FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

AMANDA AYL A RAIMUNDINI

**INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO GENE SCN9A NO PERFIL
SOMATOSSENSÓRIAL MECÂNICO E NA MODULAÇÃO DA DOR**

BAURU - SP

2021

AMANDA AYL A RAIMUNDINI

**INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO GENE SCN9A NO PERFIL
SOMATOSSENSÓRIAL MECÂNICO E NA MODULAÇÃO DA DOR**

Dissertação apresentada a Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Biologia Oral.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Rigoldi Bonjardim

Versão Corrigida

BAURU – SP

2021

Raimundini, Amanda Ayla

Influência do polimorfismo do gene SCN9A no perfil somatossensorial mecânico e na modulação da dor/
Amanda Ayla Raimundini. -- Bauru, 2021.

84 p. : il. ; 31 cm.

Dissertação (mestrado) -- Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Rigoldi Bonjardim

Nota: A versão original desta dissertação encontra-se disponível no Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB/USP.

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação/tese, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Data: 14.10.2021

Comitê de Ética da FOB-USP

Protocolo nº:
82201818.3.0000.5417

Data: 14.10.2021

**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru**

**Assistência Técnica Acadêmica
Serviço de Pós-Graduação**

FOLHA DE APROVAÇÃO

Dissertação apresentada e defendida por
AMANDA AYL A RAIMUNDINI
e aprovada pela Comissão Julgadora
em 12 de novembro de 2021.

Prof. Dr. **GIANCARLO DE LA TORRE CANALES**

Prof. Dr. **YURI MARTINS COSTA**
FOP

Prof.^a Dr.^a **LUCIMARA TEIXEIRA DAS NEVES**
FOB-USP

Prof. Dr. **LEONARDO RIGOLDI BONJARDIM**
Presidente da Banca
FOB - USP

Prof.^a Dr.^a **Izabel Regina Fischer Rubira de Bullen**
Presidente da Comissão de Pós-Graduação

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e aos meus pais, Nelson Antonio Raimundini e Antonia de Almeida Raimundini, por serem essenciais em minha vida. A Deus por ser autor do meu destino e meu guia. E aos meus pais por todo apoio durante esses anos de faculdade e mestrado, por nunca deixarem me faltar nada e por serem sempre tão zelosos.

Aos meus irmãos de sangue, Nelson Adriano Raimundini, Joyce Carpiné e Juliana Painsso pelo suporte e orientação.

Ao Prof. Dr. Leonardo Bonjardim pela paciência na orientação, incentivo e confiança que tornaram possível a conclusão desta dissertação. Não consigo mensurar o quão fui feliz em te escolher e quanto contribuiu para o meu crescimento profissional e foi um exemplo no pessoal.

À Dyna Mara Ferreira e Flávia Soares, pela dedicação, paciência, esforço, ajuda e competência durante a pesquisa. À Tatiane Prosini, uma grande amiga que a pós-graduação me deu e por quem tenho tanto carinho. Obrigada por toda ajuda, pelas risadas e principalmente pelo companheirismo. Com certeza esta jornada foi mais tranquila com a sua amizade.

Ao meu companheiro durante a realização do mestrado, Pedro Ivo Apolonio Silva. Por todo carinho, paciência e por sua capacidade de me trazer paz na correria de cada semestre. Com certeza, foi um dos principais pilares que tive para dar conta de todo o trabalho realizado. Obrigada por todo suporte, sempre.

Ao amigo Matheus Teixeira, que durante a escrita da dissertação me incentivou, ajudou, corrigiu e se prontificou a estar ao meu lado sempre que precisei. Agradeço por ter chego na minha vida e por permanecer.

Aos professores da pós-graduação, pelos anos de convivência e por terem me proporcionado um grande crescimento pessoal e profissional. Aos amigos da pós-graduação, pelo companheirismo e por todos os momentos que passamos juntos.

Aos funcionários da Faculdade de Odontologia de Bauru, especialmente do Departamento de Ciências Biológicas e a secretária Dalva. Vocês são fundamentais para o funcionamento de toda a faculdade. Quero agradecer também ao diretor atual da FOD-USP, Prof. Dr. Carlos Ferreira dos Santos, a presidente da pós-graduação, Profa. Izabel Regina Fischer Rubira de Bullen e ao vice-presidente Prof. Marco Antonio Hungaro Duarte.

A todos os voluntários que participaram desta pesquisa, pela disponibilidade e contribuição. A todos que não citei de forma expressa, mas a quem com carinho e respeito guardo em meu coração.

RESUMO

Influência do polimorfismo do gene *SCN9A* no perfil somatossensorial mecânico e na modulação da dor.

O objetivo do presente estudo foi verificar a influência do polimorfismo rs6746030 do gene *SCN9A* na sensibilidade mecânica dolorosa e na modulação condicionada de dor entre mulheres com disfunção temporomandibular (DTM) e grupo controles. As seguintes variáveis foram mensuradas: 1) perfil psicológico, baseado nos critérios dos questionários escala hospitalar de ansiedade e depressão (HADS, sigla em inglês), questionário do sono de Pittsburgh (PSQI, sigla em inglês), escala de catastrofização da dor (PCS, sigla em inglês); 2) análise do polimorfismo rs6746030 do gene *SCN9A*, realizada por meio da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real, do inglês Polymerase Chain Reaction (PCR, sigla em inglês); 3) perfil somatossensorial mecânico, mensurado através de testes quantitativos sensoriais (QST, sigla em inglês), sendo eles o limiar de dor mecânica (MPT, sigla em inglês), razão da somação temporal (WUR, sigla em inglês), limiar de dor à pressão (PPT, sigla em inglês); 4) análise da do nível de modulação da dor, mensurada por meio do teste modulação condicionada da dor (CPM, sigla em inglês). O teste do qui-quadrado foi realizado para análise do desvio de Hardy-Weinberg em relação à distribuição dos genótipos do polimorfismo rs6746030 do gene *SCN9A*. As comparações entre os grupos DTM e controle, sem considerar as subdivisões de acordo com a presença do polimorfismo *SCN9A*, foram realizadas por meio do teste U de Mann-Whitney. Já para as comparações das variáveis somatossensoriais e a modulação condicionada da dor entre os grupos DTM e controle, considerando as subdivisões de acordo com a presença do polimorfismo *SCN9A*, foram realizadas por meio da análise de variância (ANOVA) mista com fator grupo (DTM ou controle) e fator polimorfismo *SCN9A* (presença ou ausência). Cento e noventa e cinco mulheres com idade entre 20 e 69 anos foram agrupados de acordo com a presença ou ausência de DTM e os diagnósticos mais comuns foram dor miofascial com referência (29,25%) e mialgia local (26,38%). Foram verificados dois achados principais: 1) a presença de polimorfismo do gene *SNC9A* não influenciou a sensibilidade mecânica dolorosa e na modulação condicionada de dor; 2) mulheres com DTM apresentaram maiores níveis de estresse, ansiedade,

depressão, catastrofização e sensibilização central e pior qualidade do sono. Conclui-se que o polimorfismo rs6746030 do gene *SCN9A* sozinho não foi capaz de modificar os limiares de dor mecânica, a somação temporal e o nível de modulação de dor em mulheres com DTM, sendo a maioria dessas variáveis apenas influenciada pela presença da condição dolorosa (DTM). Além disso, o presente estudo reforçou a importância e a influência das variáveis psicossociais em pacientes com DTM.

Palavras-chave: DTM. *SCN9A*. Polimorfismo genético. Psicossocial.

ABSTRACT

Influence of the *SCN9A* gene polymorphism on the mechanical somatosensory profile and pain modulation.

The aim of the present study was to verify the influence of the rs6746030 polymorphism of the *SCN9A* gene on painful mechanical sensitivity and conditioned pain modulation among women with asymptomatic temporomandibular disorders (TMD) and control. The following variables were measured: 1) psychological profile, based on the criteria of the hospital anxiety and depression scale questionnaires (HADS), Pittsburgh sleep questionnaire (PSQI), pain catastrophizing scale (PCS , acronym in English); 2) analysis of the rs6746030 polymorphism of the *SCN9A* gene, performed using the Real Time Polymerase Chain Reaction technique, from the English Polymerase Chain Reaction (PCR); 3) mechanical somatosensory profile, measured through quantitative sensory tests (QST, acronym in English), being the mechanical pain file (MPT), reason of the temporal summation (WUR), pain threshold pressure (PPT); 4) analysis of the level of pain modulation, measured using the conditioned pain modulation test (CPM). The chi-square test was performed to analyze the Hardy-Weinberg deviation in relation to the distribution of the RS6746030 polymorphism genotypes of the *SCN9A* gene. The comparisons between the TMD and control groups, without considering the subdivisions according to the presence of the *SCN9A* polymorphism, were performed using the Mann-Whitney U test. As for the comparisons of the somatosensory variables and the conditioned modulation of pain between the TMD and control groups, considering the subdivisions according to the presence of the *SCN9A* polymorphism, they were carried out through the analysis of variance (ANOVA) mixed with group factor (TMD or control) and *SCN9A* polymorphism factor (presence or absence). One hundred and ninety-five women aged between 20 and 69 years were grouped according to the presence or absence of TMD and the most common diagnoses were myofascial pain with reference (29.25%) and myalgia (26.38%). Two main findings were verified: 1) the presence of polymorphism of the *SNC9A* gene did not influence the painful mechanical sensitivity and conditioned pain modulation;

2) women with TMD had higher levels of stress, anxiety, depression, catastrophization and central sensitization and worse sleep quality. It was concluded that the rs6746030 polymorphism of the *SCN9A* rs6746030 gene alone was not able to modify the mechanical pain thresholds, the temporal summation and the level of pain modulation in women with TMD, most of these variables being only influenced by the presence of the painful condition (TMD). In addition, the present study reinforced the importance and influence of psychosocial variables in patients with TMD.

Keywords: TMD. *SCN9A*. Genetic polymorphism. Psychosocial.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Caracterização geral da amostra para os grupos DTM e Controle.	45
Tabela 2: Frequência genotípica do SNP rs6746030 do gene <i>SCN9A</i>	46
Tabela 3: Média, desvio-padrão (DP) dos valores dos limiares de dor à pressão (PPT, sigla em inglês), de dor mecânica (MPT, sigla em inglês), da razão da somação temporal (WUR, sigla em inglês) e da modulação condicionada da dor (CPM, sigla em inglês) nos grupos DTM e controle, subdivididos em com (GA+AA) e sem (GG) polimorfismo <i>SCN9A</i>	48
Tabela 4: Análise de variância (ANOVA) com o fator grupo (com DTM ou Controle) e o fator polimorfismo do gene <i>SCN9A</i> (Com e Sem polimorfismo) para comparação dos valores do limiar de dor à pressão (PPT, sigla em inglês), limiar de dor mecânica (MPT, sigla em inglês), razão da somação temporal (WUR, sigla em inglês) e dos valores absolutos da modulação condicionada da dor (CPM, sigla em inglês).....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA: análise de variância

ATM: articulações temporomandibulares

COMT: molécula catecol-O-metiltransferase

CPM: modulação condicionada da dor

CSI: inventário de sensibilização central

DP: desvio padrão

DTM: disfunção temporomandibular

DTM: disfunções temporomandibulares

EC: estímulo condicionado

ET: teste de estímulo

HADS: escala hospitalar de ansiedade e depressão

MPT: limar de dor mecânica

NRS: escala de graduação numérica

OPPERA: Orofacial Pain Prospective Evaluation and Risk Assessment

PCR: reação em cadeia da polimerase

PCS: escala de catastrofização da dor

PPT: limiar de dor à pressão

PSQI: questionário do sono de Pittsburgh

PSS: escala de estresse percebido

DC/ TMD: Research Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders

SNC: sistema nervoso central

SNPs: polimorfismo de um único nucleotídeo

WUR: razão da somação temporal

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	22
3. PROPOSIÇÃO.....	30
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1 PROCEDIMENTOS ÉTICOS E LEGAIS.....	33
4.2 AMOSTRA.....	33
4.3 CARACTERIZAÇÃO PSICOSSOCIAL	34
PSS.	35
HADS	35
PSQI.....	35
PCS.....	36
CSI	36
4.4 AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMO GENÉTICO.....	37
4.5 ESTUDO MOLECULAR.....	37
4.5.1 Extração de DNA a partir da saliva	37
4.5.2 Quantificação e qualificação do DNA extraído da saliva.....	37
4.5.3 Seleção do gene candidato e de SNP.....	37
4.5.4 Genotipagem.....	37
4.6 TESTES QUANTITATIVOS SENSORIAIS	38
a) Limiar de Dor Mecânica (MPT, sigla em inglês)	38
b) Razão da Somação Temporal (WUR, sigla em inglês).....	39
c) Limiar de Dor à Pressão (PPT, sigla em inglês)	39
4.7 MODULAÇÃO CONDICIONADA DA DOR	40
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
5. RESULTADOS	44
5.1 Caracterização Geral da Amostra	44

5.2 Caracterização Geral da Amostra de acordo com a presença do Polimorfismo <i>SCN9A</i>	46
5.3 Influências do Polimorfismo <i>SCN9A</i> nas variáveis somatossensoriais (PPT, MPT e WUR) e na modulação condicionada da dor (CPM)	46
6. DISCUSSÃO	51
7. CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
Anexo(s)	72

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

As disfunções temporomandibulares (DTM) são condições comuns de dor musculoesquelética associadas ao sistema mastigatório. A dor é o sintoma mais comum, geralmente concentrado nos músculos mastigatórios e / ou articulações temporomandibulares (ATM), mas exacerbado pelo movimento mandibular (DE LEEUW; KLASSER, 2018). Estimativas epidemiológicas indicam que o diagnóstico de DTM dolorosa afeta entre 7-8% da população e a taxa de incidência anual é estimada em 2% (SLADE et al., 2016; DE LEEUW; KLASSER, 2018). A etiologia desses distúrbios ainda não é bem compreendida, entretanto estudos robustos apontam que ela seja multifatorial, ou seja, não resulta apenas de uma causa (SUVINEN et al., 2005; DE LEEUW; KLASSER, 2018). Esses estudos colocam mais ênfase em fatores psicológicos, sociais, hábitos orais, características sensoriais, indicadores gerais de saúde e perfil genético que definem o "modelo biopsicossocial" para o desenvolvimento de DTM (SUVINEN et al., 2005; DE LEEUW; KLASSER, 2018).

