FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FLÁVIA FONSECA CARVALHO SOARES

Influência de polimorfismos genéticos no perfil somatossensorial mecânico e na modulaçao da dor

BAURU
2021

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FLÁVIA FONSECA CARVALHO SOARES

Influência de polimorfismos genéticos no perfil somatossensorial mecânico e na modulaçao da dor

Tese apresentada a Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Biologia Oral, Estomatologia, Radiologia e Imaginologia.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Rigoldi Bonjardim

BAURU
2021

Soares, Flávia Fonseca Carvalho

Influência de polimorfismos genéticos no perfil somatossensorial mecânico e na modulaçao da dor / Flávia Fonseca Carvalho Soares. – Bauru, 2021.
77 p.: il.; 31cm.

Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Rigoldi Bonjardim

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

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP

Protocolo nº: 2.566.795

Data: 27/03/2018

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus por guiar minha vida até mesmo quando não sabia que precisava.

Aos meus pais, Valéria e Romeu Cláudio, meu noivo Lucas, aos meus irmãos, Vítor, Gabriel e Aryane que sempre apoiaram minhas decisões e me deram forças quando pensei que já não as tinha.

Aos amigos que fiz ao longo de meu caminho na FOB-USP, Gabi, Thamirys, Gian, Rodrigo, Thaizinha, Carol, Carol Maia, Thaís, e tantos outros que contribuíram gentilmente ao meu convívio, por compartilhar confissões, angústias e medos, mas também alegrias e vitórias que conquistamos, minha gratidão!

Ao meu orientador, Leonardo Rigoldi Bonjardim, pela confiança, amizade, zelo, oportunidade, ensinamentos, disponibilidade, aprendizado constante, dedicação, incentivo e exemplo. Tê-lo como orientador foi fundamental para meu crescimento pessoal e profissional, assim como por tornar o doutorado uma experiência tão proveitosa e leve.

À grande contribuição ao meu trabalho sem a qual não seria possível finalizá-lo, agradeço Yuri Martins Costa, Dyna Mara Costa e Thiago José Dionísio.

Aos colegas do Departamento de Fisiologia, Genética e Farmacologia da FOB-USP, agradeço por terem me recebido tão bem, e pela ajuda no desenvolvimento do estudo.

Aos meus amigos que, mesmo à distância, sempre me motivaram e contribuíram de forma ímpar na minha formação.

Aos pacientes que gentilmente colaboraram para a realização deste estudo.

Ao apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

RESUMO

A sensibilidade à dor é uma experiência complexa que replica o envolvimento de vários fatores biológicos, psicológicos e ambientais. Evidências anteriores mostraram uma associação significativa entre polimorfismos genéticos específicos e fenótipos intermediários relacionados à sensibilidade somática e modulação da dor em pacientes com dor musculoesquelética crônica, como disfunção temporomandibular. Este estudo teve como objetivo avaliar a influência dos polimorfismos genéticos (rs6296, rs6295, rs1799971, rs4680, rs4633 e rs4818) e de fatores psicossociais na sensibilidade mecânica à dor e na modulação endógena da dor em mulheres com DTM dolorosa e controles assintomáticos. Avaliamos características psicossociais, como nível de ansiedade, depressão, qualidade do sono, grau de catastrofização relacionado à dor, nível de estresse e sensibilização central por meio de questionários. Três parâmetros do teste sensorial quantitativo (MPT, PPT e WUR) foram medidos no músculo masseter e na mão, além do teste de modulação condicionada da dor e genotipagem para polimorfismos genéticos em uma amostra de 95 pacientes com DTM dolorosa e 85 controles. Os resultados demonstraram que os polimorfismos genéticos não contribuíram para os testes de sensibilidade à dor mecânica e a pequena contribuição para a modulação endógena da dor. Além disso, uma contribuição significativa da presença de DTM dolorosa e da qualidade do sono poderia explicar 39% da variação do masseter MPT. Em conclusão, polimorfismos genéticos (rs6296, rs6295, rs1799971, rs4680, rs4633, rs4818 e rs6746030) tiveram uma leve contribuição para a modulação da dor endógena, acessada pelo WUR, mas não contribuíram para a sensibilidade mecânica que teve uma contribuição significativa pela presença de DTM dolorosa e a qualidade do sono.

Palavras-chave: Polimorfismo genético, Disfunção Temporomandibular, Sensibilidade à Dor, Teste Sensorial Quantitativo, Modulação Endógena da Dor.

ABSTRACT

Pain sensitivity is a complex experience replicating the involvement of numerous biologic, psychological, and environmental risk. Previous evidence has shown a significant association between specific genetic polymorphisms and intermediate phenotypes related to somatic sensitivity and pain modulation in patients with chronic musculoskeletal pain, such as temporomandibular disorders (TMD). This study aimed to evaluate the influence of genetic polymorphisms (rs6296, rs6295, rs1799971, rs4680, rs4633 and rs4818) and psychosocial factors on the mechanical pain sensitivity and endogenous pain modulation in women with painful TMD and asymptomatic controls. We evaluate clinical and psychosocial characteristics, such as level of anxiety, depression, sleep quality, degree of catastrophization related to pain, level of stress and central sensitization by questionnaires. Three parameters (MPT, PPT and WUR) of the quantitative sensory testing were measure on masseter muscle and hand, in addition to conditioned pain modulation test and genotyping for genetic polymorphisms in a sample of 95 painful TMD patients and 85 controls. Results demonstrated that genetic polymorphisms did not contribute to the tests of sensitivity to mechanical pain and the slight contribution to endogenous pain modulation. In addition, a significant contribution of painful TMD presence and sleep quality could explain 39% of MPT masseter variation. In conclusion, genetic polymorphisms (rs6296, rs6295, rs1799971, rs4680, rs4633, rs4818 and rs6746030) had a slight contribution to endogenous pain modulation, accessed by the WUR, but did not contribute to the mechanical sensitivity that had a significant contribution by the presence of painful TMD and sleep quality.

Keywords: Genetic polymorphism, Temporomandibular Disorder, Pain Sensitivity, Quantitative Sensory Testing, Endogenous Pain Modulation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Regressão linear múltipla para cada parâmetro somatossensorial do músculo masseter..... 36

Tabela 02 – Regressão linear múltipla para cada parâmetro somatossensorial da mão..... 37

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

DNA - deoxyribonucleic acid

DTM - disfunção temporomandibular

ATM - articulação temporomandibular

OPPERA - Orofacial Pain Prospective Evaluation Risk and Assessment

SNPs - single nucleotide polymorphisms /polimorfismos de um único nucleotídeo

COMT - catecol-O-metil transferase

QST - quantitative sensory tests / testes quantitativos sensoriais

i.e. - id est

HPS - High Pain Sensitivity

APS - Average Pain Sensitivity

LPS - Low Pain Sensitivity

DC/TMD - Critérios Diagnósticos para Disfunção Temporomandibular

HADS - escala hospitalar de ansiedade e depressão

PSQI - questionário do sono de Pittsburgh

PCS - escala de catastrofização da dor

PSS - escala de estresse percebido

ml – Mililitro

nm – Nanometro

PCR - Polymerase Chain Reaction

MPT – limar de dor mecânica

WUR - razão da somação temporal

PPT - limiar de dor à pressão

g/mm² - gramas/milímetro cúbico

cm² - centímetros quadrados

NRS – Escala de gradação numérica

Kg/cm²/seg Quilogramas por centímetro quadrado por segundo

CPM – Modulação Condicionada da Dor

ETi – Estímulo teste inicial

EC – Estímulo condicionante

ETf – Estímulo teste final

SCN – Sistema nervoso central

EP – Erro padrão

IC – Intervalo de confiança

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 11

2 REVISÃO DE LITERATURA 15

3 OBJETIVOS 25

4 MATERIAL E MÉTODOS..... 27

4.1 PROCEDIMENTOS ÉTICOS E LEGAIS..... 27

4.2 AMOSTRA..... 27

4.3 CARACTERIZAÇÃO PSICOSSOCIAL E CLÍNICA..... 28

4.4 AVALIÇÃO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS..... 30

4.5 ESTUDO MOLECULAR..... 30

4.5.1 Extração de DNA a partir da saliva..... 30

4.5.2 Quantificação e qualificação do DNA extraído da saliva..... 30

4.5.3 Seleção de genes candidatos e de Polimorfismos..... 30

4.5.4 Genotipagem..... 31

4.5.4 Cálculo de equilíbrio de Hardy-Weinberg 31

4.6 TESTES QUANTITATIVOS SENSORIAIS..... 31

4.7 MODULAÇÃO CONDICIONADA DA DOR..... 33

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA..... 33

5 RESULTADOS..... 35

6 DISCUSSÃO 41

7 CONCLUSÃO 45

REFERÊNCIAS 47

APÊNDICES 61

ANEXOS 67

1 INTRODUÇÃO

A disfunção temporomandibular (DTM) representa um conjunto de condições que envolvem, principalmente, os músculos mastigatórios e a articulação temporomandibular (ATM) (LEEUW, 2008). Estimativas epidemiológicas robustas indicam que o diagnóstico de DTM dolorosa acomete entre 7-8% da população, com uma incidência anual em torno de 4% (JUSSILA et al., 2017; SLADE et al., 2016). Etiologias singulares, historicamente associadas com predisposição ou desencadeamento da DTM, não possuem solidez científica, sendo que diversos fatores, e.g., distúrbios do sono, hábitos orais, sintomas de ansiedade e de depressão, características sensoriais, indicadores de saúde geral e perfil genético cooperam no que se convencionou denominar de modelo biopsicossocial de etiologia da DTM (SLADE et al., 2013a; SUVINEN et al., 2005). Entretanto, apesar dos importantes avanços na catalogação desses diversos fatores, os mecanismos de inter-relação dessa complexa equação multifatorial ainda carecem de maiores investigações (SVENSSON; KUMAR, 2016).

Estudos recentes têm indicado a influência tanto de polimorfismos genéticos quanto de fatores ambientais na DTM (MELIS et al., 2016; MELOTO et al., 2011; OAKLEY; VIEIRA, 2008; SLADE et al., 2007; SMITH et al., 2011). Até o presente momento, o estudo mais abrangente que investigou fatores de risco genéticos para as DTMs foi o “Orofacial Pain Prospective Evaluation Risk and Assessment” (OPPERA, na sigla em inglês) (SLADE et al., 2011). Esse estudo de coorte prospectivo de sete anos analisou mais de 2700 indivíduos com o objetivo de identificar polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs, na sigla em inglês) de genes comuns associados à percepção da dor, processos afetivos e inflamação, que são fatores de risco para a DTM (SLADE et al., 2011, 2013a, 2013b, 2016). Dentre os milhares de genes pesquisados, o OPPERA mostrou uma influência genética significativa em vias biológicas essenciais nos processamento de estímulos nocivos e percepção da dor (SLADE et al., 2016). A mensuração dessas vias biológicas que se interpõem entre a codificação molecular determinada geneticamente e a doença em questão pode ser indiretamente mensurada, o que determina os fenótipos intermediários. Dessa forma, um melhor entendimento da relação entre fatores genéticos e a DTM deve incluir uma avaliação precisa desses fenótipos intermediários, pois pode-se medir a influência mediadora dos genes. Por exemplo,

um dos achados do OPPERA foi mostrar que o aumento do estresse como fator de risco para o início da DTM (fenótipo intermediário) foi relevante apenas em pessoas com um haplótipo que codifica a enzima catecol-O-metil transferase (COMT) com baixa atividade metabólica (SLADE et al., 2015).

Evidências prévias têm mostrado uma associação significativa entre polimorfismos genéticos específicos e os fenótipos intermediários relacionados à sensibilidade somática e modulação da dor em pacientes com dores crônicas musculoesqueléticas (BARBOSA et al., 2012; DIATCHENKO et al., 2013; LINDSTEDT et al., 2011). Em particular, uma interação entre polimorfismos nos genes do receptor opióide (OPRM1), transportador de serotonina (SLC6A4) e receptor de serotonina 1A (HTR1A) mostrou-se relevante na regulação da resposta de sistemas inibitórios centrais em pacientes com fibromialgia e participantes saudáveis (TOUR et al., 2017). Ainda, polimorfismos relacionados ao gene da COMT foram associados a uma maior sensibilidade dolorosa a estímulos mecânicos e/ou térmicos em pacientes com fibromialgia e DTM (MARTÍNEZ-JAUAND et al., 2013; MELOTO et al., 2016). Esses achados indicam que genes relacionados a esses mecanismos de modulação endógena do impulso nociceptivo influenciam de forma relevante a avaliação dessas características somatossensoriais. Ainda, não apenas os genes isolados, mas a interação entre seus polimorfismos é o que parece ser o fator mais relevante nessa possível relação. Por fim, é importante destacar que fenótipos relacionados às características psicossociais, e.g., estresse, sono, ansiedade, depressão e catastrofização também devem ser considerados, visto que os mesmos são associados a fatores genéticos e são preditores relevantes para o início da DTM, bem como de sua cronificação (SLADE et al., 2016).

Todo esse arcabouço de variáveis genéticas, sensoriais e psicossociais está sujeito a erros aleatórios e sistemáticos que podem comprometer os resultados e enviesar as conclusões. Assim, é importante que se usem ferramentas válidas e confiáveis para realizar essas mensurações. Em particular, as variáveis sensoriais demandam uma maior atenção por conta de diversos fatores de confundimento e dos desafios técnicos para sua mensuração. Nesse sentido, os testes quantitativos sensoriais (QST, na sigla em inglês) permitem avaliar de forma confiável e válida essas características somatossensoriais e, associados com estímulos condicionantes, podem também ser usadas para avaliar a capacidade do sistema inibitório descendente da dor (BACKONJA et al., 2013; KENNEDY et al., 2016). Estes foram

primeiramente usados para identificar e mensurar mais precisamente sinais e sintomas de dores neuropáticas, detectando e quantificando perda ou ganho sensorial de maneira padronizada (KOTHARI et al., 2015; MAIER et al., 2010; ROLKE et al., 2006a, 2006b). O estabelecimento dessa possibilidade de quantificação confiável e válida de anormalidades somatossensoriais, fez com que o uso dos QST fosse expandido para avaliação de condições dolorosas não-neuropáticas (26-29) (KOTHARI et al., 2015; PFAU et al., 2009; UDDIN; MACDERMID, 2016; YANG et al., 2016). O QST testa de forma padronizada e sistemática diferentes submodalidades somatossensoriais relacionadas às fibras nervosas de diferentes calibres (A-beta, A-delta e C) envolvidas na comunicação da informação sensorial (ROLKE et al., 2006b).

As evidências anteriormente descritas endossam uma influência relevante de determinados SNPs na sensibilidade dolorosa. Entretanto, não há estudos publicados que avaliem a relação entre interações de polimorfismos genéticos, fatores psicossociais e o perfil somatossensorial mecânico e modulação de dor de forma sistemática, i.e., utilizando o protocolo de QST, em pacientes com DTM dolorosa. Dessa forma, este estudo poderá contribuir para elucidar melhor os mecanismos do processamento neural da dor e, eventualmente, contribuir para um tratamento mais efetivo e um prognóstico mais preciso dessas condições dolorosas musculoesqueléticas.

