNP A118G possivelmente interfere na dose de opióides necessária para a analgesia, bem como na proteção contra a toxicidade destas substâncias (Janicki *et al.*, 2006).

Em estudo publicado por Silverman (2009), foi relatada uma crescente prevalência de Hiperalgia Induzida por Opióides (HIO), relacionando este fato como um problema resultante da administração prolongada destas substâncias analgésicas, como ocorre em pacientes fibromiálgicos.

1.12 – Relação entre o SNP A118G e a Fibromialgia

O gene *OPRM1*, localizado no cromossomo 6q24-q25 possui aproximadamente 200kb, com pelo menos 9 exons e 19 variações por splicing, sob o controle de múltiplos

promotores (Juruena *et al.*, 2004). O receptor inicial *OPRM1*, com 80kb e 4 exons, é bastante abundante e composto por uma região de regulação transcricional, quatro exons e três íntrons (Ono *et al.*, 2009), e seu haplótipo possui mais de 100 polimorfismos descritos (Mague e Blendy, 2010).

Historicamente, em julho de 1999, foi publicado um estudo relevante a respeito do gene *OPRM1*, que descrevia sua possível ação nos sistemas antinociceptivos (Uhl *et al.*, 1999). Clinicamente, a descoberta de possíveis variações neste gene impulsionou as pesquisas a seu respeito, tendo em vista a utilização crescente de substâncias opióides exógenas no tratamento da dor resultante do câncer (Ribeiro *et al.*, 2002).

Até a presente data, os estudos científicos têm correlacionado alterações importantes em neurotransmissores do SNC, comumente encontradas em indivíduos com FM. Entre elas, estão a elevação da substância P e do glutamato, os quais possuem características pronociceptivas, bem como a redução de serotonina, norepinefrina e dopamina, que são essencialmente antinociceptivas. Contudo, nota-se nas pesquisas um fator intrigante, que é a elevação dos opióides endógenos em fibromiálgicos, o que seria um fato contraditório, tendo em vista seu papel de destaque na inibição das sinapses nociceptivas aferentes (Smith *et al.*, 2011).

Esta elevação dos peptídeos opióides nos tecidos de fibromiálgicos parece estar relacionada com a presença de opióides endógenos das células inflamatórias (Sehgal *et al.*, 2011). A inflamação crônica serve como fator de migração para células de defesa, que contêm as substâncias precursoras dos opióides endógenos (POMC, PENK e PDYN) e os sintetizam diretamente no sítio de inflamação, na tentativa de reduzir os estímulos dolorosos locais (Sehgal *et al.*, 2011; Kapitzke *et al.*, 2005). Estes leucócitos agem em fases diferentes da inflamação, sendo os granulócitos os responsáveis pela

produção local de opióides na fase aguda, enquanto monócitos e macrófagos o fazem na fase tardia das lesões, onde o principal e mais produzido opióide endógeno é a endorfina (Sehgal *et al.*, 2011). A associação destas condições poderia estar relacionada também com um provável quadro de Hiperalgisia Induzida por Opióides (OIH) em pacientes com FM. Nesta condição, a elevação da administração de opióides endógenos ou exógenos pode levar o indivíduo ao estado de tolerância, que é a redução gradual dos efeitos dos opióides para uma mesma dosagem, bem como ao estado de sensibilização dolorosa, que elevaria os padrões de dor em resposta à elevação na dosagem das mesmas substâncias opióides (Silverman, 2009). Associado a estes fatos, relatos científicos em estudos com animais sugerem que o polimorfismo A118G do gene *OPRM1* causa uma alteração extremamente deletéria, com redução de uma vez e meia dos níveis de mRNA, bem como uma redução de dez vezes nos níveis protéicos do receptor em seus portadores (Zhang *et al.*, 2005).

2 - JUSTIFICATIVAS

A fibromialgia é uma patologia comum em ocidentais adultos, podendo se manifestar como uma doença incapacitante (Provenza *et al.*, 2004). Os mecanismos patológicos ainda são pouco conhecidos, o que ressalta a necessidade de estudos sobre seus fatores causais (Podolecki *et al.*, 2009). Considerando os dados disponíveis na literatura até o momento, sobretudo os fortes indícios que nessa doença ocorrem alterações nas vias de sinalização da dor, investigamos o polimorfismo A118G do gene do receptor de mu-opioides (*OPRM1*), em um grupo de pacientes com fibromialgia e um grupo controle.

Pacientes com o alelo G do receptor mu-opioides respondem de forma variada aos estímulos dolorosos e às drogas opioides. Uma vez que os receptores mu-opioides representam o principal alvo das substâncias opioides agonistas, tais receptores estão diretamente relacionados à percepção e ao surgimento de dores musculares em seres humanos (Janicki *et al.*, 2006).

Considerando ainda que a fibromialgia parece apresentar forte componente familiar, pois parentes de primeiro grau de pacientes com fibromialgia têm oito vezes mais chance de desenvolver a doença, quando comparados ao resto da população, e, ainda, que esses indivíduos sejam normalmente mais sensíveis a estímulos dolorosos, estudos sobre variações genéticas nessa doença são amplamente justificados (Smith *et al.*, 2011).

3 - OBJETIVOS

3.1 – Objetivo Geral

Comparar as frequências alélica e genotípica do polimorfismo A118G em um grupo de mulheres diagnosticadas com fibromialgia.

3.2 – Objetivos Específicos

- 1) Investigar o *score* de gravidade dos sintomas clínicos em 50 pacientes com FM, de acordo com o questionário FIQ.
- 2) Determinar as frequências alélica e genotípica do polimorfismo A118G do gene *OPRM1* em um grupo de 50 mulheres diagnosticadas com FM, pacientes do Ambulatório de Reumatologia do Centro de Reabilitação e Readaptação Dr. Henrique Santillo (CRER), por meio de randomização dos pacientes já cadastrados com este diagnóstico.
- 3) Investigar as frequências alélica e genotípica do polimorfismo A118G do gene *OPRM1* em um grupo de 49 mulheres voluntárias saudáveis, randomizadas a partir do registro de funcionárias do Centro de Reabilitação e Readaptação Dr. Henrique Santillo (CRER).
- 4) Comparar as frequências alélica e genotípica do polimorfismo A118G do gene *OPRM1* nos dois grupos de mulheres.
- 5) Investigar as possíveis associações entre o polimorfismo A118G do gene *OPRM1* e a sintomatologia apresentada pelas pacientes diagnosticadas com fibromialgia.

4 – METODOLOGIA

4.1 – 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 5 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 Anexo 4 ao final deste estudo.

4.2 – Grupos da Pesquisa

O grupo de estudo foi composto por 50 mulheres diagnosticadas com fibromialgia, 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 50 pacientes com diagnóstico comprovado de fibromialgia, ao serem contactadas e recrutadas

diretamente pelo pesquisador, receberam uma primeira explicação sobre os objetivos da pesquisa, bem como sobre os procedimentos envolvidos em sua participação (coleta de sangue e preenchimento de questionário) e bem como sobre a importância desta pesquisa no avanço rumo ao melhor entendimento dos fatores etiológicos da síndrome fibromiálgica.