Resumidamente, esse modelo envolve um contexto de soma da condição biológica (ou seja, a ativação das vias da dor, com ou sem uma condição patológica demonstrável), questões psicológicas e suas consequências comportamentais (adaptativas ou, por exemplo, de ganho secundário) e, finalmente, fatores sociais (isto é, culturais, familiares, socioeconômicos, médicos) em que indivíduo é inserido (MELOTO; SERRANO; RIBEIRO; RIZZATTI; 2011). Esses novos conceitos geraram a necessidade de uma investigação mais aprofundada das vias biológicas. Nesse contexto, estudos indicaram uma influência importante de polimorfismo genéticos na DTM (SLADE et al., 2007; MELOTO; SERRANO; RIBEIRO; RIZZATTI, 2011; SMITH et al., 2012; MELIS; GIOSIA, 2016), e na percepção da dor, como ocorre com condições clínicas que compartilham características comuns à DTM, como é o caso da fibromialgia local (COHEN; NEUMANN; GLAZER; EBSTEIN; BUSKILA, 2009; MATSUDA et al., 2010).

Um estudo de coorte prospectivo analisou mais de 2700 indivíduos em sete anos, com o objetivo de identificar polimorfismo de um único nucleotídeo (SNPs) e alguns dos fatores de risco para DTM (SLADE et al., 2011; SLADE et al., 2013;

SLADE et al., 2016). Este estudo, denominado Orofacial Pain Prospective Evaluation Risk and Assessment (OPPERA, sigla em inglês), mostrou uma influência genética significativa de vias biológicas essenciais no processamento de estímulos nocivos e na percepção da dor (SLADE et al., 2016). Achados deste estudo mostraram a importância de genes como COMT, que é responsável pela produção da molécula catecol-O-metiltransferase (COMT), que modula a dor inflamatória e nociceptiva. Além desse, outro gene que parece estar envolvido nesse perfil genético é o *SCN9A*, cujas mutações podem resultar em síndromes de dor excessiva ou insensibilidade à dor (RAYMOND et al., 2004; ESTACION et al., 2009; REIMANN et al., 2010; DUAN et al., 2015).

O gene *SCN9A* codifica a subunidade IV- α do canal de sódio dependente de voltagem (Nav1.7), que é expressa em alta densidade nos neurônios aferentes nociceptivos. Mutações raras no *SCN9A*, alterando severamente a função Nav1.7, foram identificadas como um fator causal para diferentes distúrbios genéticos da dor humana. O alelo polimórfico do rs6746030, que ocorre com uma frequência de 10%, mostrou, em alguns estudos, que o Nav1.7 também é um dos principais contribuintes para a sinalização da dor (REIMANN et al.; 2010). Uma teoria, formulada inicialmente por Estacion et al. (2009), diz que um polimorfismo missense comum no gene *SCN9A* (rs6746030: G> A, R1150W), localizado no exon 18 desse gene, afeta o aminoácido na posição 1150 do canal (Nav1.7), o que causaria a troca de uma arginina (Nav1.7-1150R) por um triptofano (Nav1.7-1150W) e, supostamente, poderia aumentar a atividade do canal, levando a uma diminuição no limiar da dor de indivíduos com o alelo A menor (RAYMOND et al., 2004; DUAN et al., 2015). Este resíduo encontra-se no circuito intracelular entre os domínios transmembranares II e III de Nav1.7, uma região do canal com função desconhecida (REIMANN et al.; 2010).

Uma revisão de literatura prévia mostrou que houve influências no grau de dor experimentada em três estudos (dor no ciático, dor de membro fantasma e dor na raiz lombar pós-discectomia). Ao combinar os resultados desses trabalhos, foi confirmada a contribuição significativa do alelo rs6746030 do gene *SCN9A* para a experiência da dor humana (REIMANN et al.; 2010). Até o momento, não existe uma relação clara entre a dor em pacientes com DTM e variantes genéticas, no que diz respeito as funções do canal de sódio (Nav 1.7). Portanto, o presente

estudo investigou, em pacientes com e sem disfunção temporomandibular, a influência do polimorfismo do gene *SCN9A* (rs6746030) na sensibilidade mecânica dolorosa e na modulação condicionada de dor.

2. Revisão de Literatura

2. REVISÃO DE LITERATURA

Durante muitos anos foi adotado um modelo biomédico para a interpretação das condições em saúde, a partir disso, conceituava-se corpo e mente como entidades independentes. De fato, essa separação dificultava o entendimento de como os fatores psicossociais, como estresse emocional, poderiam afetar a saúde do indivíduo, assim como as disfunções médicas ou resposta aos tratamentos. Em contraposição a esse modelo dualístico foi desenvolvido o modelo biopsicossocial, esse ganhou força na virada do século XIX para o XX, somando ao conhecimento da saúde áreas como a da Psicologia Médica, Psicossomática, Psicanálise, Medicina Comportamental, entre outras (GATCHEL et al., 2007).

O modelo biopsicossocial foi especialmente influente na área de dor, trazendo um contexto que engloba questões biológicas, como a ativação das vias da dor, com ou sem uma condição patológica demonstrável; questões psicológicas e suas consequências comportamentais; além de questões sociais, isto é, culturais, familiares, socioeconômicos, médicos, que esse indivíduo está inserido (LUND; LAVIGNE; DUBNER; SESSLE, 2001). Os fatores psicossociais, que envolvem emoção e cognição. A emoção é a reação mais imediata à nocicepção e a cognição atribui significado à experiência emocional, podendo, assim, desencadear outras reações emocionais adicionais e amplificar a experiência da dor, perpetuando um ciclo vicioso de nocicepção, dor, angústia e incapacidade.

Sendo assim, a dor é entendida como uma percepção subjetiva que resulta da transdução, transmissão, modulação e a interpretação da informação sensorial. A entrada da dor no sistema sensorial pode ser filtrada através da composição genética de um indivíduo, histórico de aprendizado anterior, status psicológico atual e influências socioculturais (GATCHEL et al., 2007). Podemos dizer, então, que a percepção da dor é um processo fisioanatômico que envolve múltiplos componentes, o sensitivo-discriminativo, o afetivo-motivacional e o autonômico (SUVINEN et al., 2005). Qualquer modelo que se concentre em apenas uma dessas dimensões será incompleto e inadequado.

A partir desses novos conceitos introduzidos pelo século XX foi possível uma melhor compreensão da neurobiologia das vias de dor. Em achados mais recentes foi evidenciado a importância da genética nesse contexto, sendo essa

responsável pela variabilidade na percepção da dor, ou seja, o porquê alguns pacientes são hipersensíveis, enquanto outros hipossensíveis e com isso, a contribuição para diferentes respostas a tratamentos clínicos e suscetibilidade ao desenvolvimento de dor crônica (DUAN et al., 2015). A compreensão do efeito da variação genética na percepção de dor humana pode ser o elemento chave para tratamentos mais individualizados e eficazes (YOUNG; LARIVIERE; BELFER, 2012).

Evidências prévias têm mostrado associações significativas entre polimorfismos genéticos específicos que resultam em perfis fenotípicos intermediários relacionados a sensibilidade somática e modulação da dor em pacientes com dores crônicas (OAKLEY; VIEIRA, 2008; LINDSTEDT et al., 2011; DIATCHENKO; FILLINGIM et al., 2013; SMITH; MAIXNER, 2013; KURZAWSKI et al., 2018). A dor pode ser provada a partir de vários estímulos, por exemplo, pressão ou aquecimento em condições normais, ou mesmo em patologias clínicas. Sabe-se que um conjunto de aspectos, incluindo expectativa, personalidade e estado emocional, pode modular a percepção da dor e esses aspectos também são mediados geneticamente (WILLIAMS et al., 2012).

Em meio a essa evidência, um programa de estudos chamado “Orofacial Pain Prospective Evaluation and Risk Assessment” (OPPERA) realizado nos Estados Unidos recrutou cerca de 3.263 pessoas para investigar diversos fatores relacionados a DTM, o projeto compreende uma coorte prospectiva do início da DTM, um estudo caso-controle de DTM crônica, um estudo de incidência e um estudo prospectivo de coorte do curso da DTM (CUI; YU; ZHANG, 2014). Foram selecionados voluntários entre 18 e 44 anos, 3.263 pessoas sem DTM foram inscritas no estudo de coorte prospectivo; 1.633 deles foram selecionados como controles para o estudo de caso-controle (FILLINGIM et al., 2011; SMITH et al., 2011; BAIR, E. et al., 2013; SANDERS et al., 2013; CUI; YU; ZHANG, 2014). Os casos, ou seja, voluntários com DTM, foram 185, sendo esses classificados por examinador com a calibração consistente com os critérios diagnósticos do “Research Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders” (RDC/ TMD). A probabilidade em desenvolver DTM foi associada a maior idade; voluntárias mulheres tiveram três vezes mais chances do que os homens; e em comparação

aos brancos não-hispânicos, outros grupos raciais tiveram um quinto das chances de desenvolver DTM (CUI; YU; ZHANG, 2014).

Uma das investigações do estudo OPPERA foi direcionada ao perfil genético dos participantes (FILLINGIM et al., 2013; CUI; YU; ZHANG, 2014; BAIR et al., 2016). O trabalho coordenado por Smith e colaboradores, foi o primeiro que avaliou a associação genética da DTM e um extenso painel de genes responsáveis por processos biológicos que ocorrem na dor crônica. Polimorfismo que regulam enzimas, neurotransmissores, receptores e proteínas estruturais foram encontrados como etiologias responsáveis por esse processo.

Amostras de DNA extraídas do sangue foram genotipadas para 3.295 polimorfismo de nucleotídeo único (SNPs), representando 358 genes envolvidos em sistemas biológicos relevantes para percepção de dor. Dado o número modesto de casos de DTM disponíveis na coorte OPPERA, este estudo de associação genética complementou a amostra OPPERA com 182 casos adicionais de DTM de outro projeto da Universidade da Carolina do Norte (coorte UNC). Um painel genético do tamanho que esse trabalho apresenta cria limitações, principalmente devido ao ajuste de Bonferroni dos limiares de valor-p, que é o método convencional usado para ajustar vários testes. No entanto, os pesquisadores acreditam que a evidência de associação dos principais SNPs é forte o suficiente para garantir mais estudos e replicação desses genes em outras coortes (SMITH et al., 2011). Além disso vários estudos demonstraram a participação desses SNPs na manutenção dos estados de dor (LEVINE et al., 1986; DIATCHENKO et al., 2005; SLADE et al., 2011; CUI; YU; LINDSTEDT et al., 2012; ZHANG, 2014).

Foi observada associação com vários genes previamente influentes no risco do desenvolvimento de DTM em outros trabalhos. A associação mais forte foi para rs9316233 do gene do receptor de serotonina HTR2A, onde o alelo G menor mostrou um efeito protetor ao risco a DTM (SMITH et al., 2011). Outras associações também foram encontradas, o locus COMT, rs174697; outro estudo já havia achado três haplótipos comuns de COMT que predizem baixa (LPS), média (APS) ou alta (HPS) sensibilidade à dor em mulheres brancas (SLADE et al., 2011). O efeito de rs174697 é independente desses haplótipos, o que sugere que a diversidade haplotípica desse gene é mais complexa do que o relatado

anteriormente. As evidências desse estudo continuam a apoiar um papel das vias de monoamina na suscetibilidade à DTM. Em outras pesquisas já haviam encontrado associações sugestivas entre DTM e receptores adrenérgicos ADRA2A e ADRA1D, bem como COMT (LEVINE et al., 1986; MOGIL et al., 1997; TORPY et al., 2000; KORSZUN et al., 2002; KIM et al., 2004; DIATCHENKO et al., 2005; DIATCHENKO et al., 2006; SLADE et al., 2011; SLADE et al., 2011; HADDLEY et al., 2012; LINDSTEDT et al., 2012; ZORINA; MELOTO; KHOURY; DIATCHENKO, 2016).

Além disso, os dados do trabalho de Smith e colaboradores sugerem que variações genéticas nos genes OPRD1 e GRIN2A desempenham um papel no desenvolvimento da DTM, alterando vias de regulação, subjacentes a um estado de amplificação da dor, o que pode gerar desenvolvimento de DTM (KIM et al., 2004; MOGIL et al., 1997). Da mesma forma, alterações na atividade anti-inflamatória da IL10 podem levar as pessoas a responder diferentemente ao trauma ou estresse (DIATCHENKO et al., 2006). Este mesmo estudo encontrou uma série de genes que, apesar de estarem envolvidos em vias nociceptivas, não demonstraram anteriormente estar envolvidos na suscetibilidade a uma condição de dor crônica. Faz-se necessário uma investigação mais profunda a respeito desses genes, sendo eles possíveis alvos de intervenções terapêuticas. São exemplo desses, o gene NR3C1 que codifica um receptor de glicocorticoide, envolvido em sintomas somáticos da fisiopatologia da DTM (KORSZUN et al., 2002). O gene CHRM2, que codifica o receptor colinérgico muscarínico 2 que se liga à acetilcolina e controla as respostas celulares, como inibição da adenilato ciclase, degeneração dos fosfoinosítídeos e mediação do canal de potássio no sistema nervoso central e periférico e CAMK4, IFRD1 e GRK5, que são genes que codificam proteínas (TRAN; JORGENSEN; CLARK, 2007; WANG et al., 2008; BRKANAC et al., 2009).