Portanto, o presente estudo avaliou se a presença de polimorfismos nos genes que codificam receptores opióides, a enzima COMT e vias de sinalização serotoninérgica e suas possíveis interações, influenciam na sensibilidade somática mecânica dolorosa, na somação temporal e na magnitude da modulação da dor em uma população de mulheres com DTM dolorosa e em um grupo controle de assintomáticas, controlando o efeito confundidor de fatores psicossociais. Nossa hipótese a priori é de que será possível detectar um impacto genético significativo, porém de magnitude diferente, no fenótipo somatossensorial mecânico, de somação temporal e de modulação da dor em pacientes com DTM e participantes saudáveis, e que haverá uma interação com características psicossociais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A disfunção temporomandibular (DTM) compõe um conjunto heterogêneo de condições que envolvem tanto a musculatura mastigatória, quanto a articulação temporomandibular (ATM), e/ou estruturas associadas (OHRBACH; DWORKIN, 2016). Os subtipos de DTM incluem distúrbios dolorosos como mialgia, dor miofascial, dor miofascial com referência e artralgia. Além das disfunções da ATM, como desarranjos do disco articular, doenças degenerativas e subluxações (OHRBACH; DWORKIN, 2016). A prevalência de diagnóstico de DTM dolorosa varia entre 7-8% da população, com uma incidência em torno de 4% ao ano (JUSSILA et al., 2017; SLADE et al., 2016). Desses, episódios agudos e crônicos de DTM são 1,5 a 2 vezes mais prevalentes em mulheres do que homens, na adolescência e durante os anos reprodutivos (BUENO et al., 2018; HALPERN; LEVINE; DODSON, 2007).

Essas condições musculoesqueléticas resultam em grande impacto na qualidade de vida e em atividades diárias de seus portadores, principalmente as condições dolorosas, causando muitas vezes incapacidade, diminuição da função estomatognática e déficits psicossociais (ALMOZNINO et al., 2015; CIOFFI et al., 2014; FILLINGIM et al., 2013, 2018; HARPER; SCHREPF; CLAUW, 2016; SCHIFFMAN et al., 2014), além de acarretar menor produtividade e, muitas vezes, ausências no trabalho (GROENEWALD; PALERMO, 2015; MAYER et al., 2019). O controle da dor crônica pode provocar altos custos tanto para o paciente quanto para o sistema de saúde pública, uma vez que o tratamento para esse tipo de condição ainda é limitado em sua eficácia, em parte pela complexidade da etiologia multifatorial dessa doença (FISCHER; STRASSER; SCHEIBE, 2011).

Historicamente, hipóteses de etiologias singulares para a predisposição e/ou desenvolvimento da DTM não foram suficientes para sustentar-se (SLADE et al., 2013a; SUVINEN et al., 2005). Assim como no modelo biopsicossocial de doença, o conceito de rede de causalidade rejeita a visão de uma única causa necessária e suficiente de uma doença ou distúrbio complexo, como a DTM (FILLINGIM et al., 2011). Em contrapartida, essa rede de causalidade ou a multifatorialidade da DTM englobam hábitos orais, distúrbios do sono, sintomas de ansiedade, depressão e catastrofização, características sensoriais, indicadores de saúde geral e perfil genético (SLADE et al., 2013a; SUVINEN et al., 2005).

Os fatores psicossociais têm apresentado um papel bidirecional na dor que ocorre em quadros de DTM, como a depressão, ansiedade e catastrofização (GUI;

RIZZATTI-BARBOSA, 2015; MCCREARY et al., 1991). A ansiedade e depressão são condições comórbidas mais prevalentes em pacientes com DTM do que em sujeitos saudáveis, além de terem se mostrado desempenhar um papel significativo tanto no desenvolvimento, quanto na perpetuação das disfunções temporomandibulares (DTMs) (FILLINGIM et al., 2013; SIMOEN et al., 2020; SIPILA et al., 2006; SLADE et al., 2007), ainda podendo funcionar como fator preditor de difícil resposta a tratamentos convencionais para DTM (LITT; PORTO, 2013; VELLY et al., 2011) e também como maior risco para cronificação (OHRBACH; DWORKIN, 1998; WRIGHT et al., 2004). Estudos em pacientes com DTM crônica indicaram que os não respondedores ao tratamento representaram 16% da amostra, e relataram mais sintomas psiquiátricos, pior enfrentamento e níveis mais altos de catastrofização do que os pacientes que responderam bem ao tratamento (FILLINGIM et al., 2011; LITT; PORTO, 2013).

A catastrofização da dor pode ser definida como um conjunto mental negativo exagerado causado durante uma experiência dolorosa real ou prevista (SULLIVAN et al., 2001). Os pacientes que catastrofizam tendem a focar e exagerar a ameaça da dor, e por muitas vezes, experimentam desamparo no controle de sua dor (QUARTANA; CAMPBELL; EDWARDS, 2009). Em pacientes com DTM, altos níveis de catastrofização foram mais prevalentes naqueles com diagnóstico de dor miofascial com referência, mas não em pacientes com distúrbios intra-articulares da ATM (REITER et al., 2018). Enquanto a depressão aumentou as chances de alta incapacidade para a dor em 1,2 vezes, a catastrofização da dor aumentou as chances de alta persistência da dor em mais de 6 vezes (REITER et al., 2018; VON KORFF, 2011). Dessa forma, o perfil psicossocial dos pacientes com DTM dolorosa deve ser levado em consideração no diagnóstico e no tratamento, uma vez que pode ter um impacto substancial na persistência da dor e na resposta ao tratamento da DTM (SIMOEN et al., 2020).

Outro fator etiológico importante a ser levado em consideração é a qualidade do sono e/ou a presença de distúrbios associados, uma vez que o sono é essencial para o funcionamento saudável geral (NACIONAL INSTITUTE OF HEALTH, 2005; RENER-SITAR et al., 2016). Pacientes com dor crônica frequentemente relatam má qualidade do sono, podendo significar comprometimento na manutenção do sono, bem como sono interrompido com excitações frequentes ou uma combinação desses problemas (NACIONAL INSTITUTE OF HEALTH, 2005). Estudos recentes relatam

problemas de sono em 50-89% dos pacientes com algum tipo de dor crônica, inclusive a DTM (COLE; DUBOIS; KOSINSKI, 2007; RENER-SITAR et al., 2008; SESSLE et al., 2017). Embora seja provável que a relação entre dor crônica e sono seja recíproca, há evidências que sugerem que a qualidade do sono prediz melhor a dor, do que a dor prediz sobre o sono (BONVANIE et al., 2016; MATHIAS; CANT; BURKE, 2018). Estudos de caráter experimental observaram que a interrupção do sono resulta em maior percepção da dor e que o sono ruim está correlacionado com a severidade elevada da dor em pacientes com dor crônica (HAACK; MULLINGTON, 2005; KUNDERMANN et al., 2004; SMITH; HAYTHORNTHWAITE, 2004), e até mesmo na população em geral, diferenças individuais no sono também podem afetar a dor subsequente (EDWARDS et al., 2008; GUPTA et al., 2006). Portanto, o sono ruim pode desempenhar um papel vital no desenvolvimento e/ou exacerbação da dor ao longo do tempo, destacando a importância de uma avaliação precisa e o tratamento oportuno dos problemas do sono para os resultados melhores do tratamento de pessoas com dor crônica (BJURSTROM; IRWIN, 2016; FINAN; GOODIN; SMITH, 2013; HEFFNER et al., 2011; MATHIAS; CANT; BURKE, 2018; OHAYON, 1997).

No entanto, apesar dos importantes avanços na identificação de todos esses diversos fatores etiológicos, os mecanismos de inter-relação dessa complexa equação multifatorial ainda necessitam de maiores investigações (SVENSSON; KUMAR, 2016). Trabalhos recentes têm indicado a influência tanto de polimorfismos genéticos quanto de fatores ambientais na DTM (MELIS et al., 2016; MELOTO et al., 2011; OAKLEY; VIEIRA, 2008; SLADE et al., 2007; SMITH et al., 2011). O estudo do “Orofacial Pain Prospective Evaluation Risk and Assessment” (OPPERA, na sigla em inglês) é um dos mais abrangentes que investigou fatores de risco como características genéticas, fisiológicas, psicossociais e clínicas que influenciam o desenvolvimento de DTMs dolorosas (SLADE et al., 2011). Esse estudo de coorte prospectivo de sete anos analisou mais de 2700 indivíduos com o objetivo de identificar polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs, na sigla em inglês) de genes comuns associados à percepção da dor, processos afetivos e inflamação, que são fatores de risco para a DTM (SLADE et al., 2011, 2013a, 2013b, 2016). Dentre os milhares de genes pesquisados, o OPPERA mostrou uma influência genética significativa em vias biológicas essenciais nos processamento de estímulos nocivos e percepção da dor (SLADE et al., 2016).

Evidências prévias têm mostrado uma associação significativa entre polimorfismos genéticos específicos e os fenótipos intermediários relacionados à sensibilidade somática e modulação da dor em pacientes com dores crônicas musculoesqueléticas (BARBOSA et al., 2012; DIATCHENKO et al., 2013; LINDSTEDT et al., 2011). Em particular, uma interação entre polimorfismos nos genes que codificam do receptor μ-opioide (*OPRM1*) e do receptor de serotonina 1A (*HTR1A*), respectivamente, mostrou-se relevante na regulação da resposta de sistemas inibitórios centrais em pacientes com fibromialgia e participantes saudáveis (TOUR et al., 2017). O polimorfismo rs1799971 do gene *OPRM1,* que está localizado no *locus* 6q24-q25 do cromossomo humano, foi associado à sensibilidade de dor em humanos por diversos estudos (BUSKILA, 2007; FILLINGIM et al., 2005; HASTIE et al., 2012; UHL; SORA; WANG, 1999). Esse polimorfismo causa a substituição da adenina localizada na posição 118 por uma guanina, sendo relativamente comum a frequência do alelo mutado (isto é, genótipos AG ou GG), ocorrendo em aproximadamente 20% a 30% da população (BELFER et al., 2004; BOND et al., 1998; GRÖSCH et al., 2001; SZETO et al., 2001). Esta substituição de nucleotídeos resulta em uma alteração de aminoácido na posição 40 (no exon 1) da proteína receptora de asparagina para o aspartato carregado, alterando a sequência de aminoácidos da proteína e, consequentemente sua funcionalidade (BOND et al., 1998; SIA et al., 2008). Dentre essas, uma das consequências funcionais relatadas desse SNP, é que receptor opioide variante A118G mostra maior afinidade de ligação à beta-endorfina, no qual representa um mecanismo potencial pelo qual esse SNP pode alterar a sensibilidade à dor, especificamente, aumentando o limiar de dor a estímulos mecânicos (BOND et al., 1998; FILLINGIM et al., 2011; HASTIE et al., 2012; SIA et al., 2008).

Além da via opioidérgica, o sistema serotoninérgico também está altamente envolvido na regulação de mecanismos afetivos, homeostáticos e relacionados à dor (LINDSTEDT et al., 2012; LUCKI, 1998; MILLAN, 1995). Mecanismos esses que estão envolvidos tanto em vias de facilitação quanto de inibição de sinais nociceptivos a nível espinhal (BENARROCH, 2008; POLTER; LI, 2010; SOMMER, 2004), que são mediados através de receptores de serotonina. Um dos mais amplamente expressos e bem estudados é o receptor 5-HT1A acoplado à proteína G, com efeitos predominantemente inibitórios, mediado parcialmente por canais de potássio que têm maior afinidade por conduzir corrente positiva para o interior da célula do que para o exterior (OHNO, 2010; POLTER; LI, 2010). Em área pré-sináptica, funciona como um

auto receptor (ALBERT; LE FRANCOIS; MILLAR, 2011), e a ativação desse reduz o disparo dos neurônios serotoninérgicos que se projetam para a medula espinhal e o cérebro (SPROUSE; AGHAJANIAN, 1987). O receptor 5-HT1A é, portanto, um dos mais importantes para a regulação do tônus serotoninérgico central. Variações genéticas de receptores de serotonina têm se mostrado relevantes para o estudo de fatores que contribuem para a experiência individual da dor, como por exemplo, o SNP rs6295 do gene *5HTR1A* que consiste em uma substituição de uma citosina por uma guanina na posição 1019 de par de base nucleotídica (HUANG et al., 2004; LE FRANCOIS et al., 2008; WU; COMINGS, 1999).

Dados de estudos experimentais têm indicado uma associação entre a percepção de dor térmica e modulação de dor, com a variante genética rs6295 (LINDSTEDT et al., 2012; TOUR et al., 2017). Enquanto que a variante rs6296 do gene *HTR1B,* que codifica o receptor de serotonina 1B, também mostrou ter um papel na sensibilidade à dor em humanos, através de um estudo do tipo caso-controle em que foi observado uma associação positiva com a intensidade da dor [mensurada por meio de uma escala visual analógica (EVA)] durante as crises de enxaqueca com o polimorfismo rs6296 (MARZINIAK et al., 2007). Esse polimorfismo causa a substituição de uma guanina pela citosina na posição 861 de pares de base, na região exônica do gene. Diversas associações do polimorfismo rs6296 (G861C) com fenótipos funcionais e clínicos foram relatadas, como por exemplo o transtorno de abuso de substâncias, depressão, transtorno de déficit de atenção e hiperatividade, tentativas de suicídio em transtornos de personalidade, bulimia nervosa e transtorno obsessivo-compulsivo, o que pode ser um sinal vermelho para o clínico que atende pacientes com dores crônicas, uma vez que a depressão é comórbida à essas condições dolorosas (FEHR et al., 2000; FILLINGIM et al., 2013; HAWI et al., 2002; HUANG et al., 2003; SIMOEN et al., 2020; SIPILA et al., 2006; SLADE et al., 2007).

Além da comprovada influencia genética nas vias nociceptivas serotoninérgicas e opioidérgicas, o gene *COMT* foi vastamente investigado na sua participação em estados de manutenção, persistência e modulação da dor (NACKLEY et al., 2009). Esse gene é responsável por codificar a enzima catechol-O-methyltransferase (COMT), que tem a função de transferir um grupo metil da S-adenosilmetionina para um substrato de catecol, produzindo assim S-adenosil-l-homocisteína e um catecol O-metilado (AXELROD; TOMCHICK, 1958; GULDBERG; MARSDEN, 1975), ou seja, metabolizar catecolaminas e qualquer composto com uma estrutura de catecol torna-

se um substrato potencial para a COMT, sendo sua principal função fisiológica, eliminar catecóis biologicamente ativos ou tóxicos (AXELROD; TOMCHICK, 1958; BAI et al., 2007; GULDBERG; MARSDEN, 1975; MANNISTO; KAAKKOLA, 1999). Entre os principais substratos para a COMT estão as catecolaminas, como dopamina, adrenalina e noradrenalina, seus metabólitos hidroxilados e catecolestrogênios (BAI et al., 2007).

O gene *COMT* está localizado no braço longo do cromossomo 22, no *locus* 22q11.2, medindo aproximadamente 27 kb e contém dois promotores, que direcionam a síntese de dois transcritos distintos: uma enzima associada à membrana (MB-COMT) e uma solúvel, presente no citoplasma (S-COMT) (TENHUNEN et al., 1993, 1994). A expressão de COMT foi investigada em uma variedade de tecidos, e pelo menos um dos dois transcritos distintos de *COMT* é encontrado em todos os tecidos humanos examinados (GULDBERG; MARSDEN, 1975). A nível de proteínas, a S-COMT é mais prevalente na maioria dos tecidos periféricos, mas no cérebro a proporção MB-COMT:S-COMT é de aproximadamente 70:30 (CHEN et al., 2004; TENHUNEN et al., 1994).

A variação genética no gene *COMT* foi associada à alteração na percepção de múltiplos estímulos experimentais à dor (DIATCHENKO et al., 2005; ZUBIETA et al., 2003), suscetibilidade variável a condições comuns de dor como fibromialgia (GURSOY et al., 2003; VARGAS-ALARCON et al., 2007), enxaqueca (EMIN ERDAL et al., 2001) e DTM (DIATCHENKO et al., 2005), bem como a necessidade variável de opioides no tratamento da dor (RAKVAG et al., 2005), além de outros fenótipos como depressão (WANG et al., 2016) e distúrbios de ansiedade (HETTEMA et al., 2008; WOO; YOON; YU, 2002; ZUBIETA et al., 2003).