O grupo controle foi composto pelo mesmo número de 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 e colaboradora desta pesquisa, dentro do grupo de funcionárias da instituição, buscando-se ao máximo a equiparação da faixa etária com as participantes do grupo de estudo. Contudo, a amostra de uma destas voluntárias não foi devidamente identificada na lista criada pelo Laboratório de Análises Clínicas do CRER e foi descartada, restando 49 controles saudáveis para análise. O termo de aceitação de co-participação em pesquisa científica, assinado pelos representantes clínico e administrativo do CRER, consta em sua forma plena no Anexo 6 ao final deste estudo.

4.3 – Critérios de Inclusão

Pacientes do sexo feminino, com diagnóstico clínico comprovado de fibromialgia há mais de seis meses, com idade entre 30 e 60 anos, em atendimento regular no Ambulatório de Reumatologia do CRER, que estivessem realizando o tratamento clínico, que não possuíssem parentes próximas trabalhando no CRER e que aceitassem participar do projeto ao assinar o TCLE. Para a composição do grupo

controle, foram incluídas mulheres saudáveis, assintomáticas, com a mesma faixa etária do grupo randomizado para estudo, que não possuíssem parentes próximas em tratamento de FM no CRER e que também aceitaram participar da pesquisa e assinaram o TCLE.

4.4 – Critérios de Exclusão

Pacientes com diagnóstico de fibromialgia não comprovado clinicamente há mais de seis meses, com parentes próximos em tratamento de FM no CRER, que não estivessem realizando o tratamento clínico regular e que não se enquadrem nos parâmetros da pesquisa. Também foram excluídas da pesquisa as analfabetas, visto que seria necessário o auto-preenchimento do FIQ.

4.5 – Coleta de Dados Sintomatológicos (FIQ)

A coleta dos dados sintomatológicos foi realizada por meio da aplicação do *Fibromyalgia Impact Questionnaire* (FIQ). Este questionário tem a função de mensurar objetivamente os impactos negativos da fibromialgia sobre a qualidade de vida dos pacientes, o que possibilita a análise de uma possível correlação entre a presença dos polimorfismos genéticos estudados e o padrão de dor crônica difusa, percebida pelos pacientes fibromiálgicos. Os participantes submetidos à aplicação do FIQ foram instruídos a marcar apenas uma opção em cada questão, correspondendo àquela que mais se aproximava de sua capacidade física, bem como de seus sintomas físicos e psicológicos. Os dados sintomatológicos de cada paciente foram catalogados e

armazenados de forma numérica, objetivando a preservação as identidades dos participantes pelo sigilo das informações pessoais obtidas. A versão original do FIQ na língua inglesa, bem como a versão adaptada para a língua portuguesa, estão presentes em sua forma plena, respectivamente nos Anexos 2 e 3 ao final deste estudo.

4.6 – Procedimentos da Coleta de Sangue Periférico

Após confirmada a participação, as pacientes com FM tiveram suas vindas ao CRER agendadas e, durante a mesma, foram novamente informadas sobre os objetivos e a metodologia da pesquisa, além de serem convidadas a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). As pacientes que concordaram em participar da pesquisa e assinaram o TCLE, preencheram também o FIQ para mensuração do impacto da fibromialgia em seus hábitos cotidianos. A leitura dos termos da pesquisa, a assinatura do TCLE e o preenchimento do questionário FIQ foram realizados e acompanhados pelo pesquisador (Marcelo Watanabe de Matos), 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 total das amostras de sangue, de pacientes e controles, todas foram levadas para o Laboratório de Diversidade Genética da PUC-Goiás, onde foram realizadas as análises moleculares.

4.7 – 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 Pontifícia Universidade Católica de Goiás, utilizando o kit comercial PureLink™ Genomic DNA Kit (Invitrogen). A extração foi realizada segundo o protocolo fornecido pelo fabricante.

4.8 – Análise Molecular do Polimorfismo A118G do Gene *OPRM1*

O DNA genômico purificado, foi congelado a -20°C até ser utilizado para amplificação. O polimorfismo A118G foi analisado pelo método de PCR associado à análise de polimorfismos de fragmentos de restrição (RFLP). Os oligonucleotídeos iniciadores usados na amplificação de um fragmento do gene *OPRM1*, contendo o SNP A118G foram: 5`-GGTCAACTTGTCCTTAGATCGC-3` e 5`-AATCACATACATGACCAGGAAGTTT-3` e o fragmentos amplificados apresentavam 193 pares de bases (Zhang *et al.*, 2010).

As reações de PCR foram realizadas em um volume total de 25ul, contendo 2xPCR Taq Mix, 10pM de cada primer, 100ng do DNA genômico purificado e Taq polimerase. O protocolo de amplificação utilizado teve início com uma etapa de

desnaturação por 3 minutos a 94°C, seguida por 38 ciclos de 30 segundos a 94°C, 1 minuto a 60°C e 1 minuto a 72°C e uma extensão final de 10 minutos a 72°C. Após a amplificação por PCR, 10ul do produto amplificado foi submetido à digestão, por 12 horas a 37°C, com 20 U da enzima Bsh1236-I (MBI Fermentas). 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 193 pares de bases do gene OPRM1 resulta em fragmentos de 169pb e 24pb, quando o alelo G está presente. O fragmento não é digerido quando o alelo A está presente. Desta forma, para os indivíduos homozigotos (AA), apenas um fragmento com 193pb é visualizado, enquanto para heterozigotos (AG), fragmentos com 193pb, 169pb e 24pb são visualizados. Para os homozigotos (GG), duas bandas com 169pb e 24pb são visualizadas no gel (Figura 2).

4.9 – Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada por meio do *software* GenePop® Webversion 4.1.0. A utilização deste programa permitiu avaliar as frequências alélicas e genotípicas das populações caso e controle, bem como o equilíbrio de Hardy-Weinberg. A comparação das frequências alélicas e genotípicas foi feita por meio do teste t Student, que é mais adaptado para comparação entre as médias de grupos populacionais, quando o desvio padrão destas populações é desconhecido (PUCRS, 2012).

4.10 – Análise dos Dados do FIQ

A análise dos dados obtidos através do FIQ seguiu os critérios de Bennett R (2005), sendo realizada a correção dos pontos das questões 1, 2 e 3, cada uma com seu coeficiente predefinido. A pontuação da questão 1 (itens 1 a 11) foi obtida somando-se os resultados das questões e dividindo este valor pelo número de questões respondidas. Já na questão 2, a pontuação foi obtida de modo inversamente proporcional à quantidade de dias assinalada, enquanto na questão 3, foram obtidas as pontuações de forma direta, com o valor correspondente à quantidade marcada de dias. Desta forma, obteve-se um valor complementar às 7 questões seguintes, de 10 pontos cada. Também foi desenvolvida uma análise descritiva simplificada dos dados mais relevantes do FIQ, onde estes resultados foram transformados em valores percentuais, tabulados e apresentados em forma de gráficos.