Soares et al. (2020) realizaram uma revisão sistemática da literatura, para descrever os efeitos dos polimorfismos genéticos na sensibilidade da dor orofacial em indivíduos saudáveis e pacientes com dores orofaciais crônicas. Os principais achados, desse estudo, indicaram que os genes associados à pressão e à sensibilidade à dor térmica estão relacionados principalmente às vias opióides (gene OPRM1), catecolaminérgicas (gene COMT), inflamatórias (gene TNFA) e

dopaminérgicas (gene DRD2). Um fato importante e surpreendente desta revisão foi que a via serotoninérgica (genes HTR3A e HTR3B) não mostrou associação com dor mecânica, em particular sensibilidade à dor em tecidos profundos. Isso leva a crer que a sensibilidade dolorosa da região orofacial está mais associada aos genes envolvidos nas vias neuromodulatórias, especialmente aquelas envolvidas na sinalização ascendente e descendente, o que mostra a importância dessas vias para a percepção e cronificação da dor (SOARES et al., 2020).

Outro gene que parece estar envolvido nessas vias de sinalização (ascendente) é o *SCN9A*, cujas mutações podem resultar em síndromes de dor excessiva ou insensibilidade à dor (RAYMOND et al., 2004; ESTACION et al., 2009; REIMANN et al., 2010; DUAN et al., 2015). Resumindo as propriedades biofísicas do canal de sódio (Na^+) controlado por voltagem, temos que ele apresenta uma só subunidade α , associada às subunidades $\beta 1$ e $\beta 2$. A subunidade α tem quatro sequências repetidas de seis hélices transmembrana que circundam o canal iônico central ou poro. As paredes do canal são, parcialmente, formadas pelas hélices de número 6 de cada sequência. As comportas, desse canal, são formadas por grupos de aminoácidos com carga, e a dependência da voltagem dos canais de Na^+ e K^+ é responsável pelas alterações complexas que ocorrem durante o potencial de ação (KURZAWSKI et al., 2018). O gene *SCN9A* codifica a subunidade IV- α do canal de sódio dependente de voltagem (Nav1.7), que é expressa em alta densidade nos neurônios aferentes nociceptivos. Mutações raras no *SCN9A*, alterando severamente a função Nav1.7, foram identificadas como um fator causal para diferentes distúrbios genéticos da dor humana (RAYMOND et al., 2004).

O alelo polimórfico do rs6746030, que ocorre com uma frequência de 10%, mostrou, em alguns estudos, que o Nav1.7 também é um dos principais contribuintes para a sinalização da dor (KURZAWSKI et al., 2018). Uma teoria, formulada inicialmente por Estacion et al (2009), diz que um polimorfismo missense comum no gene *SCN9A* (rs6746030: G> A, R1150W), localizado no exon 18 desse gene, afeta o aminoácido na posição 1150 do canal (Nav1.7). O que causaria a troca de uma arginina (Nav1.7-1150R) por um triptofano (Nav1.7-1150W) e, supostamente, poderia aumentar a atividade do canal, levando a uma

diminuição no limiar da dor de indivíduos com o alelo A menor (ESTACION et al., 2009; REIMANN et al., 2010; DUAN, G. et al, 2015).

Na revisão de literatura de Reimann et al. (2010), o alelo polimórfico do rs6746030 do gene *SCN9A*, influenciou o grau de dor experimentada em três estudos (dor no ciático, dor de membro fantasma e dor na raiz lombar pós-discectomia). Ao combinar os resultados desses trabalhos, foi confirmada a contribuição significativa do alelo rs6746030 para a experiência da dor humana (REIMANN et al., 2010). Outro estudo investigou a associação do polimorfismo do gene *SCN9A* e a sensibilidade de dor em indivíduos com história de dor nas pernas e nas costas, com diagnóstico de hérnia de disco e submetidos à discectomia lombar, indicando que a intensidade da dor em pacientes que sofrem de hérnia de disco sintomática pode estar relacionada ao polimorfismo rs6746030 do gene *SCN9A* (KURZAWSKI et al., 2018).

Em uma revisão de Drenth; Waxman (2007) podemos observar que é crucial para a compreensão da fisiopatologia da dor e para o desenvolvimento de tratamento apropriado para a dor a investigação aprofundada da função do canal de sódio NaV1.7. Além disso, esse trabalho confirmou que distúrbios de percepção da dor são raros, no entanto, os resultados sugerem que há uma grande possibilidade de que as diferenças alélicas no gene *SCN9A* que afetam a percepção da dor na população em geral (DRENTH; WAXMAN, 2007).

3. Proposição

3. PROPOSIÇÃO

- O objetivo principal do estudo foi avaliar a influência do polimorfismo rs6746030 do gene *SCN9A* na sensibilidade mecânica dolorosa e na modulação condicionada de dor entre mulheres com DTM e grupo controle. Nossa hipótese, *a priori*, é que haveria uma interferência desse polimorfismo nessas variáveis somatossensoriais e de modulação da dor.
- Secundariamente, o nosso estudo comparou variáveis psicológicas, qualidade do sono e o grau de sensibilização central entre indivíduos com DTM e controles.

4. Material e Métodos

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PROCEDIMENTOS ÉTICOS E LEGAIS

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (CAAE: 82201818.3.0000.5417 – Anexo 1). Todos os indivíduos que aceitaram participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

4.2 AMOSTRA

Nesse estudo do tipo caso-controle, a seleção do grupo de casos foi feita com uma amostra de conveniência de indivíduos com DTM dolorosa que procuraram tratamento na Faculdade de Odontologia de Bauru e no Instituto de Ensino Odontológico de Bauru, São Paulo. Todas as voluntárias diagnosticadas com DTM dolorosa, de acordo com os Critérios Diagnósticos para Disfunção Temporomandibular (DC/TMD) (SCHIFFMAN et al., 2014), foram convidadas a participar do estudo. Assim, os critérios de inclusão no grupo de casos foram: a) idade maior que 18 anos e b) diagnóstico de DTM dolorosa, i.e., mialgia local mastigatória, artralgia da articulação temporomandibular (ATM) e cefaleia atribuída à DTM. Já os critérios de exclusão foram: a) presença de distúrbios sistêmicos não controlados, e.g., diabetes, hipertensão ou distúrbios endócrinos; b) presença de alterações congênitas ou de desenvolvimento, e.g., aplasia, hiperplasia, displasia ou neoplasias; b) presença de neuropatias. Ressalta-se que o uso contínuo de medicamentos e a presença de outras condições comórbidas comumente relacionadas com a DTM, e.g., cefaleia, dor cervical, fibromialgia local e distúrbios de ansiedade e depressão não foram motivos de exclusão. A eventual presença desses fatores de confundimento foram controladas no momento da análise estatística dos dados, sendo que a opção pela não exclusão visou aumentar a validade externa do estudo.

A população da qual se originou a amostra de mulheres saudáveis foi encontrada por meio de canais de divulgação impressos e digitais. Os critérios de inclusão para o grupo controle foram: a) idade maior que 18 anos; b) bom estado de saúde geral, sem queixa de qualquer tipo de dor orofacial, dor muscular ou dentária e dor de cabeça, nos últimos 30 dias. Já os critérios de exclusão para o

grupo controle foram: a) presença de distúrbios sistêmicos não controlados, e.g., diabetes, hipertensão ou distúrbios endócrinos; b) presença de alterações congênitas ou de desenvolvimento, e.g., aplasia, hiperplasia, displasia ou neoplasias; c) neuropatias orofaciais, dor dentária, sinusite ou otite, cefaleia primária crônica (pelo menos 3 meses), dor cervical ou fibromialgia local; d) distúrbios neurológicos, hormonais, reumáticos ou psiquiátricos; e) doses não estáveis por no mínimo 6 meses em caso de uso de medicamentos de ação central.

A avaliação das voluntárias para determinação da sua elegibilidade foi feita por um dentista especialista em dor orofacial. A tomada da história médica detalhada foi a principal fonte de informação para determinação dos critérios de exclusão enquanto um exame clínico abrangente foi adotado para determinar os critérios de inclusão.

Após a inclusão das mulheres com DTM e controles assintomáticas, as mesmas foram avaliadas quanto às características psicossociais, à presença do polimorfismo rs6746030 do gene *SCN9A* e quanto ao perfil somatossensorial mecânico doloroso e a modulação condicionada da dor, como será descrito abaixo.

4.3 CARACTERIZAÇÃO PSICOSSOCIAL

Foram obtidas informações a respeito das características psicossociais de todas as participantes (nível de estresse, ansiedade e depressão, qualidade do sono, grau de catastrofização relacionada à dor e nível de sensibilização central) mensuradas pelos seguintes questionários: escala de estresse percebido (PSS, na sigla em inglês), escala hospitalar de ansiedade e depressão (HADS, sigla em inglês), questionário do sono de Pittsburgh (PSQI, sigla em inglês), escala de catastrofização da dor (PCS, sigla em inglês) e inventário de sensibilização central (CSI, sigla em inglês).

PSS (Anexo 2)

Esse questionário mensura o grau de percepção de estresse no último mês considerando o contexto global do indivíduo. Esse questionário é composto por 14 itens que procuram medir o quanto imprevisível, incontrolável e sobrecarregada os respondentes avaliam suas vidas. Em cada item o participante assinala o quão frequentemente ele tem se sentido de uma determinada maneira considerando a seguinte escala: 0 = nunca, 1 = quase nunca, 2 = às vezes, 3 = quase sempre e 4 = sempre. O total da escala é a soma das pontuações desses 14 itens e os escores podem variar de 0 a 56. A versão validada para o português brasileiro foi utilizada no presente estudo (LUFT et al., 2007).

HADS (Anexo 3)

Esse questionário é um instrumento de autopreenchimento, contendo 14 questões do tipo múltipla escolha, composta de duas subescalas intercaladas, uma para ansiedade (7 questões), outra para depressão (7 questões). A HADS foi criada para ser aplicada em pacientes de serviços não psiquiátricos de hospital geral ou da atenção primária, já tendo sido validada uma versão em português brasileiro desta escala (CASTRO et al., 2006). Mas também tem sido aplicada na população geral, fora do hospital (BONJARDIM et al., 2005). Os escores variam de 0 a 21 pontos, sendo que os indivíduos com valores entre 0-7 serão considerados com ausência de ansiedade e/ou depressão, entre 8 e 10 ansiedade e/ou depressão leve, entre 11 e 14 ansiedade e/ou depressão moderada e entre 15 e 21 ansiedade e/ou depressão severa.

PSQI (Anexo 4)

Esse questionário foi criado para distinguir indivíduos que dormem “bem” ou “mal” e também e para informar clinicamente diversos distúrbios do sono que podem influenciar na qualidade do sono. É um instrumento confiável, válido e padronizado para avaliar a qualidade do sono, e de fácil manuseio pelos indivíduos e pelos pesquisadores. Consiste em 19 questões de autorrelato e 5 questões de relato de terceiros. As questões de relato de terceiros são apenas informativas, porém não são tabuladas no escore final. As 19 questões de

autorrelato avaliam vários fatores relacionados com a qualidade do sono, incluindo estimativas de duração e latência do sono e frequência e severidade de problemas específicos de sono. Os 19 itens são divididos em 7 grupos e tabulados separadamente, cada um em uma escala de 0 a 3. Os 7 escores são depois somados e resultam no escore global do PSQI, que varia de 0 a 21. Sendo que escores de 0 a 5 indicam qualidade de sono boa e escores de 6 a 21 indicam qualidade ruim. A versão validada para o português brasileiro será utilizada (BERTOLAZI et al., 2011).

PCS (Anexo 5)

Este questionário mensura pensamentos catastróficos relacionados à dor e indica a frequência com que tem pensamentos catastróficos quando sua dor está forte. Este questionário é composto de 13 afirmações no total e a marcação deve ser feita considerando uma escala de frequência que varia de 0-5 (0= quase nunca e 5= quase sempre, e a pontuação total foi calculada pela soma de todos os itens, que varia de 0 a 52 pontos e quanto maior o valor, maior o grau de catastrofização. O questionário foi preenchido pela própria voluntária da pesquisa. A versão validada para o português brasileiro será utilizada (SEHN et al., 2012).

CSI (Anexo 6)

Foi utilizada a versão validada e adaptada para a população brasileira do inventário de sensibilização central (CSI, Sigla em inglês) (CAUMO et al., 2017), no intuito de avaliar a presença de sensibilização central, sendo composto por duas partes. A parte A contém 25 questões relacionadas a sintomas somáticos e emocionais. Cada item aponta à presença diária ou na maioria dos dias dos últimos três meses de determinado sintoma, sendo possíveis as seguintes respostas conforme sua frequência: 0=nunca, 1=raramente, 2=às vezes, 3=frequentemente e 4=sempre. O escore final varia de 0 a 100 pontos.