A maioria dos SNPs que são responsáveis pela grande variação genética do *COMT* estão localizados em regiões não codificantes do gene, ou são polimorfismos silenciosos que não alteram a sequência de aminoácidos da enzima COMT (ANDERSEN; SKORPEN, 2009). No entanto, é importante notar que mesmo SNPs silenciosos ou em regiões não codificantes podem ter efeitos profundos em um ou mais processos, como transcrição de DNA, *splicing* de RNA, estabilidade de mRNA, bem como transporte e tradução de mRNA (BUSKE et al., 2013; CHAMARY; PARMLEY; HURST, 2006; KRINGEL et al., 2017; MCCARTHY; CARREA; DIAMBRA, 2017; SAUNA et al., 2007). O único SNP que gera uma alteração na sequência de aminoácidos é o rs4680 no éxon 3, que induz uma alteração de valina (Val) para

metionina (Met) na posição 108 em S-COMT e na posição 158 em MB-COMT. A variante Met108 / 158 está associada a baixa atividade enzimática e estabilidade térmica reduzida da enzima COMT (LACHMAN et al., 1996; LOTTA et al., 1995; WEINSHILBOUM, 2006).

Dentre os diversos SNPs descritos no *COMT,* quatro (rs4860, rs4818, rs4633 e rs6269) destacaram-se por suas combinações alélicas darem origem a três haplótipos que foram fortemente associados à fenótipos intermediários de sensibilidade à dor experimental como: alta sensibilidade à dor (HPS, do inglês High Pain Sensitivity), sensibilidade média à dor (APS, do inglês Average Pain Sensitivity) e baixa sensibilidade à dor (LPS, do inglês Low Pain Sensitivity) (DIATCHENKO et al., 2005). Esses haplótipos abrangem 96% da população humana, e cinco combinações desses haplótipos estão fortemente associadas à variação na sensibilidade à dor experimental e, a presença de um único haplótipo de LPS diminui em até 2,3 vezes o risco de desenvolver DTM muscular (DIATCHENKO et al., 2005).

Essa diferença nos fenótipos de sensibilidade à dor se dá pela mudança da atividade enzimática induzida pelos polimorfismos, como supracitado. O haplótipo LPS, por exemplo, produz níveis muito mais altos de atividade enzimática da COMT quando comparado aos haplótipos APS ou HPS. Assim, a atividade enzimática da COMT influencia substancialmente a sensibilidade à dor, e os três principais haplótipos que determinam essa atividade, correlacionam-se inversamente com a sensibilidade à dor e o risco de desenvolver DTM, ou seja, quanto maior a atividade enzimática, menor a sensibilidade à dor e o inverso também é verdadeiro (DIATCHENKO et al., 2005).

A mensuração dessas vias biológicas que se interpõem entre a codificação molecular determinada geneticamente, a doença em questão e a sensibilidade à dor pode ser indiretamente mensurada, o que determina esses fenótipos intermediários e características somatossensoriais. Todo esse arcabouço de variáveis genéticas, sensoriais e psicossociais está sujeito a erros aleatórios e sistemáticos que podem comprometer os resultados e enviesar as conclusões. Assim, é importante que se usem ferramentas válidas e confiáveis para realizar essas mensurações. Em particular, as variáveis sensoriais demandam uma maior atenção por conta de diversos fatores de confundimento e dos desafios técnicos para sua mensuração. Nesse sentido, os testes quantitativos sensoriais (QST, na sigla em inglês) permitem avaliar de forma confiável e válida essas características somatossensoriais e,

associados com estímulos condicionantes, podem também ser usadas para avaliar a capacidade do sistema inibitório descendente da dor (BACKONJA et al., 2013; KENNEDY et al., 2016).

O QST é um termo usado para descrever diferentes formas de testes psicofísicos em pele, mucosa ou tecido muscular que avaliam as vias de percepção sensorial e da dor, através da evocação de estímulos de diferentes submodalidades somatossensoriais relacionadas às fibras nervosas de diferentes calibres (A-beta, A-delta e C) envolvidas na comunicação da informação sensorial (ROLKE et al., 2006b). Essa bateria de testes abrange vários métodos de determinação de limiar de detecção sensorial e dolorosa, bem como determinação de limiar supra-limiar e tolerância à dor sob diferentes paradigmas de estímulos (BACKONJA et al., 2009; ROLKE et al., 2006a). Normalmente incluem: 1) testes térmicos que mensuram os limiares de detecção de frio e de calor e limiares de dor ao frio e ao calor por meio dispositivos como TSA-II (Medoc Ltd., Ramat Yishai, Israel), CASO IV (WR Medical Electronics Co., Stillwater, MN) ou MSA Thermotest (Somedic, Mörby, Suécia); 2) testes mecânicos para determinação de limiar de detecção tátil, da somação temporal e do limiar de dor usando filamentos de von Frey, diapasão e algômetro de pressão (ARENDT-NIELSEN; YARNITSKY, 2009).

Acredita-se que a avaliação da função somatossensorial, através do QST, forneça informações importantes sobre as bases anatômicas e fisiológicas da percepção sensorial e da dor em condições normais e patológicas, discernir diferentes síndromes dolorosas que apresentam clinicamente paradigmas sintomáticos semelhantes, permitir uma avaliação qualitativa e semiquantitativa das doenças que mostram baixa correlação dos sintomas e sinais dos pacientes com as respectivas alterações patológicas ou que não apresentam alterações óbvias, avaliar a resposta dos pacientes às abordagens terapêuticas farmacológicas ou não farmacológicas em condições experimentais e clínicas, sendo possível individualizar o tratamento através de fenotipagem somatossensorial. (BACKONJA et al., 2009; BARON et al., 2017; DEMANT et al., 2014; HANSSON; BACKONJA; BOUHASSIRA, 2007; PAVLAKOVIĆ; PETZKE, 2010; TREEDE et al., 2008).

As evidências anteriormente descritas endossam uma influência relevante de determinados SNPs na sensibilidade dolorosa. Entretanto, não há, para o nosso conhecimento, estudos publicados que avaliem interações de polimorfismos genéticos, fatores psicossociais e o perfil somatossensorial mecânico e modulação de

dor de forma sistemática, i.e., utilizando o protocolo de QST, em pacientes com DTM dolorosa. Dessa forma, este estudo poderá contribuir para elucidar melhor os mecanismos do processamento neural da dor e, eventualmente, contribuir para um tratamento mais efetivo e um prognóstico mais preciso dessas condições dolorosas musculoesqueléticas.

3 OBJETIVO

Avaliar a influência de polimorfismos genéticos e dos fatores psicossociais no perfil somatossensorial mecânico e na modulação da dor em indivíduos com disfunção temporomandibular dolorosa e controles assintomáticos.

4 MATERIAL 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, sob o CAAE 82201818.3.0000.5417 (Anexo A). Todos os indivíduos que aceitarem participar do estudo assinarão o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B).

4.2 AMOSTRA

Nesse estudo do tipo caso-controle, o grupo de casos foi uma amostra de 95 indivíduos, e 85 controles saudáveis, totalizando uma amostra de 180 mulheres. Esse cálculo foi feito baseado em estimativas de banco de dados genéticos mundiais de que a prevalência dos polimorfismos que serão estudados é por volta de 20-30% (http://www.ensembl.org/info/about/index.html). Esse tamanho de amostra tem se mostrado suficiente para detectar alterações somatossensoriais significativas e com tamanho de efeito relevante (MAGERL et al., 2010).

A seleção do grupo caso foi feita através de indivíduos com DTM dolorosa que procuraram tratamento na Faculdade de Odontologia de Bauru e no Instituto de Especialização Odontológico de Bauru, São Paulo. Todos os pacientes quem foram diagnosticados com DTM dolorosa, de acordo com os Critérios Diagnósticos para Disfunção Temporomandibular (DC/TMD) (SCHIFFMAN et al., 2014), foram convidados a participar do estudo, sendo que o período de recrutamento foi de 18 meses. 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 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

dores neuropáticas. 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 e distúrbios de ansiedade e depressão não foram motivos de exclusão. A eventual presença desses fatores de confundimento foi controlada no momento da análise estatística dos dados, sendo que a opção pela não exclusão *a priori*, visa aumentar a validade externa do estudo.

A população da qual se originou a amostra de indivíduos saudáveis para esse estudo foi primariamente a comunidade da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo. O recrutamento foi feito 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, por exemplo, dor muscular ou dentária e dor de cabeça, nos últimos 30 dias. Já os critérios de exclusão para o grupo controle são: 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, dor cervical ou fibromialgia; 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 dos sujeitos 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.

4.3 CARACTERIZAÇÃO PSICOSSOCIAL

A ficha de avaliação clínica consta de informações a respeito das características psicossociais (nível de ansiedade, depressão, qualidade do sono, grau de catastrofização relacionada à dor e nível de estresse) mensuradas pelos seguintes questionários: escala hospitalar de ansiedade e depressão (HADS, sigla em inglês) (ZIGMOND; SNAITH, 1983), questionário do sono de Pittsburgh (PSQI, sigla em inglês) (BUYSSE et al., 1989), escala de catastrofização da dor (PCS, sigla em inglês) (SULLIVAN; BISHOP; PIVIK, 1995), escala de estresse percebido (PSS, sigla em inglês) (COHEN; KAMARCK; MERMELSTEIN, 1983).

Escala hospitalar de ansiedade e depressão (HADS, sigla em inglês)

Esse questionário é um instrumento de autopreenchimento, contendo 14 questões do tipo múltipla escolha, composta de duas subescalas intercaladas, uma para ansiedade (7 questões) e 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 foram 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.

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

Esse questionário foi criado para distinguir indivíduos que dormem “bem” ou “mal e também 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 e não são tabuladas para o 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 foi utilizada (BERTOLAZI et al., 2011).

Escala de catastrofização da dor (PCS, sigla em inglês)

Este questionário mensura pensamentos catastróficos em dor. O questionário foi preenchido pelo próprio indivíduo e indica a frequência com que tem pensamentos catastróficos quando sua dor está forte. São 13 afirmações no total e essa marcação foi feita em 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, mais o grau de catastrofização. A versão validada para o português brasileiro foi utilizada (LOPES *et al*, 2015).

Escala de estresse percebido (PSS, sigla em inglês)

Este questionário mensura o grau de percepção de estresse no último mês considerando o contexto global do indivíduo. O 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 (LUFT et al., 2007).

4.4 AVALIÇAO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS

A análise dos polimorfismos genéticos foi feita através de DNA de células epiteliais descamadas presentes na saliva. Dessa forma, uma amostra de 5ml 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 aliquotada e armazenada a -20ºC para posterior estudo molecular.

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

4.5.3 Seleção de genes candidatos e de SNPs

Foram selecionados para avaliação genética sete polimorfismos de um único nucleotídeo, do inglês *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs), nos genes *HTR1B* (rs6296), *HTR1A* (rs6295), *OPRM1* (rs1799971) e *COMT* (rs4680, rs4633 e rs4818).

4.5.4 Genotipagem

A análise dos genótipos dos polimorfismos selecionados 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 (Aplied 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 analisados 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 analisada no software Viia 7 (versão 1.1, Applied Biosystems, Foster City, CA, Estados Unidos) que forneceu os relatórios dos genótipos avaliados.

4.5.5 Cálculo de equilíbrio de Hardy-Weinberg

Todos os SNPs foram submetidos ao cálculo de equilíbrio Hardy-Weinberg, utilizando a frequência genotípica de cada SNP em cada grupo amostral, estudado (casos e controles). Foi utilizado o nível 1 de graus de liberdade e 95% de intervalo de confiança (EDWARDS, 2008; HARDY, 1908).

4.6 TESTES QUANTITATIVOS SENSORIAIS

Quatro parâmetros dos testes quantitativos sensoriais, para avaliação somatossensorial mecânica foram mensurados do lado dominante no grupo controle (masseter) e o ponto mais doloroso (masseter) de acordo com a percepção do paciente, no grupo com dor miofascial mastigatória (determinado durante o exame

clínico): a) limar de dor mecânica (MPT, sigla em inglês), c) razão da somação temporal (WUR, sigla em inglês) e d) limiar de dor à pressão (PPT, sigla em inglês).

a) MPT

Este teste consiste na utilização de monofilamentos adaptados por Semmes-Weinstein para determinação do limiar de dor mecânica. O kit utilizado contém 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/mm^2 até 300 g/mm^2. Cada monofilamento foi aplicado perpendicularmente à região a ser avaliada e uma leve pressão foi feita até o filamento se curvar. O participante foi instruído que o mesmo deveria relatar verbalmente quando sentisse uma sensação de “agulhada, alfinetada ou picada levemente dolorosa” na área de contato dos monofilamentos. Os testes foram iniciados com o filamento menos calibroso (0,008 g/mm^2) 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 tátil nocivo (toque e não uma picada/agulhada dorolosa). Isso foi considerado como um estímulo negativo (-). Essa mensuração foi feita até se obter 5 estímulos negativos (descendente) e 5 estímulos positivos (ascendentes) e a média geométrica dessas repetições foi calculada (ROLKE et al., 2006b).

b) WUR

O teste foi realizado com o menor filamento de Von Frey que provocou uma sensação de dor leve. O filamento escolhido foi posicionado na pele 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 doloroso 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 cm^2). Essa sequência foi repetida três vezes e os valores de intensidade de dor de 0 a 100 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., 2006b).

c) PPT

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 pelo dispositivo quando a sensação de pressão se transformar em estímulo levemente doloroso. Assim, este teste mensura o limiar de dor à pressão e, a média aritmética de três medições em sequência foi considerada como o limiar (ROLKE et al., 2006b).

3.7 MODULAÇÃO CONDICIONADA DA DOR (CPM, sigla em inglês)

Após a mensuração do PPT, como supra explicado, foi solicitado ao indivíduo imergir a mão contralateral (em relação ao local do teste de PPT) em um recipiente com água gelada por no máximo um minuto. A temperatura da água era determinada de acordo com a intensidade de dor três, indicada pelo indivíduo através de uma Escala Visual Análoga (0 -10). Por meio desse parâmetro, a temperatura variava entre 10ºC e 16°C. Esse primeiro teste de PPT foi considerado o estímulo teste inicial (ETi) e a imersão da mão em água gelada foi o estímulo condicionante (EC). Após o EC, o teste de PPT foi repetido e agora foi considerado como estímulo teste final (ETf) (GRANOT et al., 2008; NIR et al., 2011). O protocolo de avaliação foi do tipo sequencial, i.e., o ETf foi repetido imediatamente após a aplicação do EC. Dessa forma, o CPM foi calculado como a diferença absoluta e entre o “ETi e ETf” (YARNITSKY et al., 2010, 2015).

O CPM objetiva verificar a capacidade modulatória endógena de estímulos nociceptivos do sistema nervoso central (SNC), ou seja, o mecanismo descendente analgésico (inibitório) dos participantes.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Teste de qui-quadrado foi utilizado para avaliar os desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Para avaliar a influência do sono, ansiedade, estresse, depressão, a presença de diagnóstico de DTM e polimorfismos genéticos selecionados (rs6296, rs6295, rs1799971, rs4680, rs4633, rs4818, rs6746030) na sensibilidade mecânica à dor e modulação endógena da dor, modelo de regressão linear múltipla foi construído para cada variável dependente MPT, PPT, WUR e CPM, para ambos os locais: músculo masseter e mão. Foram consideradas as seguintes variáveis independentes: diagnóstico de DTM, estresse, ansiedade, depressão, sono e os polimorfismos selecionados: rs6296, rs6295, rs1799971, rs4680, rs4633, rs4818, rs6746030). O nível de significância foi estabelecido em $p<0,004$ após análises múltiplas. Os testes estatísticos para as variáveis genéticas foram realizados considerando o modelo dominante.

Além disso, as variáveis foram exploradas e analisadas descritivamente, com mediana e amplitude interquartil das medidas quantitativas para os grupos (DTM e controle). Foi utilizado o teste U de Mann Whitney para de comparar a mediana da idade, variáveis psicossociais e clínicas (estresse, ansiedade, depressão, sono, catastrofização da dor e sensibilização central), variáveis somatossensoriais do músculo masseter e mão (PPT, MPT, WUR e CPM) entre os grupos, e o nível de significância foi estabelecido em $p<0,003$ após análises múltiplas. O teste exato de Fisher foi usado para comparar os genótipos entre os grupos, o nível de significância foi estabelecido em $p<0,006$ após análises múltiplas. Os dados foram analisados por meio do software SPSS Statistics 25.0 (IBM®, New York, USA).