5.0 – RESULTADOS

5.1 – Descrição dos Grupos Caso e Controle

O grupo de pacientes foi composto por 50 mulheres portadoras da síndrome fibromiálgica, com média de idade de 50,3 anos (desvio padrão de 6,6). Já o grupo controle foi composto por um total de 49 voluntárias saudáveis, pertencentes ao quadro de funcionários do CRER. A média de idade do grupo controle foi 45,9 anos (desvio padrão de 7,2).

5.2 – Resultados do FIQ

Segundo Bennett (2005), a maior parte dos pacientes afetados pela fibromialgia possui uma pontuação próxima de 50, enquanto pacientes com sintomas severos alcançam pontuações iguais ou superiores a 70. Analisando os resultados do FIQ obtidos das participantes portadoras de fibromialgia, foi obtida uma pontuação média equivalente a 74,2 pontos (desvio padrão de 14,7), o que corresponde à pontuação de pacientes severamente afetados pela FM. O Gráfico 1 apresenta a quantidade de participantes que obtiveram até 50 pontos (sintomas clássicos), as que obtiveram entre 50 e 70 pontos (sintomas intensos), bem como as que obtiveram acima de 70 pontos (sintomas severos):

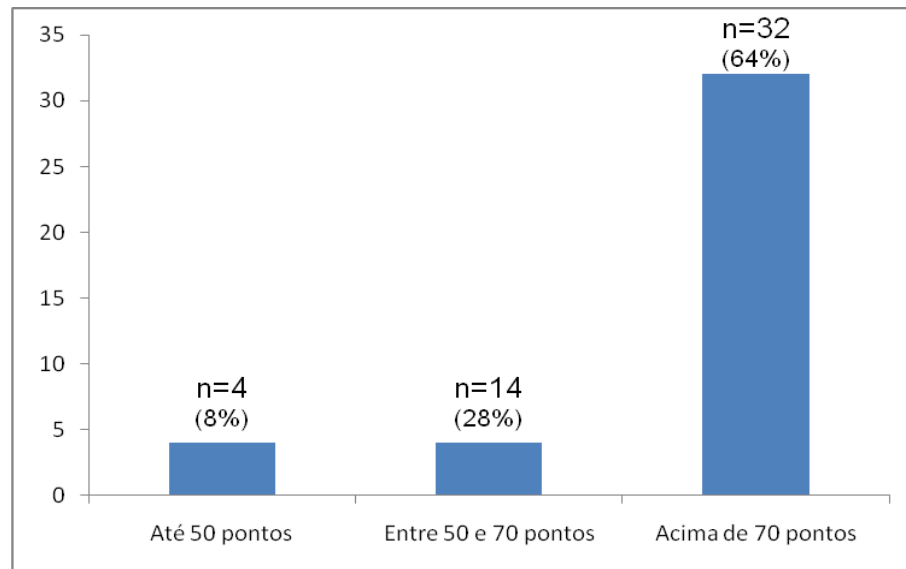


Figura 2: Distribuição das pacientes com fibromialgia de acordo com o *score* de gravidade dos sintomas clínicos avaliados pelo FIQ. É possível notar um predomínio de pacientes com sintomas considerados intensos (n=14) e graves (n=33) de acordo com Bennett (2005). Tal fato demonstra a severidade dos sintomas presentes no grupo de estudo

A análise descritiva dos dados do FIQ (Tabela 1) mostra os resultados obtidos para as questões 1 a 11 do questionário, respondidas pelas pacientes com FM. Mesmo com a queixa de dor, as pacientes deste estudo relataram uma menor limitação no desempenho das tarefas diárias, provavelmente, pelo fato de não terem auxílio para o

desempenho de tais tarefas. De acordo com os resultados, 51,52% das participantes afirmaram realizar as atividades diárias sempre; 14,44% eram capazes de realizá-las quase sempre; 16,04% eram capazes de realizá-las quase nunca e 18,00% nunca eram capazes de realizar tais tarefas. De forma isolada, as questões de número 7 e 11 apresentaram as menores proporções para a capacidade das mulheres realizarem as tarefas diárias sempre.

Tabela 1: Resultado das questões 1 a 11 do FIQ, sobre a influência da Fibromialgia nas atividades da vida diária (AVD's).

QUESTÃO	SEMPRE	QUASE SEMPRE	QUASE NUNCA	NUNCA
1 - Ir às compras?	45,10%	17,65%	19,60%	17,65%
2 - Tratar da roupa na máquina de lavar?	58,82%	13,73%	9,80%	17,65%
3 - Cozinhar?	76,47%	9,80%	7,85%	5,88%
4 - Lavar louça à mão?	76,47%	7,85%	5,88%	9,80%
5 - Aspirar a casa?	43,15%	13,72%	9,80%	33,33%
6 - Fazer as camas?	66,66%	17,65%	11,76%	3,93%
7 - Andar vários quarteirões (200 a 500m) ?	31,37%	23,54%	11,76%	33,33%
8 - Visitar a família ou os amigos?	39,22%	11,76%	39,22%	9,80%
9 - Tratar das plantas ou praticar o seu passatempo?	45,09%	15,70%	5,88%	33,33%
10 - Se deslocar em seu carro próprio ou em transporte público?	70,60%	11,76%	7,84%	9,80%
11 - Subir as escadas?	13,72%	15,68%	47,05%	23,52%
MÉDIA	51,52%	14,44%	16,04%	18,00%

A Tabela 2 apresenta os dados obtidos para as questões 12 e 13 do FIQ, referentes ao absenteísmo e bem estar geral das mulheres com FM na semana anterior ao preenchimento do questionário. Com relação à questão 12 (quantidade de dias com bem estar geral), 86,28% dos casos (44 pacientes) relataram que não sentiram bem

estar em nenhum dia da semana; 9,80% (5 participantes) relataram apenas 1 dia; 1,96% relataram sentir-se bem durante 4 dias e 1,96% durante 6 dias.

Com relação à questão 13 do FIQ (absenteísmo ou não realização das tarefas domésticas na semana anterior ao preenchimento do questionário), a maioria das pacientes, 92,15% (47 pacientes) não foram capazes de trabalhar ou realizar as tarefas domésticas devido aos sintomas da FM. Dentre os demais pacientes, 3,93% (2 participantes) relataram absenteísmo e incapacidade de realização das tarefas em 6 dias.

Tabela 2: Resultados das questões 12 e 13 do FIQ, sobre o bem estar geral e o absenteísmo ao trabalho, na semana anterior ao preenchimento do questionário.

Respostas	0	1	2	3	4	5	6	7
12- Na última semana, em quantos dias se sentiu bem?	86,2%	9,8%	0	0	2,0%	0	2,0%	0
13- Na última semana, quantos dias faltou ao trabalho e/ou não realizou as tarefas domésticas, devido à fibromialgia?	0	2,0%	0	0	2,0%	0	3,9%	92,1%

5.3 – Análises Moleculares

As amostras de DNA obtidas do sangue periférico de pacientes (n=50) e controles (n=49) foram submetidos à amplificação por PCR, resultando em um produto de 193 pares de bases. A digestão deste produto com a enzima Bsh1236I resulta em dois fragmentos (169pb e 24 pb) quando o alelo “G” está presente e no fragmento intacto (193pb) quando o alelo “A” está presente. Todas as amostras apresentaram

resultados satisfatórios. A Figura 2 exibe um gel de poliacrilamida utilizado para a análise molecular deste estudo.