A parte B, que não é pontuada, questiona o indivíduo quanto a diagnósticos prévios de sete tipos de condições que têm a sensibilização central como possível mecanismo fisiopatológico. O diagnóstico prévio deve ter sido dado por um profissional de saúde e o ano no qual o paciente foi diagnosticado tem que ser relatado.

4.4 AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMO GENÉTICO

A análise do polimorfismo genético foi feita através de DNA de células epiteliais descamadas presentes na saliva. Dessa forma, uma amostra de 5 mL saliva total não estimulada foi coletada em um tubo Falcon de 50 mL, em gelo. O indivíduo foi instruído a permanecer 30 minutos sem alimentação, ingestão de líquidos, fumar ou mascar chiclete antes de cada coleta. Finalizada a coleta, a saliva foi aliquoteada e armazenada a -20°C.

4.5 ESTUDO MOLECULAR

4.5.1 Extração de DNA a partir da saliva

O DNA da amostra de saliva foi extraído utilizando-se o kit QIAmp DNA Mini (Qiagen, Hilden Germany) de acordo com o protocolo do fabricante.

4.5.2 Quantificação e qualificação do DNA extraído da saliva

A quantificação do DNA obtido de todas as amostras será realizada por meio de leitura em espectrofotômetro NanoDrop TM 1000 (Thermo Fisher Scientific Wilmington, DE, Estados Unidos) em comprimentos de onda de 260 e 280 nm. Os valores considerados ideais para a qualidade do DNA deveriam estar entre 1,7 a 2,0.

4.5.3 Seleção do gene candidato e de SNP

Foi selecionado para avaliação genética um polimorfismo de um único nucleotídeo, do inglês Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), no gene *SCN9A* (rs6746030).

4.5.4 Genotipagem

A análise dos genótipos do polimorfismo selecionado foi realizada por meio da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real, do inglês Polymerase Chain Reaction (PCR). As reações foram feitas no termociclador Viia 7 (Applied Biosystems, Foster City, CA, Estados Unidos), através do método TaqMan utilizando ensaios TaqMan SNP genotyping assays (Applied Biosystems,

Foster City, CA, Estados Unidos) pré-padronizados e validados experimentalmente, seguindo as instruções do fabricante. Essa técnica permite a análise dos alelos variantes dos SNPs, utilizando primers específicos para esse segmento do DNA a ser analisado e dois tipos de sondas específicas marcadas com fluoróforos distintos (VIC e FAM) para cada um dos alelos possíveis, alelo ancestral ou alelo polimórfico, possibilitando a distinção alélica.

O resultado das reações foi analisado no software Viia 7 (versão 1.1, Applied Biosystems, Foster City, CA, Estados Unidos) que forneceu os relatórios dos genótipos avaliados.

4.6 TESTES QUANTITATIVOS SENSORIAIS

Três parâmetros dos testes quantitativos sensoriais mecânicos dolorosos, foram mensurados no músculo masseter do lado dominante das mulheres do grupo controle e no ponto mais doloroso do músculo masseter nas mulheres com do grupo com DTM dolorosa (determinado durante o exame clínico): a) limiar de dor mecânica (MPT, sigla em inglês), b) razão da somação temporal (WUR, sigla em inglês) e c) limiar de dor à pressão (PPT, sigla em inglês), (ROLKE et al., 2006; KOTHARI; BAAD-HANSEN; OONO; SVENSSON, 2015).

Limiar de Dor Mecânica (MPT, sigla em inglês)

Esse teste visa avaliar o limiar de dor à estímulos mecânicos superficiais. Para tal objetivo foi utilizado um kit contendo 20 monofilamentos Von Frey de nylon de diferentes diâmetros calibrados para exercer forças específicas que aumentam conforme também se aumenta o calibre do monofilamento. A força aplicada pelo monofilamento pode variar de 0,008 g/mm² até 300 g/mm². Cada monofilamento foi aplicado perpendicularmente no músculo masseter e uma leve pressão foi feita até o filamento se curvar. O participante foi instruído a relatar verbalmente quando sentisse uma sensação de “agulhada, alfinetada ou picada levemente dolorosa” na área de contato dos monofilamentos. Os testes iniciaram com o filamento menos calibroso (0,008 g/mm²) e foram aplicados sequencialmente filamentos cada vez mais calibrosos até que o voluntário reportasse verbalmente sentir uma picada/agulhada levemente dolorosa, como instruído no início teste. Isso foi considerado como um estímulo positivo (+). Após esse relato positivo, se inverteu

a ordem e seguiu-se para o próximo filamento com valor mais baixo, até que o voluntário não sentisse mais a aplicação do estímulo mecânico doloroso. Isso foi considerado como um estímulo negativo (-). Essa medição foi feita até se obter 5 estímulos negativos (descendente) e 5 estímulos positivos (ascendentes) e a média geométrica dessas repetições foi calculada.

Razão da Somação Temporal (WUR, sigla em inglês)

Esse teste visa avaliar a somação temporal que é entendida como um aumento da excitabilidade neuronal que depende da frequência do estímulo aplicado. Para tal objetivo foi utilizado o menor filamento de Von Frey que provocasse uma sensação de dor. O filamento escolhido foi posicionado sobre a região do músculo masseter e uma pressão foi feita até o filamento se curvar. Este teste foi realizado em uma sequência contínua onde a intensidade de um único estímulo de picada com o filamento foi comparada com o de uma série de 10 estímulos consecutivos com o mesmo filamento e com a mesma intensidade de força (1 por segundo aplicados dentro de uma área de 1 cm²). Essa sequência foi repetida três vezes e os valores de intensidade de dor de 0 a 10 foram quantificados por meio de uma escala de gradação numérica (NRS, sigla em inglês) em dois momentos: 1) após o estímulo único e 2) ao final da série de 10 estímulos consecutivos. A razão da somação temporal de dor foi calculada pela divisão da média da intensidade de dor reportada na série de 10 estímulos consecutivos pela média da intensidade de dor reportada durante os estímulos únicos (ROLKE et al., 2006).

c) Limiar de Dor à Pressão (PPT, sigla em inglês)

Esse teste visa avaliar o limiar de dor à estímulos mecânicos profundos. Para tal objetivo, as mensurações do PPT foram realizadas com a utilização de um dinamômetro digital, de ponta circular plana de 1 cm², por meio do qual se aplicou uma pressão constante e crescente de aproximadamente 0,5 kg/cm²/seg. Anteriormente ao exame, os indivíduos foram treinados a apertar o botão que registra a força aplicada quando a sensação de pressão se transformasse em estímulo doloroso. A média aritmética de três medições em sequência foi considerada como o limiar (ROLKE et al., 2006).

4.7 MODULAÇÃO CONDICIONADA DA DOR

A capacidade de modulação da dor e analgesia endógena das participantes foi avaliada pelo seguinte protocolo. A avaliação do limiar de dor à pressão (PPT) no músculo masseter foi considerada o estímulo teste (ET) e foi realizada em dois momentos: antes e após a participante do estudo imergir a mão oposta ao estímulo teste em um recipiente contendo água com gelo, por dois minutos, o que foi considerado um estímulo condicionante (EC). O protocolo de avaliação foi do tipo sequencial, i.e., o ET foi repetido imediatamente após a aplicação do EC. Dessa forma, o CPM foi calculado como a diferença absoluta da variação entre o “ET antes do EC” e o “ET após o EC” (YARNITSKY et al., 2010; YARNITSKY et al., 2015).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste do qui-quadrado foi realizado para análise do desvio de Hardy-Weinberg em relação à distribuição dos genótipos do polimorfismo rs6746030 do gene *SCN9A*.

O teste de Kolgomorov Smirnov foi aplicado para avaliação de distribuição normal ($p < 0,050$) e, considerando que os resultados foram significativos ($p < 0,050$), ou foi aplicado um teste não paramétrico ou foi realizada uma transformação logarítmica na base 10.

As comparações entre os grupos DTM e controle, sem considerar as subdivisões de acordo com a presença do polimorfismo *SCN9A*, foram realizadas por meio do teste U de Mann-Whitney. Assim, as variáveis idade, perfil psicológico, qualidade do sono, sensibilização central, bem como as variáveis somatossensoriais (PPT, MPT e WUR) e a modulação condicionada da dor (CPM) foram descritas pela mediana e intervalo interquartil. Para resolver o problema de comparações múltiplas, foi aplicada a correção de Bonferroni e o nível de significância foi reduzido para $p < 0,0045$.

Já para as comparações das variáveis somatossensoriais e a modulação condicionada da dor entre os grupos DTM e controle, considerando as subdivisões de acordo com a presença do polimorfismo *SCN9A*, foram realizadas por meio da

análise de variância (ANOVA) mista com fator grupo (DTM ou controle) e fator polimorfismo *SCN9A* (presença ou ausência). O pós-teste de Tukey foi aplicado quando os efeitos principais ou interações se mostraram significativas, sendo que um nível de significância de 5% foi adotado ($p=0,050$). Uma análise descritiva dos valores de PPT, MPT, WUR e do CPM absoluto foi feita por meio da média e do desvio padrão (DP).

5. Resultados

5. RESULTADOS

5.1 Caracterização Geral da Amostra

A tabela 1 descreve as principais características da amostra, independente da presença do polimorfismo *SCN9A*. Assim, a amostra foi composta por 100 voluntárias saudáveis (grupo controle) e 95 voluntárias com DTM dolorosa (grupo DTM), cujos diagnósticos mais comuns foram dor miofascial com referência (29,25%) e mialgia local (26,38%). Não houve casos com diagnósticos de uma única condição, ou seja, todas as voluntárias apresentaram uma sobreposição desses diagnósticos.

Em relação perfil psicológico, as mulheres do grupo DTM apresentaram valores significativamente maiores aos do grupo controle para os parâmetros estresse (PSS), ansiedade (HADS), depressão (HADS), e catastrofização (PCS) (Mann-Whitney: $p < 0,001$), demonstrando que estas variáveis psicológicas estão mais comprometidas nas pacientes com DTM dolorosa (Tabela 01).

Da mesma forma, os valores de qualidade do sono (PSQI) e de sensibilização central (CSI) foram significativamente maiores nas mulheres com DTM (Mann-Whitney: $p < 0,001$), o que indica uma pior qualidade do sono e um maior grau de sensibilização central nesse grupo (Tabela 01).

Por fim, a tabela 1 descreve a mediana e a amplitude interquartil das variáveis somatossensoriais. Após a realização da correção de Bonferroni ($p = 0,0045$), apenas os limiares de dor à pressão (PPT, sigla em inglês) e de dor mecânica (MPT, sigla em inglês) diferiram de maneira significativa entre o grupo DTM e o grupo controle, ou seja, as mulheres do grupo DTM apresentaram valores significativamente menores de PPT (Mann-Whitney: $p = 0,002$) e de MPT (Mann-Whitney: $p < 0,0001$) (Tabela 01). Para as variáveis WUR e CPM, nenhuma diferença foi verificada entre os grupos ($p > 0,0045$).

Resultados

Tabela 1: Caracterização geral da amostra para os grupos DTM e Controle.

	DTM (n = 95)	Controle (n = 100)	P
Idade (anos)			
Mediana (Amplitude Interquartil)	38 (20)	29 (11)	<0,001*
Diagnósticos de DTM [†]			
	n (%)		
Dor Miofascial com Referência	48 (29,45)	-	
Dor Miofascial com Espalhamento	14 (8,59)	-	
Mialgia local	45 (27,61)	-	
Artralgia	43 (26,38)	-	
Cefaléia atribuída a DTM	13 (7,97)	-	
Perfil Psicológico			
Estresse (PSS)			
Mediana (Amplitude Interquartil)	32 (18)	25 (11)	<0,001*
Ansiedade (HADS)			
Mediana (Amplitude Interquartil)	10 (7)	7 (6)	<0,001*
Depressão (HADS)			
Mediana (Amplitude Interquartil)	8 (7)	3 (4)	<0,001*
Sono (PSQI)			
Mediana (Amplitude Interquartil)	15 (11)	6 (4)	<0,001*
Catastrofização (PCS)			
Mediana (Amplitude Interquartil)	28 (16)	15 (16)	<0,001*
Sensibilização Central (CSI)			
Mediana (Amplitude Interquartil)	49 (21)	27 (17)	<0,001*
Perfil Somatossensorial			
	Mediana (Intervalo Interquartil)	Mediana (Intervalo Interquartil)	
Limiar de dor à pressão (PPT)	1,40 (1,01)	1,75 (1,35)	0,002*
Limiar de dor mecânica (MPT)	4,21 (18,47)	52,85 (111,02)	<0,001*
Razão da somação temporal (WUR)	1,62 (1,09)	1,80 (1,29)	0,77
Modulação Condicionada da Dor (CPM)	0,14 (1,00)	0,00 (0,60)	0,023

Teste de Mann-Whitney; *Estatisticamente significativo: $p < 0,0045$ após correção de Bonferroni.

5.2 Caracterização Geral da Amostra de acordo com a presença do Polimorfismo *SCN9A*.

Os dados das frequências genotípicas do rs6746030 estão listados na tabela 2. A população do estudo estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg em relação ao polimorfismo *SCN9A*. Foi possível observar que o genótipo mais prevalente foi o GG, homozigoto ancestral (79,2% no grupo DTM e 81% no controle), seguido do GA, heterozigoto (20,8% no grupo DTM e 14% no controle). Embora o genótipo AA, homozigoto mutado, tenha sido o menos encontrado na nossa amostra, sua prevalência foi significativamente maior no grupo controle em relação ao grupo DTM (Qui-quadrado: $p=0,046$). Para as análises posteriores, as mulheres com genótipo GA e AA fizeram parte do mesmo grupo, ou seja, foram consideradas com polimorfismo *SCN9A* e aquelas com genótipo GG constituíram os grupos sem polimorfismo *SCN9A*.