5 RESULTADOS

Para sensibilidade à dor mecânica, o modelo de regressão foi significativo apenas para MPT no masseter ($F_{11,168}$ = 9,772; p <0,0001; R2 = 0,390) e mão ($F_{11,168}$ = 5,78; p <0,0001; R2 = 0,275). Os diagnósticos de DTM tiveram associação negativa moderada com MPT no masseter (coeficiente B = -0,499; p <0,001) e no local da mão (coeficiente B = -0,456; p <0,001). Além disso, o sono foi associado ao MPT no masseter (coeficiente B = -0,211; p = 0,006). O modelo de regressão não foi significativo para PPT no masseter ($F_{11,168}$ = 1,31; p = 0,223; R2 = 0,079] e na mão ($F_{11,168}$ = 0,725; p = 0,713; R2 = 0,045). No entanto, a presença de DTM foi associado ao PPT (coeficiente B = -0,234; p = 0,008) na região do masseter.

Quanto à modulação endógena da dor, a variável WUR resultou em um modelo estatisticamente significante ($F_{11,168}$ = 2,016; p = 0,03; R2 = 0,117) apenas no masseter, diferentemente do sítio da mão ($F_{11,168}$ = 1,623; p = 0,096; R2 = 0,096), que teve uma associação fraca e negativa com sono e o polimorfismo do *SCN9A* (rs6746030) (coeficiente B = -0,24, p = 0,009 e coeficiente B = -0,24, p = 0,002, respectivamente). É interessante notar uma tendência de associação, mesmo que fraca, entre rs4818 (gene *COMT*) e WUR (coeficiente B = -0,14, p = 0,067). Sobre WUR para o sítio da mão, o sono também apresentou uma associação fraca e negativa (coeficiente B = -0,18, p = 0,049). Ao contrário da área trigeminal, foi fracamente e positivamente associado a um polimorfismo genético: rs6295 do gene *HTR1A* (coeficiente B = 0,16, p = 0,035). Também foi possível observar uma fraca tendência de associação entre o WUR e rs6746030 (*SCN9A*) (Beta = -0,14; p = 0,067).

Em relação ao teste de modulação da dor, CPM, a análise de regressão linear múltipla mostrou um modelo estatisticamente significante ($F_{11,164}$ = 1,999; p = 0,031; R2 = 0,118) para o masseter, mas não para o sítio da mão ($F_{11,168}$ = 1.766; p = 0,063; R2 = 0,104). Observou-se associação fraca e positiva entre CPM e estresse para ambos os locais, (coeficiente B = 0,255; p = 0,022 e coeficiente B = 0,247; p = 0,029 - masseter e mão, respectivamente). Além disso, a CPM na área trigeminal (sítio do músculo masseter) teve uma associação fraca e positiva com a presença de diagnóstico de DTM (coeficiente B = 0,113; p = 0,034). Enquanto o CPM na mão foi fraca e negativamente associado à ansiedade (coeficiente B = -0,231; p = 0,047).

Esses dados estão resumidos nas tabelas 01 e 02 para o músculo masseter e sítio da mão, respectivamente.

Tabela 01 - Regressão linear múltipla para cada parâmetro somatossensorial do músculo masseter

Modelo	*B*	*EP B*	*β*	Valor de *p*	*B - 95% IC*
			Limiar de dor mecânica		
Intercepto					
Diagnóstico de DTM	-0,8	0,12	-0,49	<0,001	-1,1 até -0,62
Estresse	-0,0	0,01	-0,01	0,923	-0,02 até 0,02
Ansiedade	-0,0	0,02	-0,07	0,460	-0,05 até 0,02
Depressão	0,0	0,02	0,07	0,416	-0,02 até 0,06
Sono	-0,0	0,02	-0,21	0,006	-0,08 até -0,01
COMT (rs4818)	0,1	0,17	0,05	0,384	-0,18 até 0,45
HTR1A	0,1	0,11	0,05	0,392	-0,13 até 0,32
HTR1B	-0,0	0,11	-0,02	0,742	-0,25 até 0,18
OPRM1	0,1	0,12	0,07	0,252	-0,09 até 0,36
SCN9A	0,1	0,14	0,07	0,280	-0,12 até 0,43
			Limiar de dor à pressão		
Intercepto					
Diagnóstico de DTM	-0,1	0,04	-0,23	0,008	-0,19 até -0,03
Estresse	-0,0	0,00	-0,09	0,384	-0,01 até 0,00
Ansiedade	-0,0	0,01	-0,09	0,410	-0,02 até 0,01
Depressão	0,0	0,01	0,15	0,196	-0,00 até 0,24
Sono	0,0	0,00	-0,01	0,934	-0,01 até 0,01
COMT (rs4818)	0,0	0,05	0,06	0,419	-0,06 até 0,15
HTR1A	0,0	0,04	0,07	0,354	-0,04 até 0,10
HTR1B	-0,0	0,03	-0,00	0,985	-0,07 até 0,07
OPRM1	0,0	0,04	0,04	0,563	-0,05 até 0,09
SCN9A	-0,0	0,04	-0,01	0,851	-0,09 até 0,81
			WUR - Razão da Somação Temporal		
Intercepto					
Diagnóstico de DTM	0,0	0,05	0,06	0,509	-0,06 até 0,12
Estresse	0,0	0,00	0,05	0,613	-0,00 até 0,01
Ansiedade	0,0	0,01	0,13	0,259	-0,00 até 0,24
Depressão	-0,0	0,01	-0,01	0,954	-0,02 até 0,02
Sono	-0,0	0,00	-0,24	0,009	-0,03 até -0,00
COMT (rs4818)	-0,0	0,06	-0,14	0,067	-0,24 até 0,01
HTR1A	0,0	0,04	0,05	0,495	-0,05 até 0,11
HTR1B	-0,0	0,04	-0,08	0,277	-0,12 até 0,03
OPRM1	0,0	0,04	0,07	0,370	-0,05 até 0,12

Tabela 01 - Regressão linear múltipla para cada parâmetro somatossensorial do músculo masseter

(Continuação e conclusão)

Modelo	B	EP B	β	*Valor de* p	B - 95% IC
SCN9A	-0,1	0,05	-0,24	0,002	-0,27 até -0,06
	Modulação Condicionada da Dor				
Intercepto					
Diagnóstico de DTM	0,3	0,13	0,23	0,034	0,09 até 0,63
Estresse	0,0	0,01	0,16	0,022	-0,00 até 0,03
Ansiedade	-0,0	0,02	-0,13	0,249	-0,07 até 0,02
Depressão	0,0	0,02	0,00	0,770	-0,05 até 0,05
Sono	0,0	0,02	-0,00	0,540	-0,03 até 0,03
COMT (rs4818)	0,2	0,18	0,09	0,304	-0,14 até 0,58
HTR1A	-0,1	0,12	-0,08	0,713	-0,38 até 0,10
HTR1B	-0,0	0,12	-0,02	0,342	-0,27 até 0,19
OPRM1	0,1	0,13	0,07	0,074	-0,12 até 0,38
SCN9A	-0,0	0,15	-0,01	0,801	-0,33 até 0,27

EP: Erro Padrão; IC: Intervalo de Confiança

Tabela 02 – Regressão linear múltipla para cada parâmetro somatossensorial da mão

Modelo	B	EP B	β	Valor de *p*	B - 95% CI
	Limiar de dor mecânica				
Intercepto					
Diagnóstico de DTM	-0,7	0,13	-0,45	<0,001	-1,0 até -0,50
Estresse	0,0	0,01	0,09	0,349	-0,01 até 0,03
Ansiedade	-0,0	0,02	-0,04	0,670	-0,05 até 0,03
Depressão	0,0	0,02	0,00	0,951	-0,04 até 0,05
Sono	-0,0	0,01	-0,13	0,126	-0,06 até 0,01
COMT (rs4818)	0,0	0,17	0,01	0,924	-0,32 até 0,35
HTR1A	0,0	0,12	0,03	0,591	0,17 até 0,29
HTR1B	-0,1	0,11	-0,06	0,338	-033 até 0,11
OPRM1	0,1	0,12	0,09	0,166	-0,07 até 0,40
SCN9A	0,2	0,14	0,09	0,181	-0,09 até 0,48
	Limiar de dor à pressão				
Intercepto					
Diagnóstico de DTM	-0,0	0,03	-0,00	0,963	-0,06 até 0,06
Estresse	-0,0	0,00	-0,09	0,399	-0,00 até 0,00
Ansiedade	-0,0	0,00	-0,01	0,906	-0,01 até 0,01
Depressão	0,0	0,00	0,04	0,693	-0,01 até 0,01

Tabela 02 – Regressão linear múltipla para cada parâmetro somatossensorial da mão

(Continuação e conclusão)

Modelo	***B***	***EP B***	***β***	***Valor de* p**	***B - 95% CI***
			Limiar de dor à pressão		
Sono	-0,0	0,00	-0,07	0,435	-0,01 até 0,00
COMT (rs4818)	0,0	0,04	0,06	0,439	-0,05 até 0,12
HTR1A	-0,0	0,03	-0,06	0,399	-0,08 até -0,03
HTR1B	-0,0	0,03	-0,08	0,313	-0,08 até 0,03
OPRM1	-0,0	0,03	-0,03	0,691	-0,07 até 0,05
SCN9A	0,0	0,04	0,03	0,659	-0,06 até 0,09
			WUR - Razão da Somação Temporal		
Intercepto					
Diagnóstico de DTM	0,0	0,05	0,03	0,718	-0,08 até 0,12
Estresse	0,0	0,00	0,08	0,486	-0,00 até 0,01
Ansiedade	0,0	0,01	0,06	0,580	-0,01 até 0,02
Depressão	0,0	0,01	0,03	0,780	-0,02 até 0,02
Sono	-0,0	0,00	-0,18	0,049	-0,03 até 0,00
COMT (rs4818)	-0,1	0,07	-0,11	0,131	-0,24 até 0,03
HTR1A	0,1	0,05	0,16	0,035	0,00 até 0,19
HTR1B	-0,0	0,04	-0,02	0,786	-0,10 até 0,08
OPRM1	0,0	0,05	0,07	0,314	-0,05 até 0,15
SCN9A	-0,1	0,06	-0,14	0,067	-0,23 até 0,01
			Modulação Condicionada da Dor		
Intercepto					
Diagnóstico de DTM	0,3	0,19	0,14	0,092	-0,05 até 0,71
Estresse	0,0	0,01	0,24	0,029	0,00 até 0,06
Ansiedade	-0,0	0,03	-0,23	0,047	-0,13 até -0,00
Depressão	0,0	0,03	0,04	0,697	-0,06 até 0,08
Sono	0,0	0,02	0,10	0,288	-0,02 até 0,08
COMT (rs4818)	0,3	0,26	0,11	0,152	-0,14 até 0,89
HTR1A	0,0	0,18	0,02	0,795	-0,30 até 0,34
HTR1B	0,1	0,17	0,05	0,512	-0,22 até 0,45
OPRM1	-0,0	0,18	-0,01	0,914	-0,38 até 0,34
SCN9A	0,1	0,22	0,05	0,490	-0,28 até 0,59

EP: Erro Padrão; IC: Intervalo de Confiança

Além disso, a mediana da idade entre o controle e a DTM foi de 32,65 e 39,19, respectivamente (Apêndice A). As medianas das características psicossociais e

clínicas do grupo controle foram menores que as do grupo com DTM (p <0,0001) (Apêndice A). Quanto às variáveis somatossensoriais, as medianas do grupo controle foram maiores que as do grupo DTM independentemente do local de avaliação, masseter músculo ou mão. No entanto, apenas as diferenças observadas no MPT foram estatisticamente significantes (p <0,001) em ambos os locais (Apêndice A). Além disso, curiosamente, o grupo controle apresentou mais genótipos polimórficos para *COMT* e *HTR1A* do que o grupo com DTM (p> 0,006). Por outro lado, os genes *OPRM1*, *SCN9A*, *HTR1B* e *DDC* tiveram mais genótipos ancestrais e menos genótipos polimórficos no grupo controle do que no grupo com DTM (p> 0,006) (Apêndice B). As médias e o desvio padrão dos testes sensoriais para os grupos com genótipos polimórficos e ancestrais para cada polimorfismo são exibidos em Apêndice C. Os genótipos de todos os SNPs candidatos estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a influência de diversos polimorfismos genéticos (gene *HTR1B* - rs6296; gene *HTR1A* - rs6295, *OPRM1* - rs1799971 e gene *COMT* - rs4680, rs4633 e rs4818) na sensibilidade à dor mecânica e modulação endógena da dor, controlando os efeitos de confusão de fatores psicossociais e clínicos, como presença de DTM dolorosa, ansiedade, depressão, sono e estresse. Os principais achados foram: a) a não contribuição dos polimorfismos nos testes de sensibilidade à dor mecânica e a leve contribuição na modulação endógena da dor; b) 39% da variação do MPT no masseter pode ser explicada pelo modelo, com uma contribuição significativa da presença de DTM dolorosa e qualidade do sono.

A modulação endógena da dor pode ser entendida como mecanismos que podem aumentar ou diminuir a experiência de dor (VAEGTER et al., 2020). WUR é um teste que avalia a somação temporal por estímulos dolorosos repetidos, para que a dor incorpore e torne-se mais intensa com uma soma dependente da intensidade e da frequência do estímulo (HOLDEN et al., 2019). Isso é comumente usado como um indicador indireto de sensibilização central e representa um correlato comportamental de "wind up" de neurônios de ampla faixa dinâmica dorsal espinhal (NAUGLE et al., 2020; PRICE, 1972; PRICE; DUBNER, 1977). Em nosso estudo, WUR foi negativamente associado a um polimorfismo genético (*SCN9A* - rs6746030) e foi a única variável sensorial que teve influência genética, independentemente do local de teste (área trigeminal ou não). No entanto, as vias biológicas eram diferentes. Enquanto na área trigeminal foi possível observar uma associação entre rs6746030 (*SCN9A*) e uma tendência de associação com rs4818 (*COMT*) (p=0,067), a via associada com WUR na área extra-trigeminal foi serotonérgica (*HTR1A*), e também pode ser observada tendência para *SNC9A* (p=0,067). Talvez, com um tamanho de amostra maior, essa tendência pudesse ser confirmada. Nossa hipótese é que WUR e o polimorfismo do *SCN9A* estavam associados negativamente, ou seja, o grupo mutado tinha o valor de WUR mais baixo porque este polimorfismo induz uma inativação lenta do canal de sódio 1.7, portanto, pode prejudicar o estabelecimento do limiar e da frequência de disparo dos neurônios nociceptivos. A inativação mais lenta da rara variante alélica A em voltagens próximas ao potencial de repouso tenderia a tornar os neurônios mais sensíveis a estímulos dolorosos. Este mecanismo induzido pelo SNP foi relatado em alguns estudos (CUMMINS; HOWE; WAXMAN, 1998; REIMANN et al., 2010; SHEETS et al., 2007). No entanto, é importante notar que WUR

é uma medida instável e de baixa confiabilidade (COSTA et al., 2017, 2019), portanto, este pode ser um resultado insignificante.