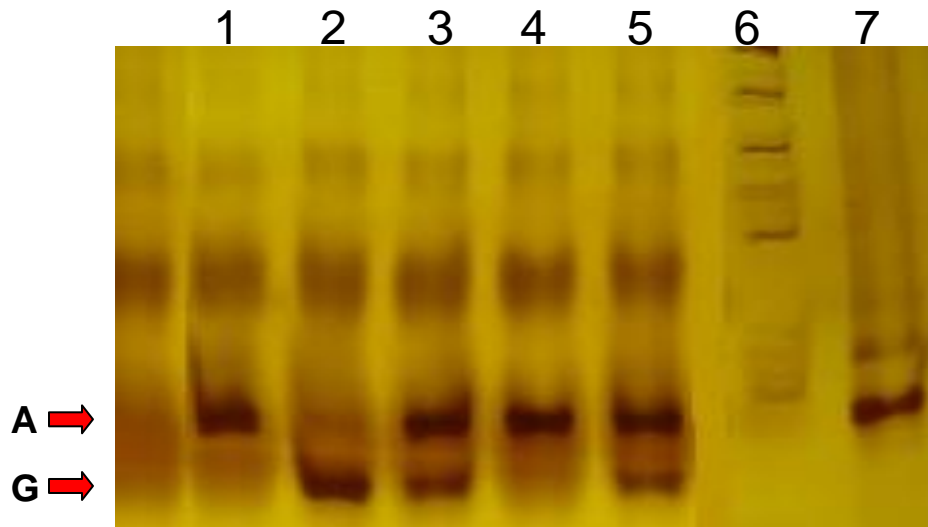


Figura 3. Gel de poliacrilamida a 8%, corado com nitrato de prata, mostrando bandas de fragmentos gênicos correspondentes aos alelos A118 e G118. As amostras número 1 e 4 correspondem a indivíduos homozigotos (A118A); a amostra número 2 corresponde a um indivíduo homozigoto (G118G); e as amostras 3 e 5 correspondem aos indivíduos heterozigotos (A118G). As canaletas 6 e 7 apresentam bandas correspondentes a padrões de peso molecular de DNA com bandas de 50 e 100 pares de bases, respectivamente.

5.4 – Frequências Alélicas e Genóticas Referentes ao Polimorfismo A118G do Gene *OPRM1* entre Populações Caso (FM) e Controle

As frequências dos alelos A118 e G118 foram, respectivamente, de 86,0% (86/100) e 14,0% (14/100) para as pacientes com fibromialgia, e de 87,8% (86/98) e 12,2% (12/98) para o grupo controle (Tabela 3). Não houve diferença estatisticamente significativa entre as frequências alélicas obtidas para os dois grupos estudados ($p=0,834$).

Tabela 3: Frequências alélicas relativas ao polimorfismo A118G do gene OPRM1 em pacientes com fibromialgia e controles

Grupos de estudo	Alelos – A	Alelos – G	Total de Alelos
	n (%)	n (%)	
Pacientes	86 (86,0%)	14 (14,0%)	100
Controles	86 (87,8%)	12 (12,2%)	98
Total de alelos	172 (86,9%)	26 (13,1%)	198

As frequências genóticas encontradas para os casos (FM) foram de 74,0% (37/50) para homozigotos AA; 24,0% (12/50) para heterozigotos AG e 2,0% (1/50) para homozigotos GG. No grupo controle, as frequências genóticas encontradas foram de 77,6% (38/49) para homozigotos AA; 20,4% (10/49) para heterozigotos AG e 2,0% (1/49) para homozigotos GG (Tabela 4). Não houve diferença estatisticamente significativa entre as frequências genóticas obtidas para os dois grupos estudados ($p=0,839$).

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

Grupos de estudo	Genótipos			Total
	AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)	
Pacientes	37 (74,0%)	12 (24,0%)	1 (2,0%)	50
Controles	38 (77,6%)	10 (20,4%)	1 (2,0%)	49
Total por genótipo	75 (75,8%)	22 (22,2%)	2 (2,0%)	99

5.5 – Possíveis Associações entre o Polimorfismo A118G e os Sintomas Clínicos dos Pacientes com Fibromialgia

O polimorfismo do códon 118 do gene *OPRM1* foi avaliado em relação aos diferentes aspectos clínicos das 50 pacientes com fibromialgia. Os resultados do FIQ permitem classificar as pacientes em dois grandes grupos clínicos, de acordo com um *escore* numérico. Pacientes com *escore* acima de 70 são considerados como tendo sintomas severos, enquanto aquelas com *escore* abaixo de 70 são consideradas como tendo sintomas clássicos ou até intensos da doença. Nenhuma associação estatisticamente significativa foi detectada entre o polimorfismo A118G do gene *OPRM1* e os grupos de pacientes com fibromialgia classificadas de acordo com o *escore* de gravidade dos sintomas e aspectos clínicos. Comparando os grupos de pacientes graves e clássicos com relação à presença dos alelos “A” e “G”, nenhuma diferença estatística significativa foi observada entre eles ($p=0,764$). Do mesmo modo, a comparação genotípica entre os mesmos grupos sintomáticos não apresentou diferença significativa ($p=0,771$). Estes resultados estão demonstrados nas tabelas 5 e 6, respectivamente:

Tabela 5: Distribuição das frequências alélicas absolutas e relativas nas pacientes com fibromialgia de acordo com o *escore* de gravidade dos sintomas clínicos.

Pontos do FIQ	Alelos – A n (%)	Alelos – G n (%)	Total de Alelos n (%)
Maior ou igual a 70	30 (88,3%)	4 (11,7%)	34
Menor que 70	56 (84,8%)	10 (15,2%)	66
Total de alelos	86 (86,0%)	14 (14,0%)	100

Tabela 6: Distribuição das frequências genótípicas absolutas e relativas nas pacientes com fibromialgia de acordo com o *escore* de gravidade dos sintomas clínicos.

Pontos do FIQ	Genótipos			Total
	AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)	
Maior ou igual a 70	13 (76,5%)	4 (23,5%)	0 (0,0%)	17
Menor que 70	24 (72,7%)	8 (24,3%)	1 (3,0%)	33
Total por genótipo	37 (74,0%)	12 (24,0%)	1 (2,0%)	50

6.0 – DISCUSSÃO

O estudo do polimorfismo A118G do gene *OPRM1* vem sendo bastante explorado em países da Europa, América do Norte, e países como a Índia, Israel e China (Podolecki *et al.*, 2009; Smith *et al.*, 2011; Buskila D, 2009). Contudo, não são encontrados estudos sobre este mesmo polimorfismo envolvendo populações da América do Sul, especificamente do Brasil. Sendo assim, esta pesquisa adquire o caráter inédito em âmbito nacional, no que se refere ao estudo da presença do polimorfismo A118G em uma amostra da população brasileira. Tal iniciativa traz grandes benefícios para o cenário científico nacional, ao passo que insere o Brasil em um esforço internacional na busca dos mecanismos etiológicos da FM, os quais permanecem obscuros e refletem uma patologia extremamente incapacitante, com elevação gradativa de sua incidência mundial.