Tabela 2: Frequência genotípica do SNP rs6746030 do gene.

Genótipos	Frequência Genotípica n (%)		P
	DTM	Controles	
GG	75 (79,2)	81 (81)	$>0,05$
GA	20 (20,8)	14 (14)	$>0,05$
AA	0 (0)	5 (5)	0,046*
Total	95	100	

Teste de Qui-quadrado; *Estatisticamente significativo

5.3 Influências do Polimorfismo *SCN9A* nas variáveis somatossensoriais (PPT, MPT e WUR) e na modulação condicionada da dor (CPM).

O efeito do polimorfismo genético nos grupos DTM e controle é descrito nas Tabela 3 e 4. A tabela 3 descreve os valores (absolutos e após transformação logarítmica na base 10) das variáveis somatossensoriais (PPT, MPT e WUR) e da modulação condicionada da dor (CPM) entre os grupos. Já a tabela 4 apresenta os resultados da comparação das variáveis supracitadas entre os grupos, avaliando-se também o efeito principal e uma possível interação entre grupo (DTM e controle) e polimorfismo *SCN9A* (Presença e Ausência).

Foi observado um efeito principal do grupo, mas não do polimorfismo genético, para os parâmetros PPT, MPT e CPM, o que indica que a presença de DTM modificou os limiares de dor à pressão, de dor mecânica e também a modulação condicionada da dor de maneira significativa (Tabela 04).

Entretanto, para o PPT, nas análises de comparações múltiplas, os limiares de dor à pressão foram significativamente menores no grupo com DTM em relação àqueles do grupo controle, na presença do polimorfismo *SCN9A* (Com DTM-Com SNP x Controle-Com SNP, Tukey: $p=0,016$). Já na ausência do polimorfismo genético, nenhuma diferença significativa foi verificada entre os grupos DTM e Controle (Com DTM-Sem SNP x Controle-Sem SNP Tukey: $p=0,056$).

Para a variável sensorial MPT, nas análises de comparações múltiplas, os grupos com DTM, independente da presença do polimorfismo *SCN9A*, apresentaram limiares de dor mecânica significativamente menores daqueles apresentados pelas mulheres do grupo controle (DTM-Sem SNP x Controle-Sem SNP, Tukey: $p<0,001$; Com DTM-Com SNP x Controle-Com SNP, Tukey: $p<0,001$).

Para o CPM, também foi encontrado um efeito principal para o grupo (tabela 04). Entretanto, nas análises de comparações múltiplas, apenas houve uma diferença significativa entre os grupos com DTM sem polimorfismo e controle com polimorfismo, ou seja, esse último grupo apresentou valores de modulação condicionada da dor significativamente maiores (Tukey: $p=0,032$).

Ainda, para a razão de somação temporal (WUR, sigla em inglês), embora o modelo tenha mostrado uma interação significativa (tabela 04), as análises de comparações múltiplas não foram significativas nos principais pontos de comparação ($p>0,050$).

Resultados

Tabela 3: Média, desvio-padrão (DP) dos valores dos limiares de dor à pressão (PPT, sigla em inglês), de dor mecânica (MPT, sigla em inglês), da razão da somação temporal (WUR, sigla em inglês) e da modulação condicionada da dor (CPM, sigla em inglês) nos grupos DTM e controle, subdivididos em com (GA+AA) e sem (GG) polimorfismo *SCN9A*.

Perfil Sensorial	DTM		Controle	
	Sem SNP	Com SNP	Sem SNP	Com SNP
	(GG)	(GA + AA)	(GG)	(GA + AA)
	Média ±	Média ±	Média ±	Média ±
PPT *	1,58 ± 0,74	1,51 ± 0,91	1,92 ± 0,89	2,29 ± 1,13
PPT ^{Log10} &	0,15 ± 0,21	0,09 ± 0,30	0,24 ± 0,20	0,30 ± 0,23
MPT *	24,32 ± 55,40	36,40 ± 90,34	92,54 ± 115,68	148,55 ± 160,36
MPT ^{Log10} &	0,65 ± 0,83	0,78 ± 0,87	1,61 ± 0,59	1,93 ± 0,48
WUR *	1,94 ± 1,07	2,18 ± 1,40	2,24 ± 1,62	1,41 ± 0,91
WUR ^{Log10} &	0,24 ± 0,19	0,29 ± 0,22	0,28 ± 0,22	0,16 ± 0,19
CPM *	0,30 ± 0,73	0,39 ± 1,04	0,03 ± 0,59	-0,22 ± 0,98

*Valores absolutos; &Valores após transformação logarítmica na base 10.

Tabela 4: Análise de variância (ANOVA) com o fator grupo (com DTM ou Controle) e o fator polimorfismo do gene *SCN9A* (Com e Sem polimorfismo) para comparação dos valores do limiar de dor à pressão (PPT, sigla em inglês), limiar de dor mecânica (MPT, sigla em inglês), razão da somação temporal (WUR, sigla em inglês) e dos valores absolutos da modulação condicionada da dor (CPM, sigla em inglês).

	PPT	MPT	WUR	CPM – Absoluto
Efeitos principais				
Grupo (1)	F= 14,22 p= 0,0002*	F= 67,6504 p<0,001*	F= 1,47 p= 0,22	F= 10,92 p=0,001
Polimorfismo (2)	F= 0,011 p= 0,91	F= 2,904 p=0,09	F= 1,1338 p= 0,29	F= 0,38 p=0,54
Tamanho do efeito	0,07	0,26	NA	0,05
Interações				
1x2	F= 2,29 p= 0,13	F= 0,55 p= 0,46	F= 5,90 p= 0,016*	F= 1,56 p=0,21
Tamanho do efeito	NA	NA	0,03	NA

*células em negrito mostram diferenças significativas (p<0,050). NA = não aplicável

6. Discussão

6. DISCUSSÃO

O objetivo principal do nosso estudo foi verificar, em pacientes com disfunção temporomandibular e controles assintomáticos, a influência do polimorfismo *SCN9A* (rs6746030) na sensibilidade mecânica dolorosa e na modulação condicionada de dor. O principal achado desta pesquisa foi que a presença de DTM e não do polimorfismo *SCN9A* modificou os limiares de dor à pressão, de dor mecânica e também a modulação condicionada da dor. Porém, um achado interessante para a variável somatossensorial PPT, ocorreu nas análises de comparação múltipla onde os limiares de dor à pressão foram significativamente menores no grupo com DTM em relação àqueles do grupo controle, apenas na presença do polimorfismo *SCN9A*.

Uma mutação do gene *SCN9A* parece estar envolvida em síndromes de dor excessiva ou insensibilidade a dor (RAYMOND et al., 2004; ESTACION et al., 2009; REIMANN et al., 2010; DUAN et al., 2015). O alelo polimórfico do rs6746030, estudado neste trabalho, foi encontrado como um fator significativo para alterações da função do canal de sódio NaV 1.7 e, por consequência, parece gerar um aumento da sinalização dolorosa perante algumas condições dolorosas (DRENTH; WAXMAN, 2007; ESTACION et al., 2009; REIMANN et al., 2010; DUAN et al., 2015; KURZAWSKI et al., 2018).

Entretanto, o presente estudo não verificou uma influência do polimorfismo rs6746030 do gene *SCN9A* na sensibilidade mecânica dolorosa e na modulação condicionada de dor, o que corrobora estudos anteriores que também não encontraram associação entre o polimorfismo do gene *SCN9A* e a severidade da dor em pacientes com neuralgia trigeminal (COSTA et al., 2019) e a presença de dor crônica generalizada (HOLLIDAY et al., 2012). Assim, é possível que outros polimorfismos genéticos, bem como fatores epigenéticos ou a regulação da transcrição, possam estar envolvidos na expressão do canal NaV 1.7 na membrana celular, sendo assim, no presente estudo, apenas a presença polimorfismo do gene *SCN9A* (rs6746030) não foi capaz de modificar fenótipos intermediários relacionados ao limiar de dor, à somação temporal e à modulação da dor.

Além disso, é fundamental destacarmos que a disfunção temporomandibular possui uma fisiopatologia complexa, com uma multiplicidade de fatores interagindo em nível individual, ou seja, cada fator desempenhando um papel específico, que se somam e influenciam a condição dolorosa (MANFREDINI et al., 2013). Essa multifatorialidade já foi bem documentada pela literatura e, até hoje, nenhum fator foi indicado como causa universal e inequívoca para o desenvolvimento da disfunção temporomandibular (SMITH et al., 2011; SLADE et al., 2013; SLADE et al 2016).

A respeito dessa multifatorialidade, uma pesquisa publicada em 2016 pelo estudo OPPERA revelou que os preditores mais influentes para DTM foram a presença de condições comorbidas e a presença de sintomas orofaciais não dolorosos. A DTM mostrou-se desenvolver em uma taxa desproporcionalmente alta em pessoas com saúde relativamente ruim, com outras condições de dor e comorbidades, com má qualidade do sono ou ainda associada ao tabagismo (SLADE et al., 2016).

Esse mesmo trabalho revelou caminhos distintos na fisiopatologia e na etiologia da DTM, mostrando que parece haver interação de mecanismos nociceptivos centrais e periféricos que contribuem para algumas manifestações da DTM e nesse sentido, as interações gene-ambiente também pode ter um papel importante (SLADE et al., 2016).

Embora não tenha sido verificada uma influência do polimorfismo rs6746030 do gene *SCN9A*, deve ser destacado que em indivíduos com DTM o limiar de dor à pressão reduziu em relação aos controles assintomáticos, apenas na presença do polimorfismo. Embora seja um resultado isolado e apenas encontrado nas comparações múltiplas, não se pode descartar a contribuição deste polimorfismo na redução do PPT, o que já foi demonstrado em outros estudos (DUAN et al., 2015).

Ao mesmo tempo, o presente estudo evidencia mais uma vez que algumas variáveis somatossensoriais, especialmente aquelas que utilizam estímulos mecânicos dolorosos, são capazes de diferenciar indivíduos com DTM de controles assintomáticos. Nessa direção, foi verificado que limiares de dor à estímulos mecânicos superficiais (MPT) e profundos (PPT) foram significativamente reduzidos em pacientes com DTM, o que corrobora estudos

prévios (KOTHARI et al., 2015; FERREIRA et al., 2018; COSTA et al., 2020; PINTO et al., 2020).

As avaliações somatossensoriais foram apenas realizadas na região orofacial, mais precisamente no músculo masseter, indicando um ganho sensorial frente a estímulos mecânicos dolorosos. Assim, fica difícil inferir a presença de um quadro de sensibilidade mais difusa e generalizada nos nossos pacientes com DTM. Entretanto, a ausência de diferenças para os testes sensoriais dinâmicos (WUR e CPM) sugerem uma sensibilização mais localizada.

Nessa direção, essa maior sensibilidade a estímulos mecânicos dolorosos (MPT e PPT) em pacientes com DTM crônica pode refletir um estado de hiperalgesia, o que já foi previamente descrito (PFAU et al., 2009). Além disso, um estudo anterior encontrou que 85,3% dos pacientes com DTM exibiram uma ou mais algumas anormalidades somatossensoriais sendo que a mais frequente em termos de ganho de função, foi a hiperalgesia provocada por estímulos dolorosos mecânicos (KOTHARI et al., 2015), corroborando nossos achados.

Secundariamente, foi verificado que todas as variáveis psicológicas, a qualidade do sono e o grau de sensibilização central diferiu de maneira significativa entre sujeitos com DTM e grupo controles, ou seja, na presença de DTM os indivíduos apresentaram maiores níveis de estresse, ansiedade, depressão, catastrofização e sensibilização central e pior qualidade do sono.

Assim, fica claro que pacientes com DTM crônica podem apresentar além de um reduzido limiar à estímulos mecânicos, um comprometimento psicológico, reforçando a influência das variáveis psicológicas nesse fenômeno complexo e abrangente que é a experiência dolorosa (RAJA et al., 2020).

A relação entre piores níveis de estresse, de ansiedade e de depressão com a DTM é amplamente descrita na literatura (FILLINGIM et al., 2013; SIPILA et al., 2013; NATU et al., 2018; FILLINGIM et al., 2020). Porquanto, o comprometimento psicológico pode antecipar os sintomas da disfunção dolorosa ou ainda os sintomas psicológicos podem se desenvolver a partir do sofrimento psicológico causado pela disfunção dolorosa crônica (GARCIA-CAMPAYO et al., 2009; FILLINGIM et al., 2013; FILLINGIM et al., 2020).

Além dessas variáveis psicológicas, o presente estudo mostrou que pacientes com DTM são também mais catastróficos, o que corrobora estudos

prévios (QUARTANA et al., 2009; REITER et al., 2018; WILLASSEN et al., 2020). Parece haver uma relação significativa entre a catastrofização e o desenvolvimento da DTM e esses indivíduos, parecem experimentar uma maior persistência da dor (LITT et al., 2013; WILLASSEN et al., 2020). Nessa direção, foi verificado que a catastrofização parece ser um melhor preditor para DTM do que outras variáveis psicológicas (ansiedade e depressão) (WILLASSEN et al., 2020).