Poucos estudos avaliam a sensibilidade à dor na região orofacial em pacientes com dor crônica usando ferramentas confiáveis e válidas, como testes sensoriais quantitativos, conforme avaliado por uma revisão sistemática recente (SOARES et al., 2020). O estudo OPPERA (Orofacial Pain Prospective Evaluation Risk and Assessment), o maior estudo genético em DTM, analisou 3.295 polimorfismos de 358 genes envolvidos em sistemas relevantes para a percepção da dor em 2.700 indivíduos, além de uma bateria de testes sensoriais (SLADE et al., 2011; SMITH et al., 2013). Curiosamente, apenas o teste de modulação endógena da dor por somação temporal (estímulos de calor), foi associado a um polimorfismo genético (gene *MPDZ* - rs10809907), e nenhum polimorfismo foi significativamente associado a testes de sensibilidade à dor mecânica (limiar de dor por pressão), da mesma forma que nossos resultados. Em contraste, os testes de modulação condicionada da dor - outra maneira de acessar a modulação endógena da dor, foram associados ao polimorfismo do transportador de serotonina (5-HTTLPR) em adultos saudáveis em locais extra-trigêmeos (LINDSTEDT et al., 2011; TREISTER et al., 2011). Não observamos uma contribuição de polimorfismos genéticos no CPM em nosso estudo. É possível que diferentes modalidades de estímulos - pressão, calor, frio e / ou isquemia, usados em testes sensoriais possam influenciar todos esses estudos em relação a uma contribuição genética significativa para a sensibilidade à dor sensitivity (LINDSTEDT et al., 2011; SMITH et al., 2013; TREISTER et al., 2011), uma vez que cada estudo escolheu estímulos diferentes do nosso para acessar a modulação endógena da dor.

Na verdade, CPM foi a única variável sensorial correlacionada com as psicológicas (estresse e ansiedade). A modulação na região trigeminal foi influenciada tanto pela presença de DTM dolorosa, como também pelo estresse. Enquanto na região extra-trigeminal, neste caso a mão, tanto o estresse quanto a ansiedade influenciaram na modulação da dor. Apontando a importância do estado emocional do indivíduo na modulação da dor (GORCZYCA; FILIP; WALCZAK, 2013; LEE et al., 2015; UGURLU et al., 2017), o que pode ajudar a elucidar a variabilidade na percepção da dor entre as pessoas (NAHMAN-AVERBUCH et al., 2016; RACINE et al., 2012). Fatores psicológicos foram correlacionados com índices clínicos e experimentais de dor em população saudável e em pacientes com dor (CHIU et al., 2005; EDWARDS et al., 2011; NAHMAN-AVERBUCH et al., 2016), especialmente

relacionados à modulação condicionada da dor. Possivelmente devido à semelhança entre os neurotransmissores que estão envolvidos no CPM e nesses fatores psicológicos (LINDSTEDT et al., 2011; NAHMAN-AVERBUCH et al., 2016; TREISTER; PUD; EISENBERG, 2013).

Além disso, em termos de sensibilidade à dor mecânica, apenas o diagnóstico de DTM foi capaz de influenciar o PPT no músculo masseter, como esperado, uma vez que o próprio diagnóstico de DTM pressupõe maior sensibilidade do masseter (GOMES et al., 2008; HERPICH et al., 2018; PINTO FIAMENGUI et al., 2020; SHARMA et al., 2020; SLADE et al., 2016; SOARES et al., 2020). No entanto, tal influência não foi observada em um sítio extra-trigeminal (mão). Este é um achado curioso, uma vez que estudos anteriores demonstraram valores de PPT mais baixos em pacientes com DTM (LA TOUCHE et al., 2018; MICHELOTTI; FARELLA; MARTINA, 2008; SPANO et al., 2021), tanto nas regiões trigeminal quanto extra-trigeminal. Isso pode indicar uma hipersensibilidade generalizada do sistema nervoso central, que também amplifica as entradas nociceptivas não segmentares, sinalizando a sensibilização central (CODERRE et al., 1993; MICHELOTTI; FARELLA; MARTINA, 2008; SESSLE, 1999). Não pudemos observar tal evidência em nossa amostra.

Ainda sobre a sensibilidade à dor mecânica, o MPT também foram estaticamente associados aos diagnósticos de DTM e à qualidade do sono ($p < 0,006$). É bem sabido que a má qualidade do sono resulta em maior percepção da dor, e está correlacionada com alta intensidade da dor em pacientes com dor crônica, e mesmo na população saudável em geral, as diferenças individuais no sono também podem afetar a dor subsequente (HAACK; MULLINGTON, 2005; KUNDERMANN et al., 2004; SMITH; HAYTHORNTHWAITE, 2004). Outros estudos corroboram esses resultados, onde foi observado que a privação de sono está correlacionada com menor limiar de sensibilidade cutânea ao toque e dor em voluntários saudáveis (COOPERMAN; MULLIN; KLEITMAN, 1934; MOLDOFSKY et al., 1975; MOLDOFSKY; SCARISBRICK, 1976; ONEN et al., 2001).

Talvez a modulação seja mais volátil e influenciada por variáveis ambientais ou temporárias, como faixa etária, sexo, fase do ciclo menstrual, fatores psicossociais, ingestão de cafeína, substâncias farmacológicas, sono, cultura e presença de outras comorbidades dolorosas (EDWARDS et al., 2009; EDWARDS; FILLINGIM; NESS, 2003; FLODGREN et al., 2006; LEWIS; RICE; MCNAIR, 2012; NIR et al., 2011, 2012; TOUSIGNANT-LAFLAMME; MARCHAND, 2009), do que de fato, geneticamente

predeterminado. É importante lembrar que neste estudo não foram avaliados fatores epigenéticos, onde é possível inferir a intercessão entre os fatores ambientais influenciados na genética do indivíduo. Diante dos resultados obtidos, estudos futuros devem incluir análises epigenéticas no estudo da modulação da dor, além da análise do perfil psicológico. Outras limitações de nosso estudo são o tamanho relativamente baixo da amostra para estudos genéticos e a falta de análise de fatores que podem interferir na sensibilidade à dor, como interações com outros genes de diferentes vias e a presença de comorbidades existentes.

7 CONCLUSÃO

Polimorfismos genéticos (rs6296, rs6295, rs1799971, rs4680, rs4633, rs4818, rs6746030 e rs6262) tiveram uma leve contribuição para a modulação endógena da dor, acessada pelo WUR, mas não contribuíram para a sensibilidade mecânica que teve uma contribuição significativa pela presença de DTM dolorosa e a qualidade do sono. O conceito de rede causal rejeita a visão de uma única causa necessária e suficiente para um fenômeno complexo, como a sensibilidade à dor. Assim, essa rede causal poderia englobar qualidade do sono, sintomas de ansiedade e estresse, características sensoriais, presença de distúrbios dolorosos como DTM e marcadores genéticos. Futuros estudos são necessários para validar esses achados.

REFERÊNCIAS

ALBERT, P. R.; LE FRANCOIS, B.; MILLAR, A. M. Transcriptional dysregulation of 5-HT1A autoreceptors in mental illness. **Molecular brain**, v. 4, p. 21, maio 2011.

ALMOZNINO, G. et al. Oral Health-Related Quality of Life in Patients with Temporomandibular Disorders Galit. **Journal of Oral & Facial Pain and Headache**, v. 29, n. 3, p. 231–241, 2015.

ANDERSEN, S.; SKORPEN, F. Variation in the COMT gene: Implications for pain perception and pain treatment. **Pharmacogenomics**, v. 10, n. 4, p. 669–684, 2009.

ARENDT-NIELSEN, L.; YARNITSKY, D. Experimental and clinical applications of quantitative sensory testing applied to skin, muscles and viscera. **The journal of pain : official journal of the American Pain Society**, v. 10, n. 6, p. 556–572, jun. 2009.

AXELROD, J.; TOMCHICK, R. Enzymatic O-methylation of epinephrine and other catechols. **The Journal of biological chemistry**, v. 233, n. 3, p. 702–705, set. 1958.

BACKONJA, M.-M. et al. Quantitative sensory testing in measurement of neuropathic pain phenomena and other sensory abnormalities. **The Clinical journal of pain**, v. 25, n. 7, p. 641–647, set. 2009.

BACKONJA, M. M. et al. Value of quantitative sensory testing in neurological and pain disorders: NeuPSIG consensus. **Pain**, v. 154, n. 9, p. 1807–1819, set. 2013.

BAI, H.-W. et al. Biochemical and molecular modeling studies of the O-methylation of various endogenous and exogenous catechol substrates catalyzed by recombinant human soluble and membrane-bound catechol-O-methyltransferases. **Chemical research in toxicology**, v. 20, n. 10, p. 1409–1425, out. 2007.

BARBOSA, F. R. et al. Influence of catechol-O-methyltransferase (COMT) gene polymorphisms in pain sensibility of Brazilian fibromialgia patients. **Rheumatology International**, v. 32, n. 2, p. 427–430, 2012.

BARON, R. et al. Peripheral neuropathic pain: a mechanism-related organizing principle based on sensory profiles. **Pain**, v. 158, n. 2, p. 261–272, fev. 2017.

BELFER, I. et al. Candidate gene studies of human pain mechanisms: methods for optimizing choice of polymorphisms and sample size. **Anesthesiology**, v. 100, n. 6, p. 1562–1572, jun. 2004.

BENARROCH, E. E. Descending monoaminergic pain modulation: bidirectional control and clinical relevance. **Neurology**, v. 71, n. 3, p. 217–221, jul. 2008.

BERTOLAZI, A. N. et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index. **Sleep Medicine**, v. 12, n. 1, p. 70–75, 2011.

BJURSTROM, M. F.; IRWIN, M. R. Polysomnographic characteristics in nonmalignant chronic pain populations: A review of controlled studies. **Sleep medicine reviews**, v. 26, p. 74–86, abr. 2016.

BOND, C. et al. Single-nucleotide polymorphism in the human mu opioid receptor gene alters beta-endorphin binding and activity: possible implications for opiate

addiction. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 16, p. 9608–9613, ago. 1998.

BONJARDIM, L. R. et al. Anxiety and depression in adolescents and their relationship with signs and symptoms of temporomandibular disorders. **The International journal of prosthodontics**, v. 18, n. 4, p. 347–352, 2005.

BONVANIE, I. J. et al. Sleep problems and pain: a longitudinal cohort study in emerging adults. **Pain**, v. 157, n. 4, p. 957–963, abr. 2016.

BUENO, C. H. et al. Gender differences in temporomandibular disorders in adult populational studies: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 45, n. 9, p. 720–729, 2018.

BUSKE, O. J. et al. Identification of deleterious synonymous variants in human genomes. **Bioinformatics**, v. 29, n. 15, p. 1843–1850, 2013.

BUSKILA, D. Genetics of chronic pain states. **Best Practice and Research in Clinical Rheumatology**, v. 21, n. 3, p. 535–547, 2007.

BUYSSE, D. J. et al. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. **Psychiatry research**, v. 28, n. 2, p. 193–213, maio 1989.

CASTRO, M. M. C. et al. Validade da escala hospitalar de ansiedade e depressão em pacientes com dor crônica. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 56, n. 5, p. 470–477, 2006.

CHAMARY, J. V.; PARMLEY, J. L.; HURST, L. D. Hearing silence: Non-neutral evolution at synonymous sites in mammals. **Nature Reviews Genetics**, v. 7, n. 2, p. 98–108, 2006.

CHEN, J. et al. Functional analysis of genetic variation in catechol-O-methyltransferase (COMT): effects on mRNA, protein, and enzyme activity in postmortem human brain. **American journal of human genetics**, v. 75, n. 5, p. 807–821, nov. 2004.

CHIU, Y. H. et al. Poor sleep and depression are independently associated with a reduced pain threshold. Results of a population based study. **PAIN**, v. 115, n. 3, 2005.

CIOFFI, I. et al. Social impairment of individuals suffering from different types of chronic orofacial pain. **Progress in Orthodontics**, v. 15, n. 1, p. 1–5, 2014.

CODERRE, T. J. et al. Contribution of central neuroplasticity to pathological pain: review of clinical and experimental evidence. **Pain**, v. 52, n. 3, p. 259–285, mar. 1993.

COHEN, S.; KAMARCK, T.; MERMELSTEIN, R. A global measure of perceived stress. **Journal of health and social behavior**, v. 24, n. 4, p. 385–396, dez. 1983.

COLE, J. C.; DUBOIS, D.; KOSINSKI, M. Use of patient-reported sleep measures in clinical trials of pain treatment: a literature review and synthesis of current sleep measures and a conceptual model of sleep disturbance in pain. **Clinical**

therapeutics, v. 29 Suppl, p. 2580–2588, 2007.

COOPERMAN, N. R.; MULLIN, F. J.; KLEITMAN, N. STUDIES ON THE PHYSIOLOGY OF SLEEP. **American Journal of Physiology-Legacy Content**, v. 107, n. 3, p. 589–593, 1934.

COSTA, Y. M. et al. Test-retest reliability of quantitative sensory testing for mechanical somatosensory and pain modulation assessment of masticatory structures. **Journal of oral rehabilitation**, v. 44, n. 3, p. 197–204, mar. 2017.

COSTA, Y. M. et al. Reproducibility of quantitative sensory testing applied to musculoskeletal orofacial region: Site and sex differences. **European journal of pain (London, England)**, v. 23, n. 1, p. 81–90, jan. 2019.

CUMMINS, T. R.; HOWE, J. R.; WAXMAN, S. G. Slow Closed-State Inactivation: A Novel Mechanism Underlying Ramp Currents in Cells Expressing the hNE/PN1 Sodium Channel. **The Journal of Neuroscience**, v. 18, n. 23, p. 9607 LP – 9619, 1 dez. 1998.

DEMANT, D. T. et al. The effect of oxcarbazepine in peripheral neuropathic pain depends on pain phenotype: A randomised, double-blind, placebo-controlled phenotype-stratified study. **Pain**, v. 155, n. 11, p. 2263–2273, 2014.

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

DIATCHENKO, L. et al. The phenotypic and genetic signatures of common musculoskeletal pain conditions. **Nature reviews. Rheumatology**, v. 9, n. 6, p. 340–350, jun. 2013.

EDWARDS, A. W. F. G. H. Hardy (1908) and Hardy–Weinberg Equilibrium. **Genetics**, v. 179, n. 3, p. 1143–1150, 2008.

EDWARDS, R. R. et al. Duration of sleep contributes to next-day pain report in the general population. **Pain**, v. 137, n. 1, p. 202–207, jul. 2008.

EDWARDS, R. R. et al. Sleep continuity and architecture: associations with pain-inhibitory processes in patients with temporomandibular joint disorder. **European journal of pain**, v. 13, n. 10, p. 1043–1047, nov. 2009.

EDWARDS, R. R. et al. Pain, catastrophizing, and depression in the rheumatic diseases. **Nature reviews. Rheumatology**, v. 7, n. 4, p. 216–224, abr. 2011.

EDWARDS, R. R.; FILLINGIM, R. B.; NESS, T. J. Age-related differences in endogenous pain modulation: a comparison of diffuse noxious inhibitory controls in healthy older and younger adults. **Pain**, v. 101, n. 1–2, p. 155–165, jan. 2003.

EMIN ERDAL, M. et al. Significance of the catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in migraine. **Brain research. Molecular brain research**, v. 94, n. 1–2, p. 193–196, out. 2001.

FEHR, C. et al. The HTR1B 861G>C receptor polymorphism among patients suffering from alcoholism, major depression, anxiety disorders and narcolepsy.

Psychiatry research, v. 97, n. 1, p. 1–10, dez. 2000.

FILLINGIM, R. et al. Summary of Findings from the OPPERA Baseline Case-Control Study: Implications and Future Directions. **J Pain**, v. 12, p. 1–8, 2011.

FILLINGIM, R. B. et al. The A118G single nucleotide polymorphism of the μ-opioid receptor gene (OPRM1) is associated with pressure pain sensitivity in humans. **Journal of Pain**, v. 6, n. 3, p. 159–167, 2005.

FILLINGIM, R. B. et al. Psychological Factors Associated with Development of TMD: the OPPERA Prospective Cohort Study. **J Pain**, v. 14, n. 12 0, p. 1–30, 2013.

FILLINGIM, R. B. et al. Long-term changes in biopsychosocial characteristics related to temporomandibular disorder: Findings from the OPPERA study. **Pain**, v. 159, n. 11, p. 2403–2413, 2018.