A divulgação de um estudo sobre este polimorfismo na população brasileira também abre perspectivas para o desenvolvimento de novos projetos de pesquisa, envolvendo amostras populacionais maiores em diversas partes do país, visto que há

uma grande variação populacional no Brasil, resultado direto da intensa miscigenação ocorrida desde o descobrimento até os dias atuais, envolvendo indivíduos de todos os continentes.

Analisando os dois grupos deste estudo, foi possível observar que ambos estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg, o que permitiu a realização das análises propostas para o SNP A118G, do gene *OPRM1*. Para a comprovação quanto à presença dos sintomas da FM nas pacientes selecionadas, foi aplicado o FIQ antes da coleta de sangue, que permitiu também a avaliação da influência dos sintomas da FM sobre as atividades da vida diária das pacientes.

O primeiro ponto passível de análise é a porcentagem de alelos polimórficos “G” encontrados no grupo de pacientes e no grupo de controles saudáveis. Ao se comparar os dados encontrados com os dados publicados por Mague e Blendy (2010) , nota-se que as proporções encontradas de 14,0% para pacientes e 12,5% para controles se aproxima da proporção esperada para descendentes de europeus, definida entre 15,0% e 30,0%, afastando-se da proporção esperada para descendentes de asiáticos (40 a 50%) e afrodescendentes americanos (1 a 3%). A proporção genotípica semelhante entre pacientes e controles para os genótipos AA (74% - 77%), bem como para os genótipos AG (24% - 20,4%) e GG (2% - 2%) aponta para uma influência nula do polimorfismo A118G sobre o surgimento dos sintomas da FM, assim como relatado por Finan *et al.* (2010), que apresentaram dois estudos com associação nula entre este polimorfismo e os sintomas fibromiálgicos. Esta afirmação é reforçada pelo estudo de Holliday *et al.* (2009), que não encontrou associação entre o SNP A118G e a dor difusa crônica em pacientes com FM do Reino Unido.

A avaliação de uma possível influência do SNP A118G sobre a intensidade dos sintomas no grupo de pacientes com FM também não demonstrou uma correlação significativa ($p=0,764$ e $p=0,771$, respectivamente). Contudo, Fillingim *et al.* (2008) relataram em seu estudo, que pacientes fibromiálgicos portadores de pelo menos um alelo G apresentaram maiores intensidades de dor em resposta a estímulos de pressão, quando comparados a indivíduos homozigotos para o alelo A. Esta contradição pode ser explicada pela grande variedade de genes que participam dos sistemas de transmissão da dor no sistema nervoso central e periférico, os quais podem estar modificados em pontos diferentes da via da dor e ocasionar sintomas sobrepostos ou semelhantes nos tecidos moles e no eixo HPA (Buskila *et al.*, 2005; Bradley, 2009), advindos de polimorfismos diversos. Janicki *et al.* (2006), relataram que o alelo G é menos frequente em pacientes com dor crônica e que precisam de maiores doses de analgésicos opióides, o que colabora com esta contradição.

A Fibromialgia, parece resultar da associação entre a predisposição genética e fatores ambientais (Buskila e Neumann, 2005; Hauser *et al.*, 2009). Segundo Buskila (2009), os fatores genéticos se relacionam diretamente aos sistemas serotoninérgicos, dopaminérgicos e catecolamiérgicos. Assim, diferentes SNPs podem provocar a alteração da modulação dos impulsos dolorosos no Sistema Nervoso Central. Também são relatadas alterações do Eixo HPA, responsável pela resposta ao estresse e que se apresenta hipoativo em pacientes com FM (Juruena *et al.*, 2004), porém com um nível sérico normal de cortisol em fibromiálgicos após exercícios estáticos (Kadetoff e Kosek, 2010). Recentemente, tem sido relatado o fato das células imunológicas produzirem opióides endógenos, como as endorfinas, encefalinas e dinorfinas, no próprio local de lesão no tecido periférico (Sehgal *et al.*, 2011). Tal fato pode levar a suspeitas sobre

uma possível hiperalgesia induzida por opióides em pacientes com FM, onde a produção excessiva e constante de opióides endógenos poderia causar a baixa responsividade destes indivíduos aos opióides exógenos, ao mesmo tempo em que provaria o aumento da sensibilidade dolorosa (Silverman, 2009), sendo portanto um fator que necessita de maior investigação científica.

Quanto aos fatores ambientais da FM, Buskila (2009) descreve os traumas físicos, o estresse psicológico, as infecções e síndromes dolorosas periféricas como possíveis gatilhos da FM. Já em uma pesquisa desenvolvida com 2.596 fibromiálgicos utilizando a internet, 73% dos entrevistados relataram um trauma psicológico ou crônico como fator desencadeante dos sintomas (Bennett *et al.*, 2007), o que corrobora a idéia da interação entre a predisposição genética e os fatores ambientais.

Ao observar os dados encontrados pelo FIQ, o primeiro fato a ser notado é a grande porcentagem de mulheres que sempre realizam as tarefas domésticas, mesmo com a presença diária dos sintomas. Isto se deve provavelmente à classe econômica baixa das pacientes que compunham o grupo de estudo. Em um estudo realizado por Assumpção *et al.* (2009) no município de Embu, estado de São Paulo, foi demonstrado que a população estudada na ocasião, composta apenas por indivíduos da classe econômica baixa, apresentou uma prevalência da FM superior à relatada em estudos internacionais com populações diversas, atingindo o patamar de 4,4%. Outro estudo recente relata que mulheres fibromiálgicas podem se beneficiar de períodos de “intervalo” das dores, ou “gaps”, os quais são causados pela distração mental provocada por atividades relaxantes, de prazer ou engajamento intenso em uma atividade específica, e que tais períodos podem ser utilizados para a realização das tarefas diárias (Calls *et al.*, 2009).

A respeito da questão 12 do FIQ, o fato mais relevante encontrado foi que 86,3% das participantes apresentaram dor durante todos os dias da semana anterior ao preenchimento do questionário, enquanto na questão 13, um total de 92,2% das participantes relataram que os sintomas as fizeram faltar ao trabalho ou deixar de fazer as atividades diárias. Isto mostra o grande impacto que os sintomas da FM causam sobre a vida cotidiana das pacientes, além de comprovar a presença de sintomas intensos no grupo estudado.