Outro ponto verificado por nossos estudos foi que os pacientes com DTM apresentaram um maior escore de sensibilização central, avaliado por meio do Inventário de Sensibilização Central (CSI, sigla em inglês), no entanto não diferiram em relação aos testes sensoriais dinâmicos WUR e CPM, que tem sido considerado como bons marcadores para a mensuração de sensibilização central (ARENDT et al., 2018).

Um estudo recente, sugere que o CSI é melhor para identificar os fatores psicossociais relacionados com sensibilização central em doenças crônicas associadas à lesão de chicote ou *whiplash* do que às adaptações do sistema nervoso central (HENDRIKS et al., 2020). Da mesma forma, este inventário parece estar mais fortemente associado a fatores psicológicos do que aos resultados de testes psicofísicos (GERVAIS-HUPÉ et al., 2018).

Dessa forma, os resultados do presente estudo, apoiados por achados anteriores (GERVAIS-HUPÉ et al., 2018; HENDRIKS et al., 2020), permitem sugerir que talvez o CSI seja uma ferramenta mais confiável para avaliar aspectos psicossociais relacionados à dor do que realmente mensurar uma possível sensibilização central.

Por fim nosso estudo verificou que indivíduos com DTM apresentam uma pior qualidade do sono, o que é apoiado pela literatura (SMITH et al., 2009; LEI et al., 2015; RAPHAEL et al., 2015; SOMMER; LAVIGNE; ETTLIN, 2015; BURR et al., 2020). A pobre qualidade de sono, também, foi associada com a severidade da dor experimentada (QUARTANA et al., 2010). Tem sido sugerido que esta relação é bidirecional, onde a má qualidade de sono piora a dor, enquanto a dor piora a qualidade do sono (CHEATLE et al., 2016). Assim, a perturbação do sono talvez seja um fator que pode contribuir diretamente para a sensibilização central e amplificação da dor (SMITH et al., 2009). Além disso, a dor de modo geral, pode

influenciar na qualidade do sono, aumentar frequência e gravidade da insônia e gerar dificuldade para iniciar o sono (CHEATLE et al., 2016).

Uma revisão sistemática e meta-análise identificou que a disfunção do sono é um diagnóstico importante e é um fator preditivo para o início da DTM dolorosa. Esse estudo reforça a indicação de que os profissionais de saúde devam rotineiramente implementar a avaliação da qualidade do sono, usando uma pontuação de corte de 5/21 no PSQI para rastrear a presença de disfunção do sono em pacientes com DTM dolorosa (BURR et al., 2020). Os resultados do nosso estudo verificaram uma mediana de 8 para o PSQI, o que corrobora os achados desta revisão sistemática.

O presente estudo possui algumas limitações: não foram incluídos homens, porém isso pode ser justificado pela maior prevalência da DTM em Mulheres. Apenas um polimorfismo rs6746030 do gene *SCN9A* foi incluído, o que gera a possibilidade de outros polimorfismos do mesmo gene estarem presentes modificando os resultados da pesquisa.

Assim, os resultados do presente estudo reforçam a importância de uma avaliação mais abrangente do paciente com DTM dolorosa crônica, incluindo variáveis biológicas e psicossociais que possam contribuir para a experiência de dor dos pacientes.

7. Conclusão

7. CONCLUSÃO

A presença do polimorfismo rs6746030 do gene *SCN9A* não foi capaz de modificar as variáveis sensoriais mecânicas dolorosas e a modulação condicionada da dor. Entretanto, pacientes com DTM apresentaram limiares de dor à estímulos mecânicos dolorosos reduzidos e, portanto, mais sensíveis do que controles assintomáticos. Ainda, é reforçada a importâncias das variáveis psicossociais e da qualidade do sono para diferenciar pacientes com DTM de controles assintomáticos.

8. Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARENDT-NIELSEN, L. et al. Assessment and manifestation of central sensitisation across different chronic pain conditions. **European Journal of Pain**, v. 22, n. 2, p. 216-241, 2018.

BAIR, E. et al. Identification of clusters of individuals relevant to temporomandibular disorders and other chronic pain conditions: the OPPERA study. **Pain**, v. 157, n. 6, p. 1266-1278, 2016.

BAIR, E. et al. Study protocol, sample characteristics, and loss to follow-up: the OPPERA prospective cohort study. **The Journal of Pain**, v. 14, n. 12, p. T2-T19, 2013.

BERTOLAZI, A. N. et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index. **Sleep Medicine**, v. 12, p. 70-75, 2011.

BONJARDIM, L. R.; GAVIAO, M. B.; PEREIRA, L. J.; CASTELO, P. M. Anxiety and depression in adolescents and their relationship with signs and symptoms of temporomandibular disorders. **The International Journal of Prosthodontics**, v. 18, p. 347-352, 2005.

BRKANAC, Z. et al. IFRD1 Is a Candidate Gene for SMNA on Chromosome 7q22-q23. **American Journal of Human Genetics**, v. 84, p. 692-697, 2009.

BURR, M. R.; NAZE, G. S.; SHAFFER, S. M.; EMERSON, A. J. The Role of Sleep Dysfunction in Temporomandibular Onset and Progression: A Systematic Review and Meta-Analyses. **Journal of Oral Rehabilitation**, 2020.

CASTRO, M. M. et al. [Validity of the hospital anxiety and depression scale in patients with chronic pain.]. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 56, p. 470-477, 2006.

CAUMO, W. et al. The central sensitization inventory validated and adapted for a brazilian population: psychometric properties and its relationship with brain-derived neurotrophic factor. **Journal of Pain Research**, v. 1, n. 10, p. 2109-2122, 2017.

CHEATLE, M. D. et al. Assessing and Managing Sleep Disturbance in Patients with Chronic Pain. **Sleep Medicine Clinics**, v. 11, n. 4, p. 531-541, 2016.

COHEN, H. et al. The relationship between a common catechol-o-methyltransferase (COMT) polymorphism val (158) met and fibromyalgia. **Clinical and Experimental Rheumatology**, v. 27, p. 51-56, 2009.

COSTA, G. M. F. et al. No Association of Polymorphisms in Nav1.7 or Nerve Growth Factor Receptor Genes with Trigeminal Neuralgia. **Pain Medicine**, v. 20, n. 7, p. 1362-1369, 2019.

COSTA, Y. M. et al. Reproducibility of quantitative sensory testing applied to musculoskeletal orofacial region: Site and sex differences. **European Journal of Pain**, v. 1, p. 81-90, 2019.

COSTA, Y. M. et al. Topical anaesthesia degree is reduced in temporomandibular disorders patients: A novel approach to assess underlying mechanisms of the somatosensory alterations. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 47, n. 2, p. 113-122, 2020.

CUI, W.; YU, X.; ZHANG, H. The serotonin transporter gene polymorphism is associated with the susceptibility and the pain severity in Idiopathic Trigeminal Neuralgia patients. **The Journal of Headache and Pain Headache Pain**, v. 14, p. 1–6, 2014.

DE LEEUW, R.; KLASSER, G. D. (Ed.). **Orofacial pain: guidelines for assessment, diagnosis, and management**. Chicago: Quintessence, 2018.

DIATCHENKO , L. et al. Genetic basis for individual variations in pain perception and the development of a chronic pain condition. **Humam Molecular Genetics**, v. 14, n. 1, p. 135-143, 2005.

DIATCHENKO, L. et al. Idiopathic pain disorders--pathways of vulnerability. **Pain**, v. 123n. 3 p. 226-23, 2006.

DIATCHENKO, L.; FILLINGIM, R. B.; SMITH, S. B.; MAIXNER, W. The phenotypic and genetic signatures of common musculoskeletal pain conditions. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 9, p. 340-350, 2013.

DRENTH, J. P.; WAXMAN, S. G. Mutations in sodium-channel gene *SCN9A* cause a spectrum of human genetic pain disorders. **Journal of clinical Investigation**, v. 117, n. 12, p. 3603-3609, 2007.

DUAN, G. et al. The effect of *SCN9A* variation on basal pain sensitivity in the general population: An experimental study in young women. **The Journal of Pain**, v. 16, n. 10, p. 971–980, 2015..

ESTACION, M. et al. A sodium channel gene *SCN9A* polymorphism that increases nociceptor excitability. **Annals of Neurology**, v. 66, n. 6, p. 862–866, 2009.

FILLINGIM, R. B. et al. Associations of Psychologic Factors with Multiple Chronic Overlapping Pain Conditions. **Journal of oral & Facial Pain and Headache**, v. 34, p. 85-100, 2020.

FILLINGIM, R. B. et al. Psychological factors associated with development of TMD: the OPPERA prospective cohort study. **The Journal of Pain**, v. 14, n. 12, p. T75-90, 2013.

FILLINGIM, R. B. et al. Summary of findings from the OPPERA baseline case-control study: implications and future directions. **The Journal of Pain**, v. 12, n. 11, p. T102-T107, 2011.

GARCIA-CAMPAYO, J. et al. Brain dysfunction behind functional symptoms: neuroimaging and somatoform, conversive, and dissociative disorders. **Current Opinion in Psychiatry**, v. 22, p. 224-231, 2009.

GATCHEL, R. J.; PENG, Y. B.; PETERS, M. L.; FUCHS, P. N.; TURK, D. C. The biopsychosocial approach to chronic pain: scientific advances and future directions. **Psychological Bulletin**, v. 133, n. 4, p. 581-624, 2007.

GERVAIS-HUPÉ, J. et al. Validity of the central sensitization inventory with measures of sensitization in people with knee osteoarthritis. **Clinical Rheumatology**, v. 37, n. 11, p. 3125-3132, 2018.

HADDLEY, K. et al. Behavioural Genetics of the Serotonin Transporter. **Brain Imaging in Behavioral Neuroscience**, v. 12, p. 503–35, 2012.

HENDRIK, E. et al. Convergent Validity of the Central Sensitization Inventory in Chronic Whiplash-Associated Disorders; Associations with Quantitative Sensory Testing, Pain Intensity, Fatigue, and Psychosocial Factors. **Pain Medicine**, v. 21, n. 12, p. 3401-3412, 2020.

HOLLIDAY K. L. et al. The non-synonymous SNP, R1150W, in *SCN9A* is not associated with chronic widespread pain susceptibility. **Molecular Pain**, v. 8, p. 72, 2012.

KIM, H. et al. Genetic influence on variability in human acute experimental pain sensitivity associated with gender, ethnicity and psychological temperament. **Pain**, v. 109, n. 3, p. 488-496, 2004.

KOTHARI, S. F. et al. Somatosensory assessment and conditioned pain modulation in temporomandibular disorders pain patients. **Pain**, v. 156, n. 12, p. 2545–2555, 2015.

KORSZUN, A. et al. Basal circadian cortisol secretion in women with temporomandibular disorders. **Journal of Dental Research**, v. 81, n. 4, p. 279-283, 2002.

KOTHARI, S. F.; BAAD-HANSEN, L.; OONO, Y.; SVENSSON, P. Somatosensory assessment and conditioned pain modulation in temporomandibular disorders pain patients. **Pain**, v. 156, p. 2545-2555, 2015.

KURZAWSKI, M. et al. Common Missense Variant of *SCN9A* Gene Is Associated with Pain Intensity in Patients with Chronic Pain from Disc Herniation. **Pain Medicine**, v. 19, n. 5, p. 1010-1014, 2018.

LEI, J. et al. Sleep disturbance and psychologic distress: prevalence and risk indicators for temporomandibular disorders in a Chinese population. **Journal of oral & Facial Pain and Headache**, v. 29, n. 1, p. 24-30, 2015.

LEVINE, J. D. et al. Contribution of sensory afferents and sympathetic efferents to joint injury in experimental arthritis. **The Journal of Neuroscience**, v. 6, n. 12, p. 3423-3429, 1986.

LITT, M. D. et al. Determinants of pain treatment response and nonresponse: Identification of TMD patient subgroups. **The Journal of Pain**, v. 14, p. 1503–1513, 2013.

LINDSTEDT, F. et al. Conditioned pain modulation is associated with common polymorphisms in the serotonin transporter gene. **PLoS One**, v. 6, p. 18252, 2011.

LINDSTEDT, F. et al. Serotonin-1A Receptor Polymorphism (rs6295) Associated with Thermal Pain Perception. **PLoS One**, v. 7, p. 1–9, 2012.

LUFT, C. D. et al. Brazilian version of the Perceived Stress Scale: translation and validation for the elderly. **Revista de Saude Publica**, v. 41, p. 606-615, 2007.

LUND, J. P.; LAVIGNE, G. J.; DUBNER, R.; SESSLE, B. J. Orofacial Pain. From Basic Science to Clinical Management, 1st edn. Carol Stream: **Quintessence Publishing Co**, 2001.

MANFREDINI, D. et al. Natural course of temporomandibular disorders with low pain-related impairment: a 2-to-3-year follow-up study. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 40, n. 6, p. 436-42, 2013.

MATSUDA, J. B. et al. Serotonin receptor (5-HT 2 A) and catechol-o-methyltransferase (COMT) gene polymorphisms: triggers or fibromyalgia? **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, p. 141-149, 2010.

MELIS, M.; GIOSIA, M. **The role of genetic factors in the etiology of temporomandibular disorders: a review**. *Cranio®*. v. 34, p. 43-51, 2016.

MELOTO, C. B.; SERRANO, P. O.; RIBEIRO, M. C. S.; RIZZATTI, C. M. B. Genomics and the new perspectives for temporomandibular disorders. **Archives of Oral Biology**, v. 56, n. 11, p. 1181-1191, 2011.

MOGIL, J. S. et al. Genetic sensitivity to hot-plate nociception in DBA/2J and C57BL/6J inbred mouse strains: possible sex-specific mediation by delta2-opioid receptors. **Pain**, v. 70, n. 2-3, p. 267-277, 1997.