FINAN, P. H.; GOODIN, B. R.; SMITH, M. T. The association of sleep and pain: an update and a path forward. **The journal of pain : official journal of the American Pain Society**, v. 14, n. 12, p. 1539–1552, dez. 2013.

FISCHER, M.; STRASSER, E.-M.; SCHEIBE, R. Going in deeper and deeper: signal transduction pathways in myofacial trigger points - A narrative review. **International Musculoskeletal Medicine**, v. 33, n. 2, p. 64–74, 2011.

FLODGREN, G. M. et al. Effects of 30 versus 60 min of low-load work on intramuscular lactate, pyruvate, glutamate, prostaglandin E2 and oxygenation in the trapezius muscle of healthy females. **European Journal of Applied Physiology**, v. 97, n. 5, p. 557–565, 2006.

GOMES, M. B. et al. Palpation and pressure pain threshold: reliability and validity in patients with temporomandibular disorders. **Cranio : the journal of craniomandibular practice**, v. 26, n. 3, p. 202–210, jul. 2008.

GORCZYCA, R.; FILIP, R.; WALCZAK, E. Psychological aspects of pain. **Annals of agricultural and environmental medicine : AAEM**, v. 1, n. 1, p. 23–27, 2013.

GRANOT, M. et al. Determinants of endogenous analgesia magnitude in a diffuse noxious inhibitory control (DNIC) paradigm: Do conditioning stimulus painfulness, gender and personality variables matter? **Pain**, v. 136, n. 1–2, p. 142–149, 2008.

GROENEWALD, C. B.; PALERMO, T. M. The price of pain: the economics of chronic adolescent pain. **Pain Management**, v. 5, n. 2, p. 61–64, 2015.

GRÖSCH, S. et al. A rapid screening method for a single nucleotide polymorphism (SNP) in the human MOR gene. **British journal of clinical pharmacology**, v. 52, n. 6, p. 711–714, dez. 2001.

GUI, M. S.; RIZZATTI-BARBOSA, C. M. Chronicity factors of temporomandibular disorders: a critical review of the literature. **Brazilian oral research**, v. 29, n. 1, p. 1–6, 2015.

GULDBERG, H. C.; MARSDEN, C. A. Catechol-O-methyl transferase: pharmacological aspects and physiological role. **Pharmacological reviews**, v. 27, n. 2, p. 135–206, jun. 1975.

GUPTA, A. et al. The role of psychosocial factors in predicting the onset of chronic widespread pain: results from a prospective population-based study. **Rheumatology**, v. 46, n. 4, p. 666–671, 4 nov. 2006.

GURSOY, S. et al. Significance of catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in fibromyalgia syndrome. **Rheumatology international**, v. 23, n. 3, p. 104–107, maio 2003.

HAACK, M.; MULLINGTON, J. M. Sustained sleep restriction reduces emotional and physical well-being. **Pain**, v. 119, n. 1–3, p. 56–64, dez. 2005.

HALPERN, L. R.; LEVINE, M.; DODSON, T. B. Sexual Dimorphism and Temporomandibular Disorders (TMD). **Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America**, v. 19, n. 2, p. 267–277, 2007.

HANSSON, P.; BACKONJA, M.; BOUHASSIRA, D. Usefulness and limitations of quantitative sensory testing: Clinical and research application in neuropathic pain states. **Pain**, v. 129, n. 3, p. 256–259, jun. 2007.

HARDY, G. H. Mendelian proportions in a mixed population. **Science**, v. 28, n. 706, p. 49 LP – 50, 10 jul. 1908.

HARPER, D. E. E.; SCHREPF, A.; CLAUW, D. J. J. Pain Mechanisms and Centralized Pain in Temporomandibular Disorders. **Journal of Dental Research**, v. 95, n. 10, p. 1102–1108, 2016.

HASTIE, B. et al. Ethnicity Interacts with the OPRM1 Gene in Experimental Pain Sensitivity. **Pain**, v. 153, n. 8, p. 1610–1619, 2012.

HAWI, Z. et al. Serotonergic system and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): A potential susceptibility locus at the 5-HT1B receptor gene in 273 nuclear families from a multi-centre sample. **Molecular Psychiatry**, v. 7, n. 7, p. 718–725, 2002.

HEFFNER, K. L. et al. Chronic low back pain, sleep disturbance, and interleukin-6. **The Clinical journal of pain**, v. 27, n. 1, p. 35–41, jan. 2011.

HERPICH, C. M. et al. Correlation Between Severity of Temporomandibular Disorder, Pain Intensity, and Pressure Pain Threshold. **Journal of manipulative and physiological therapeutics**, v. 41, n. 1, p. 47–51, jan. 2018.

HETTEMA, J. M. et al. Catechol-O-methyltransferase contributes to genetic susceptibility shared among anxiety spectrum phenotypes. **Biological psychiatry**, v. 64, n. 4, p. 302–310, ago. 2008.

HOLDEN, S. et al. Conditioning pain modulation reduces pain only during the first stimulation of the temporal summation of pain paradigm in healthy participants. **European Journal of Pain**, v. 23, n. 7, p. 1390–1396, 2019.

HUANG, Y.-Y. et al. Human 5-HT1A receptor C(-1019)G polymorphism and psychopathology. **The international journal of neuropsychopharmacology**, v. 7, n. 4, p. 441–451, dez. 2004.

HUANG, Y. et al. Substance Abuse Disorder and Major Depression are Associated

with the Human 5-HT1B Receptor Gene (HTR1B) G861C Polymorphism. **Neuropsychopharmacology**, v. 28, n. 1, p. 163–169, 2003.

JUSSILA, P. et al. Prevalence of Temporomandibular Disorders in the Northern Finland Birth Cohort 1966. **Journal of Oral & Facial Pain and Headache**, v. 31, n. 2, p. 159–164, 2017.

KENNEDY, D. L. et al. Reliability of conditioned pain modulation: A systematic review. **Pain**, v. 157, n. 11, p. 2410–2419, 2016.

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.

KRINGEL, D. et al. Emergent biomarker derived from next-generation sequencing to identify pain patients requiring uncommonly high opioid doses. **Pharmacogenomics Journal**, v. 17, n. 5, p. 419–426, 2017.

KUNDERMANN, B. et al. Sleep Deprivation Affects Thermal Pain Thresholds but Not Somatosensory Thresholds in Healthy Volunteers. **Psychosomatic medicine**, v. 66, p. 932–937, 2004.

LA TOUCHE, R. et al. Evidence for Central Sensitization in Patients with Temporomandibular Disorders: A Systematic Review and Meta-analysis of Observational Studies. **Pain Practice**, v. 18, n. 3, p. 388–409, 2018.

LACHMAN, H. M. et al. Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. **Pharmacogenetics**, v. 6, n. 3, p. 243–250, jun. 1996.

LE FRANCOIS, B. et al. Transcriptional regulation at a HTR1A polymorphism associated with mental illness. **Neuropharmacology**, v. 55, n. 6, p. 977–985, nov. 2008.

LEE, H. et al. How does pain lead to disability? A systematic review and meta-analysis of mediation studies in people with back and neck pain. **Pain**, v. 156, n. 6, p. 988–997, jun. 2015.

LEEUW, R. Orofacial pain: Guidelines for assessment, diagnosis, and management. **Chicago: American Academy of Orofacial**, p. 1–24, 2008.

LEWIS, G. N.; RICE, D. A.; MCNAIR, P. J. Conditioned pain modulation in populations with chronic pain: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Pain**, v. 13, n. 10, p. 936–944, 2012.

LINDSTEDT, F. et al. Conditioned pain modulation is associated with common Polymorphisms in the serotonin transporter gene. **PLoS ONE**, v. 6, n. 3, p. e18252, 2011.

LINDSTEDT, F. et al. Serotonin-1A Receptor Polymorphism (rs6295) Associated with Thermal Pain Perception. **PLoS ONE**, v. 7, n. 8, p. 1–9, 2012.

LITT, M. D.; PORTO, F. B. Determinants of pain treatment response and nonresponse: identification of TMD patient subgroups. **J Pain**, v. 14, n. 11, p. 1502–

1513, nov. 2013.

LOTTA, T. et al. Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. **Biochemistry**, v. 34, n. 13, p. 4202–4210, abr. 1995.

LUCKI, I. The spectrum of behaviors influenced by serotonin. **Biological psychiatry**, v. 44, n. 3, p. 151–162, ago. 1998.

LUFT, C. et al. Brazilian version of the Perceived Stress Scale: Translation and validation for the elderly. **Revista de saúde pública**, v. 41, p. 606–615, 2007.

MAGERL, W. et al. Reference data for quantitative sensory testing (QST): refined stratification for age and a novel method for statistical comparison of group data. **Pain**, v. 151, n. 3, p. 598–605, dez. 2010.

MAIER, C. et al. Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): somatosensory abnormalities in 1236 patients with different neuropathic pain syndromes. **Pain**, v. 150, n. 3, p. 439–450, set. 2010.

MANNISTO, P. T.; KAAKKOLA, S. Catechol-O-methyltransferase (COMT): biochemistry, molecular biology, pharmacology, and clinical efficacy of the new selective COMT inhibitors. **Pharmacological reviews**, v. 51, n. 4, p. 593–628, dez. 1999.

MARTÍNEZ-JAUAND, M. et al. Pain sensitivity in fibromyalgia is associated with catechol-O- methyltransferase (COMT) gene. **European Journal of Pain**, v. 17, n. 1, p. 16–27, 2013.

MARZINIAK, M. et al. Functional polymorphisms of the 5-HT1A and 5-HT1B receptor are associated with clinical symptoms in migraineurs. **Journal of Neural Transmission**, v. 114, n. 9, p. 1227–1232, 2007.

MATHIAS, J. L.; CANT, M. L.; BURKE, A. L. J. Sleep disturbances and sleep disorders in adults living with chronic pain: a meta-analysis. **Sleep Medicine**, v. 52, p. 198–210, 2018.

MAYER, S. et al. The societal costs of chronic pain and its determinants: The case of Austria. **PLoS ONE**, v. 14, n. 3, p. 1–18, 2019.

MCCARTHY, C.; CARREA, A.; DIAMBRA, L. Bicodon bias can determine the role of synonymous SNPs in human diseases. **BMC Genomics**, v. 18, n. 1, p. 1–11, 2017.

MCCREARY, C. P. et al. Psychological distress and diagnostic subgroups of temporomandibular disorder patients. **Pain**, v. 44, n. 1, p. 29–34, jan. 1991.

MELIS, M. et al. The role of genetic factors in the etiology of temporomandibular disorders: a review. **Cranio®**, v. 34, n. 1, p. 43–51, 2016.

MELOTO, C. B. et al. Genomics and the new perspectives for temporomandibular disorders. **Archives of Oral Biology**, v. 56, n. 11, p. 1181–1191, 2011.

MELOTO, C. B. et al. Modification of COMT-dependent pain sensitivity by psychological stress and sex. **Pain**, v. 157, n. 4, p. 858–867, 2016.

MICHELOTTI, A.; FARELLA, M.; MARTINA, R. Tactile and pain thresholds in patients with myofascial pain of the jaw muscles: A case-control study. **Journal of Orofacial Pain**, v. 22, n. 2, p. 139–145, 2008.

MILLAN, M. J. Serotonin (5-HT) and pain: A reappraisal of its role in the light of receptor multiplicity. **Seminars in Neuroscience**, v. 7, n. 6, p. 409–419, 1995.

MOLDOFSKY, H. et al. Musculosketal symptoms and non-REM sleep disturbance in patients with “fibrositis syndrome” and healthy subjects. **Psychosomatic medicine**, v. 37, n. 4, p. 341–351, 1975.

MOLDOFSKY, H.; SCARISBRICK, P. Induction of neurasthenic musculoskeletal pain syndrome by selective sleep stage deprivation. **Psychosomatic medicine**, v. 38, n. 1, p. 35–44, 1976.

NACIONAL INSTITUTE OF HEALTH. National Institutes of Health State of the Science Conference statement on Manifestations and Management of Chronic Insomnia in Adults, June 13-15, 2005. **Sleep**, v. 28, n. 9, p. 1049–1057, set. 2005.

NACKLEY, A. G. et al. Low Enzymatic Activity Haplotypes of the Human Catechol-O-Methyltransferase Gene: Enrichment for Marker SNPs. **PLOS ONE**, v. 4, n. 4, p. 1–9, 2009.

NAHMAN-AVERBUCH, H. et al. Psychological factors and conditioned pain modulation: A meta-analysis. **Clinical Journal of Pain**, v. 32, n. 6, p. 541–554, 2016.

NAUGLE, K. M. et al. Test-retest instability of temporal summation and conditioned pain modulation measures in older adults. **Pain Medicine**, v. 21, n. 11, p. 2863–2876, 2020.

NIR, R. R. et al. A psychophysical study of endogenous analgesia: The role of the conditioning pain in the induction and magnitude of conditioned pain modulation. **European Journal of Pain**, v. 15, n. 5, p. 491–497, 2011.

NIR, R. R. et al. Cognitive manipulation targeted at decreasing the conditioning pain perception reduces the efficacy of conditioned pain modulation. **Pain**, v. 153, n. 1, p. 170–176, 2012.

OAKLEY, M.; VIEIRA, A. R. The many faces of the genetics contribution to temporomandibular joint disorder. **Orthodontics and Craniofacial Research**, v. 11, n. 3, p. 125–135, 2008.

OHAYON, M. M. Prevalence of DSM-IV diagnostic criteria of insomnia: distinguishing insomnia related to mental disorders from sleep disorders. **Journal of psychiatric research**, v. 31, n. 3, p. 333–346, 1997.

OHNO, Y. New insight into the therapeutic role of 5-HT1A receptors in central nervous system disorders. **Central nervous system agents in medicinal chemistry**, v. 10, n. 2, p. 148–157, jun. 2010.

OHRBACH, R.; DWORKIN, S. F. Five-year outcomes in TMD: relationship of changes in pain to changes in physical and psychological variables. **Pain**, v. 74, n. 2–3, p. 315–326, fev. 1998.

OHRBACH, R.; DWORKIN, S. F. The Evolution of TMD Diagnosis: : Past, Present, Future. **Journal of Dental Research**, v. 95, n. 10, p. 1093–1101, 2016.

ONEN, S. H. et al. The effects of total sleep deprivation, selective sleep interruption and sleep recovery on pain tolerance thresholds in healthy subjects. **Journal of Sleep Research**, v. 10, n. 1, p. 35–42, 2001.

PAVLAKOVIĆ, G.; PETZKE, F. The role of quantitative sensory testing in the evaluation of musculoskeletal pain conditions. **Current rheumatology reports**, v. 12, n. 6, p. 455–461, dez. 2010.

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, n. May, p. 104854, 2020.

POLTER, A. M.; LI, X. 5-HT1A receptor-regulated signal transduction pathways in brain. **Cellular signalling**, v. 22, n. 10, p. 1406–1412, out. 2010.

PRICE, D. D. Characteristics of second pain and flexion reflexes indicative of prolonged central summation. **Experimental neurology**, v. 37, n. 2, p. 371–387, nov. 1972.

PRICE, D. D.; DUBNER, R. Mechanisms of first and second pain in the peripheral and central nervous systems. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 69, n. 1, p. 167–171, 1977.

QUARTANA, P. J.; CAMPBELL, C. M.; EDWARDS, R. R. Pain catastrophizing: a critical review. **Expert review of neurotherapeutics**, v. 9, n. 5, p. 745–758, maio 2009.

RACINE, M. et al. A systematic literature review of 10 years of research on sex/gender and pain perception - part 2: do biopsychosocial factors alter pain sensitivity differently in women and men? **Pain**, v. 153, n. 3, p. 619–635, mar. 2012.

RAKVAG, T. T. et al. The Val158Met polymorphism of the human catechol-O-methyltransferase (COMT) gene may influence morphine requirements in cancer pain patients. **Pain**, v. 116, n. 1–2, p. 73–78, jul. 2005.