Analisando os aspectos encontrados a respeito da dor, verificamos que esta representa um dos maiores problemas que afetam a sociedade como um todo, gerando preocupação em usuários dos sistemas de saúde e profissionais em geral, sendo o maior motivo de consultas médicas e um fator gerador de grandes custos sócio-econômicos (Kadetoff e Kosek, 2010). Para Xie *et al.* (2009), a dor é um fenômeno complexo, o qual envolve diferentes processos sensoriais, afetivos e cognitivos, mediados por uma extensa rede neural nos sistemas nervosos central e periférico. DeSantana e Sluka (2008) relatam em seu estudo que a dor provém da interação de fatores inibidores e facilitadores. Segundo Buskila (2009), a dor em pacientes com FM parece estar relacionada principalmente a alterações dos sistemas serotoninérgicos, dopaminérgicos e catecolaminérgicos, nos quais SNPs específicos se relacionam com a promoção ou inibição de estímulos dolorosos. Já Smith *et al.* (2011), relatam que os processos nociceptores excitatórios englobam a Substância P, o glutamato, o gene transportador de serotonina e o fator de crescimento neural. Relatam também, como antinociceptores, a norepinefrina, a dopamina e a serotonina, bem como os opióides endógenos e exógenos, além do GABA, confirmando, desta forma, o caráter multifatorial da transmissão e percepção dos estímulos dolorosos.

7.0 – CONCLUSÃO

O grupo de pacientes selecionados apresentou em média uma pontuação no FIQ equivalente a um paciente com sintomas severos da FM, o que comprovou a gravidade clínica da população recrutada para o estudo. Ao final das análises, foi possível concluir que o polimorfismo A118G não apresentou correlação com a presença dos sintomas apresentados pelas pacientes, visto que as frequências alélicas e genotípicas entre os grupos eram muito semelhantes. Observou-se também que a presença do alelo polimórfico “G”, resultante da mudança do códon Asp40Asn, não apresentou qualquer influência sobre a intensidade do quadro clínico, visto que as pacientes, divididas em dois grupos com sintomas clássicos e sintomas severos, apresentaram proporções semelhantes deste polimorfismo. Dado este fato, foi possível concluir que a dor em pacientes fibromiálgicos possui um provável mecanismo etiológico poligênico, no qual os sintomas seriam desencadeados não por apenas um SNP, mas por vários possíveis SNPs presentes em genes responsáveis pela transmissão e modulação dos estímulos nociceptivos nas vias aferentes da dor, dentro do sistema nervoso central e periférico.

Desta forma, conclui-se que são necessários novos estudos a respeito de uma provável interação gênica na FM, com ênfase na investigação do papel dos sistemas serotoninérgicos, dopaminérgicos e catecolaminérgicos na percepção e propagação dos estímulos dolorosos. Faz-se necessária também a investigação de uma possível hiperalgesia induzida por opióides em pacientes com FM, vinda possivelmente da fabricação de opióides endógenos diretamente nos pontos de inflamação, pelas células de defesa presentes nestes locais.

8.0 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Arnold LM, Hudson JI, Hess EV, Ware AE, Fritz DA, Auchenbach MB, Starck LO, Keck PE. Family Study of Fibromyalgia. *Arthritis & Rheumatism* 2004 Mar; 50(3):944-52.
- (2) Assumpção A, Cavalcante AB, Capela CE, Sauer JF, Chalot SD, Pereira CAB, Marques AP. Prevalence of fibromyalgia in low socioeconomic status population. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2009, 10:64.
- (3) Bart G, LaForge KS, Borg L, Lilly C, Ho A, Kreek MJ. Altered levels of basal cortisol in healthy subjects with a 118G allele in exon 1 of the mu-opioid receptor gene. *Neuropsychopharmacology*. 2006; 31: 2313–2317.
- (4) Becker RMR, Silva VK, Machado FS, Santos AF, Meireles DC, Mergener M, Santos GA, Andrade FM. Association between environmental quality, stress and APOE gene variation in fibromyalgia susceptibility determination. *Bars J Rheumatol* 2010;50(6):617-30.
- (5) Bennett R. The Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ) [Internet]. 2010. Disponível em: http://www.myalgia.com/_vti_bin/shtml.exe/FIQ/FIQ_academic_agreement.htm. Acesso em: 10/08/2010.
- (6) Bennett R. The Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ): a review of its development, current version, operating characteristics and uses. *Clin Exp Rheumatol*. 2005; 23(39).
- (7) Bennett RM, Jones J, Turk DC, Russel IJ, Matallana L. An internet survey of 2,596 people with fibromyalgia. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2007, 8:27.

- (8) Bjorkegren K, Wallander M A., Johanson S, Svardsudd K. General symptom reporting in female fibromyalgia patients and referents: a population-based care-referent study. *BMC Public Health* 2009, 9:402.
- (9) Bradley, LA. Pathophysiology of Fibromyalgia. *Am J Med.* 2009 December ; 122(12 Suppl): S22.
- (10) Buskila D, Neumann L, Press J. Genetic Factors in Neuromuscular Pain. *CNS Spectrums* 2005 Apr; 10(4).
- (11) Buskila D, Puttini PS. Biology and therapy of fibromyalgia, Genetic aspects of fibromyalgia syndrome. *Arthritis Research & Therapy.* 2006; 8:218.
- (12) Buskila D. Developments in the scientific and clinical understanding of fibromyalgia. *Arthritis Research & Therapy* 2009, 11:242.
- (13) Calls J, Calero R, Sánchez DH, Navarro MJG, Amer JF, Torrijos JJ. Na evaluation of pain in haemodialysis patients using different validated measurement scales. *Nefrología.* 2009;29(3):236-243.
- (14) Dannecker EA, Knoll V, Robinson ME. Sex Differences in Muscle Pain: Self-Care Behaviors and Effects on Daily Activities. *Journal of Pain.* 2008 March;9(3): 200–209.
- (15) DeSantana JM, Sluka KA. Central mechanisms in the maintenance of chronic widespread muscle pain. *Curr Pain Headache Rep.* 2008 October;12(5): 338–343.
- (16) Ehlers CL, Lind PA, Wilhwmsen KC. Association between single nucleotide polymorphisms in the mu opioid receptor (OPRM1) and self-reported responses to alcohol in American Indians. *BMC Medical Genetics.* 2008, 9:35.

- (17) Fillingim RB; Wallace MR; Herbstman DM; Ribeiro-Dasilva M; Staud R. Genetic contributions to pain: a review of findings in humans. *Oral Dis.* 2008; 14(8): 673-682.
- (18) Finan PH, Zautra AJ, Davis MC, Chalfant KL. Genetic influences on the dynamics of pain and affect in fibromyalgia. *Health Psychol.* 2010 March ; 29(2): 134–142.
- (19) Foulkes T, Wood JN. Pain Genes. *PloS Genetics.* 2008; 4(7)
- (20) Goldenberg DL, Bradley LA, Arnold LM, Glass JM, Clauw DJ. Understanding Fibromyalgia and Its Related Disorders. *Journal of Clinical Psychiatry.* 2008 Nov;10(2).
- (21) Hauser W, Klose P, Langhorst J, Moradi B, Steinbach M, Schiltenswolf M, Busch A. Efficacy of different types of aerobic exercise in fibromyalgia syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Arthritis Research & Therapy* 2010, 12:R79.
- (22) Hauser W; Eich W; Herrmann M.; Nutzinger DO; Schiltenswolf M.; Henningsen P. Fibromyalgia syndrome. classification, diagnoses and treatment. *Dtsch Arztebl Int.* 2009; 106(23): 383–91
- (23) Heymann RE, Paiva EDS, Junior MH, et al. Brazilian consensus on the treatment of Fibromyalgia. *Bras J Rheumatol.* 2010; 50(1):56-66.
- (24) Holliday KL, Nicholl BI, Mcfarlane GJ, Thomson W, Davies KA, McBeth J. Do genetic predictors of pain sensitivity associate with persistent widespread pain? *Molecular Pain* 2009, 5:56.
- (25) Hwang CK, Song KY, Kim CS, Choi HS, Guo XH, Law PY, Wei LN, Loh HH. Evidence of endogenous mu opioid receptor regulation by epigenetic control of the promoters. *The AAPS Journal* 2007; 27(3).