NATU, V. P. et al. Temporomandibular disorder symptoms and their association with quality of life, emotional states and sleep quality in South-East Asian youths. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 45, v. 10, p. 756-763, 2018.

OAKLEY, M.; VIEIRA, A. R. The many faces of the genetics contribution to temporomandibular joint disorder. **Orthodontics & Craniofacial Research**, v. 11, n. 3, p. 25-135, 2008.

PFAU, D. B. et al. Somatosensory profiles in subgroups of patients with myogenic temporomandibular disorders and Fibromyalgia Syndrome. **Pain**, v. 147, n. 1–3, p. 72–83, 2009.

PINTO FIAMENGUI, L. M. S. et al. Role of inflammatory and pain genes polymorphisms in temporomandibular disorder and pressure pain sensitivity. **Archives of Oral Biology**, v. 118, p. 104854, 2020.

QUARTANA, P. J. et al. Naturalistic changes in insomnia symptoms and pain in temporomandibular joint disorder: a cross-lagged panel analysis. **Pain**, v. 149, n. 2, p. 325-331, 2010.

QUARTANA, P. J. et al. Pain catastrophizing and salivary cortisol responses to laboratory pain testing in temporomandibular disorder and healthy participants. **The Journal of Pain**, V. 11, n. 21, p. 86-94, 2010.

RAJA, S. N. et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain**, v. 23, n. 10, p.1097, 2020.

RAPHAEL, K. G. et al. Validity of self-reported sleep bruxism among myofascial temporomandibular disorder patients and controls. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 42, n. 10, p. 751-8, 2015.

RAYMOND, C. K. et al. Expression of alternatively spliced sodium channel alpha-subunit genes. Unique splicing patterns are observed in dorsal root ganglia. **Jounal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 44, p. 46234–46241, 2004.

REIMANN, F. et al. Pain perception is altered by a nucleotide polymorphism in *SCN9A*. **Proceedings of the National Academy of Sciences (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)**, v. 107, n. 11, p. 5148–5153, 2010.

REITER, S. et al. Pain Catastrophizing and Pain Persistence in Temporomandibular Disorder Patients. **Journal of oral & Facial Pain and Headache**, v. 32, n. 3, p. 309–320, 2018.

ROLKE, R. et al. Quantitative sensory testing: a comprehensive protocol for clinical trials. **European Journal of Pain**, v. 10, p. 77-88, 2006.

ROLKE, R. et al. Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): standardized protocol and reference values. **Pain**, v. 123, p. 231-243, 2006.

SANDERS, A. E. et al. General health status and incidence of first-onset temporomandibular disorder: the OPPERA prospective cohort study. **The Journal of Pain**, v. 14, n. 2, p. T51-T62, 2013.

SCHIFFMAN E. et al. Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders (DC/TMD) for Clinical and Research Applications: recommendations of the International RDC/TMD Consortium Network* and Orofacial Pain Special Interest Group†. **The Journal of oral facial & Pain and Headache**, v. 28, n. 1, p. 6–27, 2014.

SEHN, F. et al. Cross-cultural adaptation and validation of the Brazilian Portuguese version of the pain catastrophizing scale. *Pain Medicine*, v. 13, p. 1425-1435, 2012.

SLADE, G. D. et al. Influence of psychological factors on risk of temporomandibular disorders. **Journal of dental research**, v. 86, p. 1120-1125, 2007.

SLADE, G. D. et al. Painful Temporomandibular Disorder: Decade of Discovery from OPPERA Studies. **Journal of Dental Research**, v. 95, p. 1084-1092, 2016.

SLADE, G. D. et al. Signs and symptoms of first-onset TMD and sociodemographic predictors of its development: the OPPERA prospective cohort study. **The Journal of Pain**, v. 14, n. 23, p. 20-32, 2013.

SLADE, G. D. et al. Study methods, recruitment, sociodemographic findings, and demographic representativeness in the OPPERA study. **The Journal of Pain**, v. 12, p. 12-26, 2011.

SLADE, G. D. et al. Summary of findings from the OPPERA prospective cohort study of incidence of first-onset temporomandibular disorder: implications and future directions. **The Journal of Pain**, v. 14, p. 116-124, 2013.

SMITH, M. T. et al. Sleep disorders and their association with laboratory pain sensitivity in temporomandibular joint disorder. **Sleep**, v. 32, n. 6, p. 779-90, 2009.

SMITH, S. B. et al. **Associations from the OPPERA Case Control Study**, v. 12, p. 1-21, 2012.

SMITH, S. B. et al. Potential genetic risk factors for chronic TMD: genetic associations from the OPPERA case control study. **The Journal of Pain**, v. 12 n. 11, p. T92-T101, 2011.

SOARES, F. F. C. et al. Effect of Genetic Polymorphisms on Pain Sensitivity in the Orofacial Region: A Systematic Review. **Journal of Oral & Facial Pain and Headache**, 2020.

SOMMER, I.; LAVIGNE, G.; ETTLIN, D. A. Review of self-reported instruments that measure sleep dysfunction in patients suffering from temporomandibular

disorders and/or orofacial pain. **Journal of Clinical Sleep Medicine**, v. 16, n. 1, p. 27-38, 2015.

SIPILA, K. et al. Association of depressiveness with chronic facial pain: a longitudinal study. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 71, n. 3-4, p. 644-, 2013.

SULLIVAN, M. B. S. R.; PIVIK, J. The Pain Catastrophizing Scale: development and validation. **Psychological Assessment**, v. 7, p. 524-532, 1995.

SUVINEN, T. I. et al. F. Review of aetiological concepts of temporomandibular pain disorders: towards a biopsychosocial model for integration of physical disorder factors with psychological and psychosocial illness impact factors. **European Journal of Pain**, v. 9, p. 613–33, 2005.

TRAN, T. M.; JORGENSEN, R.; CLARK, R. B. Phosphorylation of the beta2-adrenergic receptor in plasma membranes by intrinsic GRK5. **Biochemistry**, v. 46, n. 50, p. 14438-14449, 2007.

TORPY, D. J. et al. Responses of the sympathetic nervous system and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to interleukin-6: a pilot study in fibromyalgia. **Arthritis & Rheumatology**, v. 43, n. 4, p. 872-880, 2000.

WANG, W. C. et al. A polymorphism of G-protein coupled receptor kinase5 alters agonist-promoted desensitization of beta2-adrenergic receptors. **Pharmacogenet Genomics**, v. 18, n. 8, p. 729-732, 2008.

WILLIAMS, F. M. K. et al. Genes Contributing to Pain Sensitivity in the Normal Population: An Exome Sequencing Study. **PLOS ONE**, v. 8, p. 2-10, 2012.

WILLASSEN, L. et al. Catastrophizing Has a Better Prediction for TMD Than Other Psychometric and Experimental Pain Variables. **Pain Research & Management**, v. 12, p. 7893023, 2020.

YARNITSKY, D. et al. Recommendations on practice of conditioned pain modulation (CPM) testing. **European Journal of Pain**, v. 19, p. 805-806, 2015.

YARNITSKY, D. et al. Recommendations on terminology and practice of psychophysical DNIC testing. **European Journal of Pain**, v. 14, p. 339, 2010.

YOUNG, E. E.; LARIVIERE, W. R.; BELFER, I. Genetic basis of pain variability: recent advances. **Journal of Medical Genetics**, v. 49, p. 1-9, 2012.

ZORINA, K.; MELOTO, C.; KHOURY, S.; DIATCHENKO, L. Genetic predictors of human chronic pain conditions. **Neurosci**, v. 338, p. 36–62, 2016.

ZUBIETA, J. K. et al. COMT val158met genotype affects mu-opioid neurotransmitter responses to a pain stressor. **Science**, v. 299, p. 1240-1243, 2003

9. Anexo(s)

1. Parecer consubstanciado do CEP

USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU DA USP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Influência de polimorfismos genéticos no perfil somatossensorial mecânico e na modulação da dor

Pesquisador: FLAVIA FONSECA CARVALHO SOARES

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 82201818.3.0000.5417

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Bauru

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.284.741

Apresentação do Projeto:

Trata-se da inclusão da mensuração de mais um polimorfismo genético: rs6746030 do gene SCN9A, e a inclusão de mais uma pesquisadora ao projeto, a pós-graduada Amanda Ayia Raimundini.

Objetivo da Pesquisa:

acréscimo de um polimorfismo genético.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

não se alteraram do projeto original aprovado por este CEP.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se da inclusão da mensuração de mais um polimorfismo genético: rs6746030 do gene SCN9A, e a inclusão de mais uma pesquisadora ao projeto, a pós-graduada Amanda Ayia Raimundini.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE não precisou ser modificado.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

***Solicito a inclusão do novo polimorfismo na metodologia da Plataforma Brasil

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITÁRIA CEP: 17.012-901
UF: SP Município: BAURU
Telefone: (14)3235-8356 Fax: (14)3235-8356 E-mail: cep@fob.usp.br

Anexo

USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU DA
USP

Continuação do Parecer: 3.204.741

Considerações Finais a critério do CEP:

Esse projeto foi considerado APROVADO na reunião ordinária do CEP de 17/04/2019, com base nas normas éticas da Resolução CNS 466/12, no entanto solicita ajustes na PB, conforme descrito acima. Ao término da pesquisa o CEP-FOB/USP exige a apresentação de relatório final. Os relatórios parciais deverão estar de acordo com o cronograma e/ou parecer emitido pelo CEP. Alterações na metodologia, título, inclusão ou exclusão de autores, cronograma e quaisquer outras mudanças que sejam significativas deverão ser previamente comunicadas a este CEP sob risco de não aprovação do relatório final. Quando da apresentação deste, deverão ser incluídos todos os TCLEs e/ou termos de doação assinados e rubricados, se pertinentes.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_1316804_E1.pdf	18/03/2019 22:20:44		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJ_cep_reconsideracao_emenda.pdf	18/03/2019 22:18:18	FLAVIA FONSECA CARVALHO SOARES	Aceito
Outros	Carta_Encaminhamento_cep_emenda_SCNGA.pdf	18/03/2019 21:59:32	FLAVIA FONSECA CARVALHO	Aceito
Outros	Carta_Encaminhamento_cep_resposta_lavia.doc	22/02/2018 11:14:51	Leonardo Rigoldi Bonjardim	Aceito
Outros	Questionario_Tecnico_Pesquisador_FS.doc	18/01/2018 15:20:14	FLAVIA FONSECA CARVALHO	Aceito
Outros	Termo_de_Aquiescencia_IEP.pdf	18/01/2018 15:19:28	FLAVIA FONSECA CARVALHO	Aceito
Outros	Termo_de_Aquiescencia.pdf	18/01/2018 15:16:49	FLAVIA FONSECA CARVALHO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_de_Compromisso.pdf	18/01/2018 15:15:59	FLAVIA FONSECA CARVALHO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	18/01/2018 15:09:41	FLAVIA FONSECA CARVALHO SOARES	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	18/01/2018 15:07:54	FLAVIA FONSECA CARVALHO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA CEP: 17.012-901
UF: SP Município: BAURU
Telefone: (14)3235-8356 Fax: (14)3235-8356 E-mail: cep@fob.usp.br

USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU DA
USP

Continuação do Parecer: 3.204.741

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

BAURU, 25 de Abril de 2019

Assinado por:
Ana Lúcia Pompéia Fraga de Almeida
(Coordenador(a))

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISCOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITÁRIA CEP: 17.012-901
UF: SP Município: BAURU
Telefone: (14)3235-8356 Fax: (14)3235-8356 E-mail: cep@fob.usp.br

2. PSS

Avaliação Psicossocial Escala de Estresse Percebido (PSS, sigla em inglês)

Itens e instruções para aplicação: As questões nesta escala perguntam sobre seus sentimentos e pensamentos durante o último mês. Em cada caso, será pedido para você indicar o quão frequentemente você tem se sentido de uma determinada maneira. Embora algumas das perguntas sejam similares, há diferenças entre elas e você deve analisar cada uma como uma pergunta separada. A melhor abordagem é responder a cada pergunta razoavelmente rápido. Isto é, não tente contar o número de vezes que você se sentiu de uma maneira particular, mas indique a alternativa que lhe pareça como uma estimativa razoável. Para cada pergunta, escolha as seguintes alternativas:

- 0= nunca
1= quase nunca
2= às vezes
3= quase sempre
4= sempre

Neste último mês, com que frequência...					
1	Você tem ficado triste por causa de algo que aconteceu inesperadamente?	0	1	2	3 4
2	Você tem se sentido incapaz de controlar as coisas importantes em sua vida?	0	1	2	3 4
3	Você tem se sentido nervoso e "estressado"?	0	1	2	3 4
4	Você tem tratado com sucesso dos problemas difíceis da vida?	0	1	2	3 4
5	Você tem sentido que está lidando bem as mudanças importantes que estão ocorrendo em sua vida?	0	1	2	3 4
6	Você tem se sentido confiante na sua habilidade de resolver problemas pessoais?	0	1	2	3 4
7	Você tem sentido que as coisas estão acontecendo de acordo com a sua vontade?	0	1	2	3 4
8	Você tem achado que não conseguiria lidar com todas as coisas que você tem que fazer?	0	1	2	3 4
9	Você tem conseguido controlar as irritações em sua vida?	0	1	2	3 4
10	Você tem sentido que as coisas estão sob o seu controle?	0	1	2	3 4
11	Você tem ficado irritado porque as coisas que acontecem estão fora do seu controle?	0	1	2	3 4
12	Você tem se encontrado pensando sobre as coisas que deve fazer?	0	1	2	3 4
13	Você tem conseguido controlar a maneira como gasta seu tempo?	0	1	2	3 4
14	Você tem sentido que as dificuldades se acumulam a ponto de você acreditar que não pode superá-las?	0	1	2	3 4