REIMANN, F. et al. Pain perception is altered by a nucleotide polymorphism in SCN9A. **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.

RENER-SITAR, K. et al. Oral health related quality of life in Slovenian patients with craniomandibular disorder. **Collegium antropologicum**, v. 32, p. 513–517, 2008.

RENER-SITAR, K. et al. Sleep quality in temporomandibular disorder cases. **Sleep**

medicine, v. 25, n. 12, p. 105–112, set. 2016.

ROLKE, R. et al. Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): Standardized protocol and reference values. **Pain**, v. 123, n. 3, p. 231–243, 2006a.

ROLKE, R. et al. Quantitative sensory testing: A comprehensive protocol for clinical trials. **European Journal of Pain**, v. 10, n. 1, p. 77–88, 2006b.

SAUNA, Z. E. et al. The sounds of silence: Synonymous mutations affect functions. **Pharmacogenomics**, v. 8, n. 6, p. 527–532, 2007.

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†. **Journal of Oral & Facial Pain and Headache**, v. 28, n. 1, p. 6–27, 2014.

SESSLE, B. J. Neural mechanisms and pathways in craniofacial pain. **The Canadian journal of neurological sciences. Le journal canadien des sciences neurologiques**, v. 26 Suppl 3, p. S7-11, nov. 1999.

SESSLE, B. J. et al. Orofacial Pain and Sleep. In: FARAH, C. S.; BALASUBRAMANIAM, R.; MCCULLOUGH, M. J. (Eds.). . **Contemporary Oral Medicine**. Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 1–27.

SHARMA, S. et al. Pain Sensitivity Modifies Risk of Injury-Related Temporomandibular Disorder. **Journal of Dental Research**, p. 1–7, mar. 2020.

SHEETS, P. L. et al. A Nav1.7 channel mutation associated with hereditary erythromelalgia contributes to neuronal hyperexcitability and displays reduced lidocaine sensitivity. **The Journal of physiology**, v. 581, n. Pt 3, p. 1019–1031, jun. 2007.

SIA, A. T. et al. A118G single nucleotide polymorphism of human mu-opioid receptor gene influences pain perception and patient-controlled intravenous morphine consumption after intrathecal morphine for postcesarean analgesia. **Anesthesiology**, v. 109, n. 3, p. 520–526, set. 2008.

SIMOEN, L. et al. Depression and anxiety levels in patients with temporomandibular disorders : comparison with the general population. **Clinical Oral Investigations**, p. 1–7, 2020.

SIPILA, K. et al. Comorbidity between facial pain, widespread pain, and depressive symptoms in young adults. **Journal of orofacial pain**, v. 20, n. 1, p. 24–30, 2006.

SLADE, G. D. et al. Influence of psychological factors on risk of temporomandibular disorders. **Journal of dental research**, v. 86, n. 11, p. 1120–1125, 2007.

SLADE, G. D. et al. Study methods, recruitment, socio-demographic findings and demographic representativeness in the OPPERA study. **Pain**, v. 12, n. 11, p. 1–28, 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. **Journal of Pain**, v. 14, n. 12 SUPPL., p. T116–T124, 2013a.

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 : official journal of the American Pain Society**, v. 14, n. 12 Suppl, p. T20-32.e1–3, dez. 2013b.

SLADE, G. D. et al. COMT Diplotype Amplifies Effect of Stress on Risk of Temporomandibular Pain. **Journal of dental research**, v. 94, n. 9, p. 1187–1195, set. 2015.

SLADE, G. D. et al. Painful Temporomandibular Disorder: Decade of Discovery from OPPERA Studies. **Journal of Dental Research**, v. 95, n. 10, p. 1–9, 2016.

SMITH, M. T.; HAYTHORNTHWAITE, J. A. How do sleep disturbance and chronic pain inter-relate? Insights from the longitudinal and cognitive-behavioral clinical trials literature. **Sleep medicine reviews**, v. 8, n. 2, p. 119–132, abr. 2004.

SMITH, S. B. et al. Potential Genetic Risk Factors for Chronic TMD: Genetic Associations from the OPPERA Case Control Study. **J Pain**, v. 12, p. 1–21, 2011.

SMITH, S. B. et al. Genetic variants associated with development of TMD and its intermediate phenotypes: the genetic architecture of TMD in the OPPERA prospective cohort study. **J Pain**, v. 14, n. 12 0, p. 1–20, 2013.

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**, v. 34, n. 4, p. 353–363, 2020.

SOMMER, C. Serotonin in pain and analgesia: actions in the periphery. **Molecular neurobiology**, v. 30, n. 2, p. 117–125, out. 2004.

SPANO, V. E. et al. Increased somatosensory amplification is associated with decreased pressure pain thresholds at both trigeminal and extra-trigeminal locations in healthy individuals. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 48, n. 1, p. 10–17, 2021.

SPROUSE, J. S.; AGHAJANIAN, G. K. Electrophysiological responses of serotoninergic dorsal raphe neurons to 5-HT1A and 5-HT1B agonists. **Synapse (New York, N.Y.)**, v. 1, n. 1, p. 3–9, 1987.

SULLIVAN, M. J. et al. Theoretical perspectives on the relation between catastrophizing and pain. **The Clinical journal of pain**, v. 17, n. 1, p. 52–64, mar. 2001.

SULLIVAN, M. J. L.; BISHOP, S.; PIVIK, J. The Pain Catastrophizing Scale: Development and Validation. **Psychological Assessment**, v. 7, p. 524–532, 1995.

SUVINEN, T. I. et al. 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, n. 6, p. 613–633, 2005.

SVENSSON, P.; KUMAR, A. Assessment of risk factors for oro-facial pain and recent developments in classification: implications for management. **Journal of oral**

rehabilitation, v. 43, n. 12, p. 977–989, dez. 2016.

SZETO, C. Y. et al. Association between mu opioid receptor gene polymorphisms and Chinese heroin addicts. **Neuroreport**, v. 12, n. 6, p. 1103–1106, maio 2001.

TENHUNEN, J. et al. Structure of the rat catechol-O-methyltransferase gene: separate promoters are used to produce mRNAs for soluble and membrane-bound forms of the enzyme. **DNA and cell biology**, v. 12, n. 3, p. 253–263, abr. 1993.

TENHUNEN, J. et al. Genomic organization of the human catechol O-methyltransferase gene and its expression from two distinct promoters. **European journal of biochemistry**, v. 223, n. 3, p. 1049–1059, ago. 1994.

TOUR, J. et al. Gene-to-gene interactions regulate endogenous pain modulation in fibromyalgia patients and healthy controls—antagonistic effects between opioid and serotonin-related genes. **Pain**, v. 158, n. 7, p. 1194–1203, 2017.

TOUSIGNANT-LAFLAMME, Y.; MARCHAND, S. Excitatory and inhibitory pain mechanisms during the menstrual cycle in healthy women. **Pain**, v. 146, n. 1–2, p. 47–55, nov. 2009.

TREEDE, R.-D. D. et al. Neuropathic pain: Redefinition and a grading system for clinical and research purposes. **Neurology**, v. 70, n. 18, p. 1630–1635, abr. 2008.

TREISTER, R. et al. Association between polymorphisms in serotonin and dopamine-related genes and endogenous pain modulation. **Journal of Pain**, v. 12, n. 8, p. 875–883, 2011.

TREISTER, R.; PUD, D.; EISENBERG, E. The dopamine agonist apomorphine enhances conditioned pain modulation in healthy humans. **Neuroscience letters**, v. 548, p. 115–119, ago. 2013.

UDDIN, Z.; MACDERMID, J. C. Quantitative Sensory Testing in Chronic Musculoskeletal Pain. **Pain medicine (Malden, Mass.)**, v. 17, n. 9, p. 1694–1703, set. 2016.

UGURLU, M. et al. Validity of Turkish form of pain catastrophizing scale and modeling of the relationship between pain-related disability with pain intensity, cognitive, and emotional factors. **Psychiatry and Clinical Psychopharmacology**, v. 27, n. 2, p. 189–196, 2017.

UHL, G. R.; SORA, I.; WANG, Z. The mu opiate receptor as a candidate gene for pain: polymorphisms, variations in expression, nociception, and opiate responses. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 14, p. 7752–7755, jul. 1999.

VAEGTER, H. B. et al. **Endogenous Modulation of Pain: The Role of Exercise, Stress, and Cognitions in Humans**. [s.l: s.n.]. v. 36

VARGAS-ALARCON, G. et al. Catechol-O-methyltransferase gene haplotypes in Mexican and Spanish patients with fibromyalgia. **Arthritis research & therapy**, v. 9, n. 5, p. R110, 2007.

VELLY, A. M. et al. The effect of catastrophizing and depression on chronic pain--a

prospective cohort study of temporomandibular muscle and joint pain disorders. **Pain**, v. 152, n. 10, p. 2377–2383, out. 2011.

VON KORFF, M. Assessment of chronic pain in epidemiological and health services research: Empirical bases and new directions. In: **Handbook of pain assessment, 3rd ed.** New York, NY, US: The Guilford Press, 2011. p. 455–473.

WANG, M. et al. Meta-Analysis of the COMT Val158Met Polymorphism in Major Depressive Disorder: Effect of Ethnicity. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, v. 11, n. 3, p. 434–445, 2016.

WEINSHILBOUM, R. M. Pharmacogenomics: catechol O-methyltransferase to thiopurine S-methyltransferase. **Cellular and molecular neurobiology**, v. 26, n. 4–6, p. 539–561, 2006.

WOO, J.-M.; YOON, K.-S.; YU, B.-H. Catechol O-methyltransferase genetic polymorphism in panic disorder. **The American journal of psychiatry**, v. 159, n. 10, p. 1785–1787, out. 2002.

WRIGHT, A. R. et al. Biopsychosocial differences between high-risk and low-risk patients with acute TMD-related pain. **Journal of the American Dental Association (1939)**, v. 135, n. 4, p. 474–483, abr. 2004.

WU, S.; COMINGS, D. E. A common C-1018G polymorphism in the human 5-HT1A receptor gene. **Psychiatric genetics**, v. 9, n. 2, p. 105–106, jun. 1999.

YANG, G. et al. Somatosensory abnormalities in Chinese patients with painful temporomandibular disorders. **Journal of Headache and Pain**, v. 17, n. 31, p. 1–11, 2016.

YARNITSKY, D. et al. **Recommendations on terminology and practice of psychophysical DNIC testing.European journal of pain**England, abr. 2010.

YARNITSKY, D. et al. Recommendations on practice of conditioned pain modulation (CPM) testing. **European journal of pain**, v. 19, n. 6, p. 805–806, jul. 2015.

ZIGMOND, A. S.; SNAITH, R. P. The Hospital Anxiety and Depression Scale. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 67, n. 6, p. 361–370, 1983.

ZUBIETA, J. et al. COMT val158met Genotype Affects μ-Opioid Neurotransmitter Responses to a Pain Stressor. **Science**, v. 299, p. 1240–1243, 2003.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Tabela de características da amostra.

	Grupo Controle ***n* = 85**	**Grupo DTM** ***n* = 95**	**Valor de *p***
	Mediana (intervalo interquartil)	Mediana (intervalo interquartil)	
Idade	32,65 (8,66)	39,19 (11,1)	< 0,0001*
Caracterização Psicossocial			
PSS - Estresse	24 (10)	30 (11)	< 0,0001*
HADS - Ansiedade	7 (5)	9 (6)	< 0,0001*
HADS – Depressão	3 (4)	7 (5)	< 0,0001*
PSQI - Sono	6 (5)	9 (7)	< 0,0001*
PCS – Catastrofização da Dor	15 (16)	28 (16)	< 0,0001*
Perfil Somatossensorial - Músculo Masseter			
PPT	1,75 (1,32)	1,41 (1,01)	0,007
MPT	51,50 (100)	4,21 (18,47)	< 0,0001*
WUR	1,8 (1,29)	1,6 (1,09)	0,705
CPM	-0,0017 (0,6)	0,14 (1,01)	0,018
Perfil Somatossensorial - Mão			
PPT	4,63 (2,33)	4,27 (2,18)	0,164
MPT	66,03 (177)	5,77 (31,31)	< 0,0001*
WUR	1,8 (1,15)	1,54 (0,74)	0,318
CPM	-0,23 (1,29)	0,02 (1,04)	0,028

Teste de Mann Whitney U; $p<0,003$ = * estatisticamente significante.

Apêndice B – Tabela de frequência do genótipo para cada SNP

Gene	**SNP**	**Grupo Controle** ***n* = 85**		**Grupo DTM** ***n* = 95**		***p***
		Genótipos		Genótipos		
		Ancestral	Polimórfico	Ancestral	Polimórfico	
COMT	rs4680	GG	GA + AA	GG	GA + AA	
	n (%)	26 (30,6)	59 (69,4)	38 (40,0)	57 (60,0)	0,214

Apêndice B – Tabela de frequência do genótipo para cada SNP

(Continuação e Conclusão)

Gene	SNP	Grupo Controle *n* = 85		Grupo DTM *n* = 95		Valor de *p*
COMT	rs4818	GG	GC + CC	GG	GC + CC	
	n (%)	7 (8,2)	78 (91,8)	15	80 (84,2)	0,171
COMT	rs4633	CC	CT + TT	CC	CT + TT	
	n (%)	27 (31,8)	58 (68,2)	35 (36,8)	60 (63,2)	0,531
HTR1A	rs6295	GG	GC + CC	GG	GC + CC	
	n (%)	28 (32,9)	57 (67,1)	33 (34,7)	62 (65,3)	0,875
HTR1B	rs6296	CC	CG + GG	CC	CG + GG	
	n (%)	55 (64,7)	30 (35,3)	42 (44,2)	53 (55,8)	0,007
OPRM1	rs1799971	AA	AG + GG	AA	AG + GG	
	n (%)	63 (74,1)	22 (25,9)	60 (64,9)	35 (36,8)	0,148
SCN9A	rs6746030	GG	GA + AA	GG	GA + AA	
	n (%)	69 (81,2)	16 (18,8)	75 (78,9)	20 (21,1)	0,852

Teste Exato de Fisher; p<0,006 = * estatisticamente significante.

Apêndice C – Tabela apresentando média e desvio padrão dos testes sensoriais para os grupos com genótipos polimórficos e ancestrais para cada polimorfismo

	Grupo Polimórfico *n* = 85		Grupo Ancestral *n* = 95	
	Média ± DP	95% IC	Média ± DP	95% IC
COMT gene – rs4818				
Perfil Somatossensorial - Músculo Masseter				
PPT	1,7 ± 0,8	1,6 – 1,9	1,7 ± 0,9	1,5 – 1,9
MPT	71,8 ± 111,1	51,4 – 92,2	45,1 ± 92,2	22,1 – 68,1
WUR	2,0 ± 1,5	1,7 – 2,3	2,1 ± 1,2	1,7 – 2,3
CPM	0,1 ± 0,8	-0,0 – 0,2	0,2 ± 0,7	0,1 – 0,4
Perfil Somatossensorial - Mão				
PPT	4,6 ± 1,6	4,3 – 4,9	4,3 ± 1,6	3,9 – 4,7
MPT	88,2 ± 125,2	65,1 – 111,2	73,3 ± 112,8	45,10 – 101,5
WUR	1,9 ± 1,4	1,7 – 2,2	2,0 ± 1,5	1,7 – 2,5
CPM	0,0 ± 1,2	-0,2 – 0,2	-0,1 ± 1,0	-0,3 – 0,2
COMT gene – rs4680				

Apêndice C – Tabela apresentando média e desvio padrão dos testes sensoriais para os grupos com genótipos polimórfico e ancestrais para cada polimorfismo

(Continuação)

	Grupo Polimórfico ***n* = 85**		**Grupo Ancestral** ***n* = 95**	
	Média ± DP	95% IC	Média ± DP	95% IC
COMT gene – rs4818				
Perfil Somatossensorial - Músculo Masseter				
PPT	1,8 ± 0,9	1,6 – 1,9	1,5 ± 0,4	1,5 – 1,3
MPT	67,1 ± 110,8	49,7 – 84,5	27,9 ± 35,8	12,1 – 43,9
WUR	2,0 ± 1,4	1,8 – 2,2	2,3 ± 1,4	1,7 – 2,9
CPM	0,2 ± 0,8	0,0 – 0,3	-0,0 ± 0,7	-0,3 – 0,3
Perfil Somatossensorial - Mão				
PPT	4,5 ± 1,6	4,3 – 4,8	4,2 ± 1,6	3,5 – 4,9
MPT	87,4 ± 124,8	67,7 – 107,0	50,5 ± 82,0	14,1 – 86,8
WUR	1,9 ± 1,5	1,7 – 2,2	2,1 ± 0,9	1,7 – 2,5
CPM	0,0 ± 1,2	-0,1 – 0,2	-0,3 ± 0,7	-0,6 – -0,0
COMT gene – rs4633				
Perfil Somatossensorial - Músculo Masseter				
PPT	1,7 ± 0,8	1,6 – 1,9	1,8 ± 0,9	1,5 – 2,0
MPT	67,8 ± 107,8	48,2 – 87,5	51,8 ± 100,4	26,3 – 77,3
WUR	2,0 ± 1,5	1,7 – 2,3	2,0 ± 1,2	1,7 – 2,3
CPM	0,1 ± 0,8	-0,0 – 0,2	0,2 ± 0,7	0,0 – 0,4
Perfil Somatossensorial - Mão				
PPT	4,5 ± 1,6	4,3 – 4,8	4,4 ± 1,7	3,9 – 4,8
MPT	84,9 ± 123,9	62,3 – 107,5	79,1 ± 115,6	49,7 – 108,4
WUR	1,9 ± 1,5	1,7 – 2,2	2,0 ± 1,5	1,6 – 2,4
CPM	-0,00 ± 1,1	-0,2 – 0,2	-0,04 ± 1,1	-0,3 – 0,2
HTR1A gene – rs6295				
Perfil Somatossensorial - Músculo Masseter				
PPT	1,8 ± 0,8	1,6 – 1,9	1,7 ± 0,9	1,4 – 1,9
MPT	65,7 ± 107,9	46,1 – 85,3	55,77 ± 100,4	30,0 – 81,5
WUR	2,1 ± 1,6	1,8 – 2,4	1,8 ± 0,9	1,6 – 2,1
CPM	0,1 ± 0,8	-0,0 – 0,2	0,3 ± 0,7	0,1 – 0,4

Apêndice C – Tabela apresentando média e desvio padrão dos testes sensoriais para os grupos com genótipos mutados e ancestrais para cada polimorfismo

(Continuação)

	Grupo Polimórfico ***n* = 85**		**Grupo Ancestral** ***n* = 95**	
	Média ± DP	95% IC	Média ± DP	95% IC
HTR1A gene – rs6295				
Perfil Somatossensorial - Mão				
PPT	4,5 ± 1,7	4,1 – 4,8	4,6 ± 1,4	4,2 – 4,9
MPT	78,2 ± 107,8	58,6 – 97,8	92,0 ± 143,5	55,3 – 128,7
WUR	2,1 ± 1,6	1,8 – 2,4	1,7 ± 0,9	1,4 – 1,9
CPM	-0,02 ± 1,1	-0,2 – 0,2	-0,0 ± 1,1	-0,3 – 0,3
HTR1B gene – rs6296				
Perfil Somatossensorial - Músculo Masseter				
PPT	1,7 ± 0,8	1,5 – 1,8	1,8 ± 0,9	1,6 – 2,0
MPT	63,1 ± 115,7	37,8 – 88,4	61,6 ± 96,1	42,2 – 81,0
WUR	1,9 ± 1,1	1,6 – 2,1	2,1 ± 1,5	1,8 – 2,5
CPM	0,2 ± 0,7	0,0 – 0,3	0,1 ± 0,8	-0,0 – 0,3
Perfil Somatossensorial - Mão				
PPT	4,3 ± 1,6	4,0 – 4,7	4,6 ± 1,6	4,3 – 5,0
MPT	76,3 ± 113,4	51,6 – 101,1	88,5 ± 127,2	62,8 – 114,1
WUR	2,0 ± 1,5	1,6 – 2,3	2,0 ± 1,4	1,7 – 2,3
CPM	0,1 ± 1,1	-0,1 – 0,3	-0,1 ±1,1	-0,3 – 0,1
OPRM1 gene - rs1799971				
Perfil Somatossensorial - Músculo Masseter				
PPT	1,7 ± 0,9	1,5 – 2,0	1,7 ± 0,8	1,7 – 1,6
MPT	61,3 ± 100,1	34,7 – 87,8	62,8 ± 108,0	43,8 – 82,1
WUR	2,0 ± 1,1	1,7 – 2,3	2,0 ± 1,5	1,7 – 2,3
CPM	0,3 ± 0,6	0,1 – 0,4	0,1 ± 0,8	-0,0 – 0,2
Perfil Somatossensorial - Mão				
PPT	4,4 ± 1,5	4,0 – 4,8	4,5 ± 1,7	4,2 – 4,8

Apêndice C – Tabela apresentando média e desvio padrão dos testes sensoriais para os grupos com genótipos polimórfico e ancestrais para cada polimorfismo

(Conclusão)

	Grupo Polimórfico ***n* = 85**		**Grupo Ancestral** ***n* = 95**	
	Média ± DP	95% IC	Média ± DP	95% IC
OPRM1 gene - rs1799971				
Perfil Somatossensorial - Mão				
MPT	93,6 ± 139,2	56,6 – 130,5	77,9 ± 111,6	58,0 – 97,8
WUR	1,9 ± 0,8	1,6 – 2,1	2,0 ± 1,7	1,7 – 2,3
CPM	0,0 ± 1,0	-0,3 – 0,3	-0,0 ± 1,2	-0,2 – 0,2
SCN9A gene - rs6746030				
Perfil Somatossensorial - Músculo Masseter				
PPT	1,8 ± 1,0	1,4 – 2,2	1,7 ± 0,8	1,6 – 1,8
MPT	87,2 ± 141,6	39,3 – 135,1	56,1 ± 93,7	40,6 – 71,5
WUR	1,8 ± 1,2	1,4 – 2,2	2,1 ± 1,4	1,8 – 2,3
CPM	0,11 ± 1,1	-0,2 – 0,5	0,16 ± 0,7	0,0 – 0,3
Perfil Somatossensorial - Mão				
PPT	4,7 ± 1,5	4,2 – 5,2	4,4 ± 1,7	4,2 – 4,7
MPT	103,2 ± 136,6	56,9 – 149,4	77,8 ± 116,6	58,6 – 97,0
WUR	1,9 ± 1,7	1,3 – 2,5	2,0 ± 1,4	1,7 – 2,2
CPM	-0,0 ± 1,4	-0,4 – 0,4	-0,0 ± 1,1	-0,2 – 0,1

DP: Desvio Padrão; IC: Intervalo de Confiança

ANEXOS

ANEXO A – Carta de aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa da FOB-USP

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU DA USP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

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

Pesquisador: FLAVIA FONSECA CARVALHO SOARES

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 82201818.3.0000.5417

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Bauru

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.566.795

Apresentação do Projeto:

Informa a pesquisadora que a disfunção temporomandibular (DTM) representa um conjunto de condições que envolvem, principalmente, os músculos mastigatórios e a articulação temporomandibular (ATM). O diagnóstico de DTM dolorosa acomete entre 7-8% da população, com uma incidência anual em torno de 4%. Etiologias singulares, historicamente associadas com predisposição ou desencadeamento da DTM, não possuem solidez científica, sendo que diversos fatores, e.g., distúrbios do sono, hábitos orais, estresse, sintomas de ansiedade e de depressão, características sensoriais, indicadores de saúde geral e perfil genético cooperam no que se convencionou denominar de modelo biopsicossocial de etiologia da DTM. Entretanto, apesar dos importantes avanços na catalogação desses diversos fatores, os mecanismos de inter-relação dessa complexa equação multifatorial ainda carecem de maiores investigações. Estudos recentes têm indicado a influência tanto de polimorfismos genéticos quanto de fatores ambientais na DTM. Evidências prévias têm mostrado uma associação significativa entre polimorfismos genéticos nos genes do receptor opioide (OPRM1), transportador de serotonina (SLC6A4), receptor de serotonina 1A (HTR1A) e COMT, com fenótipos intermediários relacionados à sensibilidade somática e modulação da dor em pacientes com dores crônicas musculoesqueléticas. Entretanto, não há estudos publicados que avaliem a relação entre interações de polimorfismos genéticos, fatores psicossociais e o perfil somatossensorial mecânico e modulação de dor de forma sistemática, em pacientes com DTM dolorosa.Portanto, o presente estudo tem como objetivo principal avaliar se a

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

ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

Departamento de Ciências Biológicas

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O (A) Sr/Sra. está sendo convidado a participar da pesquisa "INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS NO PERFIL SOMATOSSENSORIAL MECÂNICO E NA MODULAÇÃO DA DOR" com orientação do Professor Leonardo Rigoldi Bonjardim. Esta pesquisa tem com objetivo avaliar a influência de fatores genéticos na percepção da dor em indivíduos com dores na face e em indivíduos saudáveis por meio de testes de sensibilidade. Você também passará por exames que constarão de questionários que medem o perfil psicológico, além de testes de sensibilidade. Os questionários aplicados para avaliação psicológica fornecerão informações sobre qualidade do sono, sintomas de ansiedade e depressão, catastrofização da dor e estresse percebido. Já a avaliação de sensibilidade será realizada no músculo da face e na região da palma da mão para que possamos avaliar sua percepção de dor por meio de testes de de sensibilidade tais como de pressão, de toque, de dor e de temperatura quente. Para todos os exames serão utilizados equipamentos amplamente seguros. No entanto, há de se considerar um risco mínimo e algum possível desconforto durante a realização dos testes de sensibilidade. A avaliação do (a) Sr./Sra. com esta sequência de testes e exames pode ser benéfica, pois podemos diagnosticar algum tipo de alteração neurológica e/ou muscular mastigatória. Uma vez diagnosticada alguma destas alterações, você será orientado a buscar um serviço especializado de acordo com o problema encontrado. Todos os exames serão realizados em apenas uma sessão ou no máximo em duas sessões e terão a duração média de sessenta minutos. Nenhuma dessas avaliações trará qualquer tipo de dano físico (apenas um pequeno desconforto relacionado ao teste de sensibilidade como relatado anteriormente), moral ou material para o (a) Sr/Sra. As informações fornecidas serão mantidas confidenciais, respeitando sua privacidade. Os resultados obtidos serão analisados e publicados em meios de informação científicos, sem a sua identificação, de qualquer forma. O (A) Sr/Sra. não terá nenhum gasto ou ganho financeiro por participar na pesquisa e também não correrá risco algum além de um leve incomodo proveniente dos testes realizados, bem como não haverá qualquer ressarcimento. Você é livre para deixar de participar a qualquer momento sem nenhum prejuízo. Caso não concorde em participar desta pesquisa, sua vontade será respeitada, seu nome será preservado e você não será penalizado física ou psicologicamente por isso, pois não é de nosso interesse causar constrangimentos ou danos à sua imagem. Caso haja algum dano decorrente de sua participação nesta pesquisa, será-lhe garantido o direito à indenização. Uma via deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você e outra conosco. Qualquer dúvida a respeito da pesquisa poderá entrar em contato com Flavia Fonseca Carvalho Soares, email: flaviafcsoares@gmail.com, telefone (14) 2106-6108. Para reclamações e denúncias faça contato pelo Comitê de Ética e Pesquisa desta faculdade pelo telefone (14) 3235-8356 ou e-mail: cep@fob.usp.br.

Rubrica do Pesquisador Responsável

Rubrica do Participante da Pesquisa

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
e-mail: drolivei@fob.usp.br – Fone/FAX (0xx14) 3235-8271
http://www.fob.usp.br

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

Departamento de Ciências Biológicas

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o (a) Sr. (a) _____, portador da cédula de identidade _____, após leitura minuciosa das informações constantes neste TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO, devidamente explicada pelos profissionais em seus mínimos detalhes, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, DECLARA e FIRMA seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO concordando em participar da pesquisa proposta. Fica claro que o participante da pesquisa, pode a qualquer momento retirar seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO e deixar de participar desta pesquisa e ciente de que todas as informações prestadas tornar-se-ão confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional (Art. 9º do Código de Ética Odontológica).

Por fim, como pesquisador(a) responsável pela pesquisa, DECLARO o cumprimento do disposto na Resolução CNS nº 466 de 2012, contidos nos itens IV.3 e IV.4, este último se pertinente, item IV.5.a e na íntegra com a resolução CNS nº 466 de dezembro de 2012.Por estarmos de acordo com o presente termo o firmamos em duas vias igualmente válidas (uma via para o participante da pesquisa e outra para o pesquisador) que serão rubricadas em todas as suas páginas e assinadas ao seu término, conforme o disposto pela Resolução CNS nº 466 de 2012, itens IV.3.f e IV.5.d.

Bauru, SP, _____ de _____ de _____.

_____ _____

Participante da Pesquisa ***Pesquisador Responsável***

Flávia Fonseca Carvalho Soares

O **Comitê de Ética em Pesquisa – CEP**, organizado e criado pela **FOB-USP**, em 29/06/98 (**Portaria GD/0698/FOB**), previsto no item VII da Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (publicada no DOU de 13/06/2013), é um Colegiado interdisciplinar e independente, de relevância pública, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.
Qualquer denúncia e/ou reclamação sobre sua participação na pesquisa poderá ser reportada a este CEP:

Horário e local de funcionamento:
Comitê de Ética em Pesquisa
Faculdade de Odontologia de Bauru-USP - Prédio da Pós-Graduação (bloco E - pavimento superior), de segunda à sexta-feira, no horário das **14 às 17 horas**, em dias úteis.
Alameda Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75
Vila Universitária – Bauru – SP – CEP 17012-901
Telefone/FAX(14)3235-8356
e-mail: cep@fob.usp.br

ANEXO C – Ficha clínica de avaliação clínica e psicossocial

Sujeito de Pesquisa nº _____

Data: Nome do Paciente: ____

Telefone: Idade: Nascimento: Estado Civil:

Profissão: Membro Dominante: ( ) D ( ) E

Avaliação Clínica História da Doença Atual

Início: Local: Principal:_____

Frequência/Duração:_____

Intensidade:_____

Qualidade: _____

	Sim	Não
Distúrbios sistêmicos não controlados (diabetes, hipertensão ou distúrbios endócrinos)		
Alterações congênitas ou de desenvolvimento (aplasia, hiperplasia, displasia ou neoplasias)		
Comorbidades Dolorosas (Fibromialgia, cefaleia, dor cervical, dor de dente, sinusite, otite, etc)		
Comorbidades Não-Dolorosas (Ansiedade, Depressão, estresse, etc)		
Neuropatias		
Tratamentos prévios para dor		
Presença de hábitos Orais e/ou Atividade Parfuncional (bruxismo, morder objetos, etc)		
Uso contínuo de medicamentos		
Outros_____		

Intensidade da dor facial no momento (0 – 100) :

ANEXO D – Questionário da Escala de Estresse Percebido (PSS, sigla em inglês):

As questões nesta escala perguntam sobre seus senti- mentos 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 freqüencia...						
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

ANEXO E – Questionário da 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' =	

ANEXO F - 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 últim 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 questões.

5. Durante o último mês, com que freqüência 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 ( )03 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 freqüência, 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

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

( )Muito boa ( )Boa ( )Ruim ( )Muito ruim

6. Durante o último mês, com que freqüência 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

7. No último mês, com que freqüência 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

8. 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

ANEXO G – Questionário de Escala de Catastrofização da Dor (PCS, na sigla em inglês)

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