- (26) Janicki PK, Schuler G, Francis D, Bohr A, Gordin V, Jarzembowski T, Velasco VR, Mets B. A genetic association study of the functional A118G polymorphism of the human mu-opioid receptor gene in patients with acute and chronic pain. *Anesth Analg.* 2006;103:1011–7.
- (27) Juruena MF, Cleare AJ, Pariante CM. O eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal, a função dos receptores de glicocorticóides e sua importância na depressão. *Rev Bras Psiquiatr.* 2004;26(3):189-201.
- (28) Juuso P, Skar L, Olsson M, Soderberg S. Living with a double burden: Meanings of pain for women with fibromyalgia. *Int J Qualitative Stud Health Well-being* 2011, 6: 7184.
- (29) Kadetoff D, Kosek E. Evidence of reduced sympatho-adrenal and hypothalamicpituitary activity during static muscular work in patients with fibromyalgia. *J Rehabil Med.* 2010; 42: 765–772.
- (30) Kapitzke D, Vetter I, Cabot PJ. Endogenous opioid analgesia in peripheral tissues and the clinical implications for pain control. *Therapeutics and Clinical Risk Management.* 2005;1(4) 279– 297
- (31) Kieffer BL, Evans CJ. Opioid receptors: from binding sites to visible molecules *in vivo*. *Neuropharmacology.* 2009 ; 56(Suppl 1): 205–212.
- (32) Kim CS, Choi HS, Hwang CK, Song KY, Lee BK, Law PY, Wei LN, Loh HH. Evidence of the neuron-restrictive silencer factor (NRSF) interaction with Sp3 and its synergic repression to the mu opioid receptor (MOR) gene. *Nucleic Acids Research.* 2006; 34(22): 6392–6403.
- (33) Lesniak A, Lipkowski AW. Opioid peptides in peripheral pain control. *Acta Neurobiol Exp.* 2011, 71:129-138.

- (34) Light AR, White AT, Hughen 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.
- (35) Mague SD, Blendy JA. OPRM1 SNP (A118G): Involvement in disease development, treatment response, and animal models. *Drug and Alcohol Dependence*. 2010:172–182.
- (36) Marques AP, Santos, A.M.B., Assumpção, A., Matsutani, L.A., Lage, L.V., Pereira, C.A.B. Validação da Versão Brasileira do *Fibromyalgia Impact Questionnaire* (FIQ). *Revista Brasileira de Reumatologia*. 2006 Jan;46(1):24-31.
- (37) Miquel CA, Campayo JG, Flórez MT, et al. Interdisciplinary Consensus Document for the treatment of fibromyalgia. *Actas Esp Psiquiatr* 2010;38(2):108-120.
- (38) Ono T, Kaneda T, Muto A, Yoshida T. Positive transcriptional regulation of the human mu-opioid receptor gene by Poly(ADP-ribose) Polymerase-1 and increasing of its DNA-binding affinity based on polymorphism of -172G/T. *JBC Papers in Press* 2009; M109.019414.
- (39) Podolecki T, Podolecki A, Hrycek A. Fibromyalgia: Pathogenetic, Diagnostic and Therapeutic Concerns. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*. 2009; 119(3).
- (40) Provenza JR, Pollak DF, Martinez JE, Paiva ES, Helfenstein M, Heymann R, Matos JCM, Sousa EJR. Projeto Diretrizes: Fibromialgia. Sociedade Brasileira de Reumatologia, Brasil: 2004.
- (41) PUCRS. Glossário de Termos Estatísticos [Internet]. 2012. Disponível em: http://www.pucrs.br/famat/statweb/glossarios/gloesta/ge_t.htm. Acesso em: 20/02/2012.

- (42) Raehal KM, Bohn LM. Mu Opioid Receptor Regulation And Opiate Responsiveness. *The AAPS Journal*. 2005 Oct; 7(3).
- (43) Ribeiro FP, Moreira V, Pêgo JM, Leão P, Almeida A, Sousa N. Antinociception induced by chronic glucocorticoid treatment is correlated to local modulation of spinal neurotransmitter content. *Molecular Pain* 2009, 5:41.
- (44) Ribeiro S, Schmidt AP, Schmidt SRG. O uso de opióides no tratamento da dor crônica não oncológica: O papel da metadona. *Rev Bras Anesthesiol*. 2002; 52: 5: 644 – 651.
- (45) Rosado ML, Pereira JP, Fonseca JP, Branco JC. Adaptação cultural e validação do “Fibromyalgia Impact Questionnaire” - versão portuguesa. *Acta Reum Port*. 2006, 31:157-65.
- (46) Santos AMB, Assunção A, Matsutani LA, Pereira CAB, Lage LV, Marques AP. Depressão e Qualidade de Vida em Pacientes com Fibromialgia. *Rev. Bras. de Fisioter*. 2006 Jun;10(3):317-24.
- (47) Sehgal N, Smith H, Manchikanti L. Peripherally acting opioids and clinical implications for pain control. *Pain Physician*. 2011; 14:249-258.
- (48) Shabalina SA, Zaykin DV, Gris P, Ogurtsov AY, Gauthier J, Shibata K, et al. Expansion of the human mu-opioid receptor gene architecture: novel functional variants. *Human Molecular Genetics*. 2009;18(6):1037–1051.
- (49) Silverman SM. Opioid Induced Hyperalgesia: Clinical implications for the pain practitioner. *Pain Physician* 2009; 12:679-684.
- (50) Smith HS, Harris R, Clauw D. Fibromyalgia: An Afferent Processing Disorder Leading to a Complex Pain Generalized Syndrome. *Pain Physician* 2011; 14:E217-E245.