3. HADS

ESCALA HOSPITALAR DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO (HADS, sigla em inglês)

Leia todas as frases. Marque com "X" a resposta que melhor corresponder a como você tem se sentido na última semana. Não é preciso ficar pensando muito em cada questão. Neste questionário as respostas espontâneas têm mais valor do que aquelas em que se pensa muito. **Marque apenas uma resposta para cada pergunta.**

A	Eu me sinto tenso ou contraído:	
	A maior parte do tempo	
	Boa parte do tempo	
	De vez em quando	
	Nunca	
D	Eu ainda sinto gosto pelas mesmas coisas de antes:	
	Sim, do mesmo jeito que antes	
	Não tanto quanto antes	
	Só um pouco	
	Já não sinto mais prazer em nada	
A	Eu sinto uma espécie de medo, como se alguma coisa ruim fosse acontecer:	
	Sim, e de um jeito muito forte	
	Não tanto quanto antes	
	Um pouco, mas isso não me preocupa	
	Não sinto nada disso	
D	Dou risada e me divirto quando vejo coisas engraçadas:	
	Do mesmo jeito que antes	
	Atualmente um pouco menos	
	Atualmente bem menos	
	Não consigo mais	
A	Estou com a cabeça cheia de preocupações:	
	A maior parte do tempo	
	Boa parte do tempo	
	De vez em quando	
	Raramente	
D	Eu me sinto alegre:	
	Nunca	
	Poucas vezes	
	Muitas vezes	
	A maior parte do tempo	
A	Consigo ficar sentado à vontade e me sentir relaxado:	
	Sim, quase sempre	
	Muitas vezes	
	Poucas vezes	
	Nunca	

D	Eu estou lento para pensar e fazer coisas:	
	Quase sempre	
	Muitas vezes	
	Poucas vezes	
	Nunca	
A	Eu tenho uma sensação ruim de medo, como um frio na barriga ou um aperto no estômago:	
	Nunca	
	De vez em quando	
	Muitas vezes	
	Quase sempre	
D	Eu perdi o interesse em cuidar da minha aparência:	
	Completamente	
	Não estou mais me cuidando como eu deveria	
	Talvez não tanto quanto antes	
	Me cuido do mesmo jeito que antes	
A	Eu me sinto inquieto, como se eu não pudesse ficar parado em lugar nenhum:	
	Sim, demais	
	Bastante	
	Um pouco	
	Não me sinto assim	
D	Fico esperando animado as coisas boas que estão por vir:	
	Do mesmo jeito que antes	
	Um pouco menos do que antes	
	Bem menos que antes	
	Quase nunca	
A	De repente, tenho a sensação de entrar em pânico:	
	A quase todo momento	
	Várias vezes	
	De vez em quando	
	Não sinto isso	
D	Consigo sentir prazer quando assisto um bom programa de televisão, de rádio, ou quando leio alguma coisa:	
	Quase sempre	
	Várias vezes	
	Poucas vezes	
	Quase nunca	
	Total 'A' =	
	Total 'D' =	

4. PSQI

Questionário do Sono de Pittsburgh (PSQI, sigla em inglês)

Instruções: As seguintes perguntas são relativas aos seus hábitos de sono durante o último mês somente. Suas respostas devem indicar a lembrança mais exata da maioria dos dias e noites do último mês. Por favor, responda a todas as perguntas.

1. Durante o último mês, quando você geralmente foi para a cama à noite? Hora usual de deitar _____

2. Durante o último mês, quanto tempo (em minutos) você geralmente levou para dormir à noite? Número de minutos _____

3. Durante o último mês, quando você geralmente levantou de manhã? Hora usual de levantar _____

4. Durante o último mês, quantas horas de sono você teve por noite? (Este pode ser diferente do número de horas que você ficou na cama).
Horas de sono por noite _____

Para cada uma das questões restantes, marque a melhor (uma) resposta. Por favor, responda a todas as questões.

5. Durante o último mês, com que frequência você teve dificuldade de dormir porque você...

a) Não conseguiu adormecer em até 30 minutos

() Nenhuma no último mês () Menos de 1 vez/ semana
() 1 ou 2 vezes/ semana () 3 ou mais vezes/ semana

b) Acordou no meio da noite ou de manhã cedo

() Nenhuma no último mês () Menos de 1 vez/ semana
() 1 ou 2 vezes/ semana () 3 ou mais vezes/ semana

c) Precisou levantar para ir ao banheiro

() Nenhuma no último mês () Menos de 1 vez/ semana
() 1 ou 2 vezes/ semana () 3 ou mais vezes/ semana

d) Não conseguiu respirar confortavelmente

() Nenhuma no último mês () Menos de 1 vez/ semana
() 1 ou 2 vezes/ semana () 3 ou mais vezes/ semana

e) Tossiu ou roncou forte

() Nenhuma no último mês () Menos de 1 vez/ semana
() 1 ou 2 vezes/ semana () 3 ou mais vezes/ semana

f) Sentiu muito frio

() Nenhuma no último mês () Menos de 1 vez/ semana
() 1 ou 2 vezes/ semana () 3 ou mais vezes/ semana

g) Sentiu muito calor

() Nenhuma no último mês () Menos de 1 vez/ semana
() 1 ou 2 vezes/ semana () 3 ou mais vezes/ semana

h) Teve sonhos ruins

() Nenhuma no último mês () Menos de 1 vez/ semana
() 1 ou 2 vezes/ semana () 3 ou mais vezes/ semana

i) Teve dor

() Nenhuma no último mês () Menos de 1 vez/ semana
() 1 ou 2 vezes/ semana () 3 ou mais vezes/ semana

j) Outra(s) razão(ões), por favor descreva:

Com que frequência, durante o último mês, você teve dificuldade para dormir devido a essa razão?

☐)Nenhuma no último mês	☐)Menos de 1 vez/ semana
☐)1 ou 2 vezes/ semana	☐)3 ou mais vezes/ semana

6.Durante o último mês, como você classificaria a qualidade do seu sono de uma maneira geral?

☐)Muito boa	☐)Boa	☐)Ruim	☐)Muito ruim

7.Durante o último mês, com que frequência você tomou medicamento (prescrito ou “por conta própria”) para lhe ajudar a dormir?

☐)Nenhuma no último mês	☐)Menos de 1 vez/ semana
☐)1 ou 2 vezes/semana	☐)3 ou mais vezes/ semana

8.No último mês, com que frequência você teve dificuldade de ficar acordado enquanto dirigia, comia ou participava de uma atividade social (festa, reunião de amigos, trabalho, estudo)?

☐)Nenhuma no último mês	☐)Menos de 1 vez/ semana
☐)1 ou 2 vezes/ semana	☐)3 ou mais vezes/ semana

9.Durante o último mês, quão problemático foi para você manter o entusiasmo (ânimo) para fazer as coisas (suas atividades habituais)?

☐)Nenhuma dificuldade	☐)Um problema leve
☐)Um problema razoável	☐)Um grande problema

10. Você tem um(a) parceiro [esposo(a)] ou colega de quarto?

☐)Não	☐)Parceiro ou colega, mas em outro quarto
☐)Parceiro no mesmo quarto, mas não na mesma cama	☐)Parceira na mesma cama

Se você tem um parceiro ou colega de quarto, pergunte a ele/ela com que frequência, no último mês, você teve...

(a) Ronco forte

☐)Nenhuma no último mês	☐) Menos de 1 vez/ semana
☐)1 ou 2 vezes/ semana	☐)3 ou mais vezes/ semana

(b) Longas paradas na respiração enquanto dormia

☐)Nenhuma no último mês	☐)Menos de 1 vez/ semana
☐)1 ou 2 vezes/ semana	☐)3 ou mais vezes/ semana

(c) Contrações ou puxões nas pernas enquanto você dormia

☐)Nenhuma no último mês	☐)Menos de 1 vez/ semana
☐)1 ou 2 vezes/ semana	☐)3 ou mais vezes/ semana

(d) Episódios de desorientação ou confusão durante o sono

☐)Nenhuma no último mês	☐)Menos de 1 vez/ semana
☐)1 ou 2 vezes/ semana	☐)3 ou mais vezes/ semana

(e) Outras alterações (inquietações) enquanto você dorme; por favor, descreva

☐)Nenhuma no último mês	☐)Menos de 1 vez/ semana
☐)1 ou 2 vezes/ semana	☐)3 ou mais vezes/ semana

5. PCS

Escala de Catastrofização da Dor (PCS, na sigla em inglês)

Instruções: Listamos 13 declarações que descrevem diferentes pensamentos e sentimentos que podem lhe aparecer na cabeça quando sente dor. Indique o *GRAU* destes *pensamentos e sentimentos quando está com dor*

1	A preocupação durante todo o tempo com a duração da dor é	0 Mínima	1 leve	2 Moderada	3 Intensa	4 Muito intensa
2	O sentimento de não poder prosseguir (continuar) é	0 Mínimo	1 leve	2 Moderado	3 Intenso	4 Muito intenso
3	O sentimento que a dor é terrível e que não vai melhorar é	0 Mínimo	1 leve	2 Moderado	3 Intenso	4 Muito intenso
4	O sentimento que a dor é horrível e que você não vai resistir é	0 Mínimo	1 leve	2 Moderado	3 Intenso	4 Muito intenso
5	O pensamento de não poder mais estar com alguém é	0 Mínimo	1 leve	2 Moderado	3 Intenso	4 Muito intenso
6	O medo que a dor pode se tornar ainda pior é	0 Mínimo	1 leve	2 Moderado	3 Intenso	4 Muito intenso
7	O pensamento sobre outros episódios de dor é	0 Mínimo	1 leve	2 Moderado	3 Intenso	4 Muito intenso
8	O desejo profundo que a dor desapareça é	0 Mínimo	1 leve	2 Moderado	3 Intenso	4 Muito intenso
9	O sentimento de não conseguir tirar a dor do pensamento é	0 Mínimo	1 leve	2 Moderado	3 Intenso	4 Muito intenso
10	O pensamento que ainda poderá doer mais é	0 Mínimo	1 leve	2 Moderado	3 Intenso	4 Muito intenso
11	O pensamento que a dor é grave porque ela não quer parar é	0 Mínimo	1 leve	2 Moderado	3 Intenso	4 Muito intenso
12	O pensamento de que não há nada para fazer para diminuir a intensidade da dor é	0 Mínimo	1 leve	2 Moderado	3 Intenso	4 Muito intenso
13	A preocupação que alguma coisa ruim pode acontecer por causa da dor é	0 Mínima	1 leve	2 Moderado	3 Intenso	4 Muito intenso

6. CSI

1 of 2

Questionário de Sensibilização Central
Brazilian Portuguese Central Sensitization Inventory – BP–CSI

Os sintomas avaliados por este questionário se referem a sua presença diária ou na maioria dos dias dos últimos três meses.

Circule na coluna da direita a melhor resposta para cada questão.

PARTE A

1. Sinto-me cansado (a) ao acordar pela manhã.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
2. Sinto que minha musculatura está enrijecida e dolorida.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
3. Tenho crises de ansiedade.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
4. Costumo apertar (ranger) os dentes.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
5. Tenho diarreia e/ou prisão de ventre.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
6. Preciso de ajuda para fazer as tarefas diárias.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
7. Sou sensível à luminosidade excessiva.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
8. Canso-me facilmente ao realizar atividades diárias que exigem algum esforço físico.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
9. Sinto dor em todo o corpo.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
10. Tenho dores de cabeça.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
11. Sinto desconforto e/ou ardência ao urinar.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
12. Durmo mal.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
13. Tenho dificuldade para me concentrar.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
14. Tenho problemas de pele como ressecamento, coceira e vermelhidão.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
15. O estresse piora meus sintomas.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>

Anexo

16. Me sinto triste ou deprimido(a).	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
17. Tenho pouca energia.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
18. Tenho tensão muscular no pescoço e nos ombros.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
19. Tenho dor no queixo.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
20. Fico enjoado (a) e tonto (a) com cheiros como o de perfumes.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
21. Preciso urinar frequentemente.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
22. Quando vou dormir à noite sinto minhas pernas inquietas e desconfortáveis.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
23. Tenho dificuldade para me lembrar das coisas.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
24. Sofri trauma emocional na infância.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
25. Tenho dor na região pélvica.	0 <i>Nunca</i>	1 <i>Raramente</i>	2 <i>Às vezes</i>	3 <i>Frequentemente</i>	4 <i>Sempre</i>
TOTAL:					

Você recebeu de algum médico algum (s) diagnóstico (s) dos citadas abaixo?

Preencha as colunas da direita para cada diagnóstico.

PARTE B	<i>Não</i>	<i>Sim</i>	<i>Ano do Diagnóstico</i>
1. Síndrome das pernas inquietas.			
2. Síndrome da fadiga crônica.			
3. Fibromialgia.			
4. Disfunção da articulação temporomandibular (ATM).			
5. Enxaqueca ou cefaleia tensional.			
6. Síndrome do intestino (cólon) irritável.			
7. Hipersensibilidade química (ex. poeira, cosméticos, poluição).			
8. Lesão cervical (incluindo lesão de chicote).			
9. Ansiedade ou ataques de pânico.			
10. Depressão.			