- (51) Sprouse-Blum AS, Smith G, Sugai D, Parsa FD. Understanding endorphins and Their Importance in Pain Management. *Hawai`I Medical Journal*. 2010 March; 69:70-71.
- (52) Tapocik JD, Letwin N, Mayo CL, Frank B, et al. Identification of candidate genes and genes networks specifically associated with analgesic tolerance to morphine. *The Journal of Neuroscience*. 2009 Apr 22;29(16):5295–5307.
- (53) Tatro ET, Everall IP, Kaul M, Achim CL. Modulation of glucocorticoid receptor nuclear translocation in neurons by immunophilins FKBP51 and FKBP52: implications for major depressive disorder. *Brain Res*. 2009; 1286: 1–12.
- (54) Uhl GR, Zora I, Wang Z. The mu-opiate receptor as a candidate gene for pain: Polymorphisms, variations in expression, nociception, and opiate responses. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 1999; 96:7752–7755.
- (55) Vossen H, Kenis G, Rutten B, Os JV, Hermens H, Losberg R. The genetic influence on the cortical processing of experimental pain and the moderating effect of pain status. *PLoS ONE*. 2010;5(10).
- (56) Wand GS, MsCaul M, Yang X, Reynolds J, Gotjen D, Lee S, Ali A. The mu-opioid receptor gene polymorphism (A118G) alters HPA axis activation induced by opioid receptor blockade. *NEUROPSYCHOPHARMACOLOGY*. 2002; 26(1).
- (57) 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 and Rheumatism*. 1990 Feb; 33(2).
- (58) Xie YF, Huo FQ, Tang JS. Cerebral cortex modulation of pain. *Acta Pharmacol Sin*. 2009 Jan; 30 (1): 31-41.

- (59)** Zhang W; Yuan JJ; Kan QC; Zhang LR; Chang YZ; Wang ZY. Study of the OPRM1 A118G genetic polymorphism associated with postoperative nausea and vomiting induced by fentanyl intravenous analgesia. *Minerva Anestesiologica*. 2010; 77(1): 33-39.
- (60)** Zhang Y, Wang D, Johnson AD, Papp AC, Sadée W. Allelic expression imbalance of human mu-opioid receptor (OPRM1) caused by variant A118G. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*. 2005; 280(38):32618–32624.

9.0 – ANEXOS

License for Academic and Clinical use of the Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ)

This FIQ license is valid as of Wednesday, August 11, 2010

Name of Licensee: Marcelo Watanabe De Matos

Location: Goiânia / Goiás / 74605-020 / Brazil

Project title: ANÁLISE DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EM PACIENTES COM FIBROMIALGIA

Estimated start date: 01/2009

Estimated finish date: 12/2010

Note. This license is only applicable to this one study.

A license to use of the FIQ for any other studies requires re-registration.

Please download FIQ version 2.1 for use in this study

[Download FIQ](#)

Please print this form for confirmation of your FIQ license

FIBROMYALGIA IMPACT QUESTIONNAIRE (FIQ)

Last name:

First name:

Age :

Todays date :

Duration of FM symptoms (years) :

Years since diagnosis of FM :

Question 1

Directions: For questions "a" through "k", please check the number that best describes how you did overall for the *past week*. If you don't normally do something that is asked, place an 'X' in the 'Not Applicable' box.

Were you able to:	Always	Most	Occasionally	Never	Not Applicable
a. Do shopping?	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄
b. Do laundry with a washer and dryer?	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄
c. Prepare meals?	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄
d. Wash dishes / cooking utensils by hand?	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄
e. Vacuum a rug?	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄
f. Make beds?	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄
g. Walk several blocks?	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄
h. Visit friends or relatives?	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄
i. Do yard work?	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄
j. Drive a car?	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄
k. Climb stairs?	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄
Sub-total scores (for internal use only)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Total score (for internal use only)	<input type="text"/>				

2. Of the 7 days in the past week, how many days did you feel good?

₀ ₁ ₂ ₃ ₄ ₅ ₆ ₇

Score

3. How many days last week did you miss work, including housework, because of fibromyalgia?

₀ ₁ ₂ ₃ ₄ ₅ ₆ ₇

Score

(Continued)

(Continuation)

Directions: For the remaining items, mark the point on the line that best indicates how you felt overall for the past week.

4. When you worked how much did pain or other symptoms of your fibromyalgia interfere with your ability to do your work, including housework?	No problem with work ----- Great difficulty with work	(for internal use only) <input type="text"/> Score
5. How bad has your pain been?	No pain ----- Very severe pain	<input type="text"/> Score
6. How tired have you been?	No tiredness ----- Very tired	<input type="text"/> Score
7. How have you felt when you get up in the morning?	Awoke well rested ----- Awoke very tired	<input type="text"/> Score
8. How bad has your stiffness been?	No stiffness ----- Very stiff	<input type="text"/> Score
9. How nervous or anxious have you felt?	Not anxious ----- Very anxious	<input type="text"/> Score
10. How depressed or blue have you felt?	Not depressed ----- Very depressed	<input type="text"/> Score
		<input type="text"/> Sub-total
		<input type="text"/> FIQ TOTAL

Versão portuguesa do FIQ (FIQ-P).

NOME _____

DATA ____ / ____ / ____

FIBROMYALGIA IMPACT QUESTIONNAIRE (VERSÃO PORTUGUESA) – FIQ-P

INSTRUÇÕES: Nas perguntas 1 a 11 por favor faça um círculo no número que, em relação à **última semana**, melhor descreve a maneira como, **em geral**, foi capaz de executar as tarefas indicadas. Se habitualmente não faz uma dessas tarefas risque essa pergunta.

	Sempre	Quase Sempre	Quase nunca	Nunca				
Foi capaz de:								
1. Ir às compras?	0	1	2	3				
2. Tratar da roupa na máquina de lavar / secar?	0	1	2	3				
3. Cozinhar?	0	1	2	3				
4. Lavar louça à mão?	0	1	2	3				
5. Aspirar a casa?	0	1	2	3				
6. Fazer as camas?	0	1	2	3				
7. Andar vários quarteirões (200 a 500 metros)?	0	1	2	3				
8. Visitar a família ou os amigos?	0	1	2	3				
9. Tratar das plantas ou praticar o seu passatempo?	0	1	2	3				
10. Se deslocar, no seu próprio carro ou em transportes públicos?	0	1	2	3				
11. Subir as escadas?	0	1	2	3				
12. Na última semana, em quantos dias se sentiu bem?	0	1	2	3	4	5	6	7
13. Na última semana, quantos dias faltou ao trabalho e/ou não realizou as tarefas domésticas, devido à fibromialgia?	0	1	2	3	4	5	6	7

**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 DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EM PACIENTES COM FIBROMIALGIA”
- **Pesquisador responsável:** Prof. Marcelo Watanabe de Matos
- **Contatos:** (62) 3251-0800 / (62) 8429-3838
- **Objetivos:** o objetivo desta pesquisa é esclarecer a participação de algumas mutações genéticas no surgimento dos sintomas 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, somado ao preenchimento de um pequeno questionário de sintomas.
- **Acompanhamento:** sua participação será feita pelo preenchimento do questionário de sintomas e pela coleta da amostra de sangue. Sendo assim, o tempo máximo que você precisará para participar será de 20 minutos. Durante este tempo, você será acompanhado pelo pesquisador e por um enfermeiro do CRER, que fará a coleta do sangue. Suas respostas no questionário serão mantidas em sigilo absoluto, sob responsabilidade total do pesquisador.
- **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, e preencher apenas 01 questionário , não sendo preciso que retorne para outras coletas ou questionários.
- **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 DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EM PACIENTES COM FIBROMIALGIA``, sob a responsabilidade do pesquisador Marcelo Watanabe de Matos, como sujeito voluntário. Declaro que fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador 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:
