

Universidade de São Paulo

Instituto de Ciências Biomédicas

Inaeh de Paula Oliveira

Caracterização da prevalência da dor neuropática em voluntários diabéticos, validação de instrumentos de rastreamento da dor e correlação com neuropatologia cutânea

São Paulo

2020

Inaeh de Paula Oliveira

Caracterização da prevalência da dor neuropática em voluntários diabéticos, validação de instrumentos de rastreio da dor e correlação com neuropatologia cutânea

Entrega da dissertação ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Sistemas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Anatomia

Orientadora: Prof.^a Dra. Camila Squarzoni Dale

Versão Original

São Paulo

2020

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e informação Biomédica
do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Ficha Catalográfica elaborada pelo(a) autor(a)

de Paula Oliveira, Inaeh
Caracterização da prevalência da dor neuropática
em diabetes, validação de instrumentos de rastreio
da dor e correlação com neuropatologia cutânea /
Inaeh de Paula Oliveira; orientador Camila
Squarzoní Dale. -- São Paulo, 2020.
98 p.

Dissertação (Mestrado)) -- Universidade de São
Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas.

1. Neuropatia Diabética. 2. Teste Quantitativo
Sensorial. 3. Fibras Nervosas Intraepidérmicas. 4.
Perfis de Dor. 5. Sensibilidade Exteroceptiva. I.
Squarzoní Dale, Camila , orientador. II. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato(a): Inaeh de Paula Oliveira

Título da Dissertação: Caracterização da prevalência da dor neuropática em diabetes, validação de instrumentos de rastreamento da dor e correlação com neuropatologia cutânea.

Orientador(a): Prof.(a) Dr(a) Camila Squarzoni Dale

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Dissertação, de Mestrado realizada em ___/___/___, considerou o(a) candidato(a):

() Aprovado(a) () Reprovado(a)

Examinado(a): Assinatura:

Nome:

Instuição:

Examinado(a): Assinatura:

Nome:

Instuição:

Examinado(a): Assinatura:

Nome:

Instuição:

Presidente: Assinatura:

Nome:

Instuição:



Cidade Universitária "Armando de Sales Oliveira", Butantã, São Paulo, SP - Av. Professor Lineu Prestes, 2415 - ICB III - 05508-000
Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos - Telefone (11) 3091-7733 - e-mail: cep@icb.usp.br

São Paulo, 22 de março de 2018.

PARECER 1382/CEPSH

CAAE nº 85121318.2.0000.5467

Protocolo CEPSH-ICB nº 1426/18

O Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos do ICB, nesta data, **APROVOU** o projeto intitulado: "*Caracterização da prevalência da dor neuropática em pacientes diabéticos diabetes, validação de instrumentos de rastreio da dor, correlação com neuropatologia cutânea, correlação com polimorfismo do gene para TNF alfa e avaliação efeito da terapia com fotobiomodulação*", da pesquisadora Profa. Dra. **Camila Squarzoni Dale**.

Caberá à pesquisadora elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios anuais (parciais e final) de acordo com a Resolução nº 466/12, item II, II.19 e II.20, do Conselho Nacional de Saúde, conforme modelo constante no site: www2.icb.usp.br/icb/cepsb, como também finalizar o processo junto à Plataforma Brasil quando do encerramento deste projeto. O primeiro relatório deverá ser enviado, via Plataforma Brasil, até **22/03/2019**.

Atenciosamente,

Prof. Dra. **REGINA SCIVOLETTO**
Coordenadora 2 do Comitê de Ética em
Pesquisas com Seres Humanos - ICB/USP



USP - INSTITUTO DE
CIÊNCIAS BIOMÉDICAS DA
UNIVERSIDADE DE SÃO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização da prevalência da dor neuropática em pacientes diabéticos diabetes, validação de instrumentos de rastreio da dor, correlação com neuropatologia cutânea, correlação com polimorfismo do gene para TNF alfa e avaliação efeito da terapia com fotobiomodulação

Pesquisador: Camilla Squarzoni Dale

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 85121318.2.0000.5467

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.556.808

Apresentação do Projeto:

O projeto está bem apresentado, embasado em farta literatura especializada. Os Objetivos são claros e bem definidos. A hipótese é viável. O planejamento experimental e os métodos são adequados para atingir os objetivos e são de domínio do grupo proponente. Os critérios e inclusão e exclusão dos participantes estão explicitados. Os riscos são mínimos e os benefícios, ainda que indiretos, são relevantes.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo do projeto é determinar os diferentes perfis sensoriais criando um fenótipo de sinais e sintomas capazes de diferenciar populações distintas de pacientes diabéticos com o mesmo diagnóstico inicial. Avaliar o efeito terapêutico da fotobiomodulação sobre a sensibilidade dolorosa e padrão de cicatrização de feridas de pacientes diabéticos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os riscos são mínimos e são aqueles associados à coleta de sangue periférico e à realização da biópsia de pele. Todos os outros procedimentos de avaliação sensorial não causam dor e nem desconforto de qualquer tipo.

Benefícios: Pode contribuir para o avanço do conhecimento acerca da neuropatia diabética (dolorosa ou não) e neuropatologia cutânea e da terapia por fotobiomodulação como uma terapia alternativa

Endereço: Av. Profº Lineu Prestes, 2415

Bairro: Cidade Universitária

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7733

CEP: 05.508-000

E-mail: cep@icb.usp.br



USP - INSTITUTO DE
CIÊNCIAS BIOMÉDICAS DA
UNIVERSIDADE DE SÃO



Continuação do Parecer: 2.556.808

Ausência	TCLE.pdf	13/03/2018 11:46:28	Camila Squarzoni Dale	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao.pdf	09/03/2018 14:50:06	Camila Squarzoni Dale	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	07/03/2018 16:16:17	Camila Squarzoni Dale	Aceito
Folha de Rosto	Folha.pdf	07/03/2018 16:10:26	Camila Squarzoni Dale	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 22 de Março de 2018

Assinado por:
Regina Scivoletto
(Coordenador)

Endereço: Av. Profº Lineu Prestes, 2415

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7733

E-mail: cep@icb.usp.br

Dedicatória

Dedico este trabalho à minha mãe Cleusa, exemplo de coragem e perseverança, às minhas irmãs Nayara e Thaina por nunca me deixarem desistir. Ao Lucas, por todo companheirismo e cumplicidade na luta diária.

Agradecimentos

À Deus por responder minhas orações, me dando coragem para chegar até aqui.

À minha orientadora, Prof. Camila Squarzoni Dale a qual tenho imenso carinho e admiração, que acreditou em mim e me orientou com sabedoria e zelo. Obrigada pela oportunidade, por todas as discussões científicas e desafios que me tornam hoje uma profissional melhor.

Aos voluntários, que participaram dessa pesquisa com bons olhos a fim de contribuir com a ciência.

À minha querida amiga e parceira na coleta de dados, Victória Oliveira que tornou tudo mais simples e agradável ao dividir comigo todas as experiências, alegrias e angústias no hospital e do laboratório.

À minha querida amiga Elizamara Gonçalves, que me apresentou o laboratório e esteve ao meu lado em todos os momentos.

Aos meus colegas de laboratório, Heloísa Matielo Beatriz Eng, Giancarlo Giunti, Elia Vedda, Vichor Teixeira, Elaine Flávia, João Ferrara obrigada por tornarem a jornada mais leve ao compartilharem todas as experiências diárias com discussões científicas produtivas e sempre alegres.

Ao Prof. Britto do departamento de Fisiologia e Biofísica do ICB-USP, por compartilhar o laboratório e todo o seu conhecimento.

Ao meu amigo Adilson Silva, do departamento de Fisiologia e Biofísica do ICB-USP, obrigada pela paciência em ensinar e corrigir, pelo conhecimento fornecido, sempre com muito carinho.

Ao Prof. Daniel Ciampi e ao Grupo de Dor da FMUSP, por todas as discussões e ensinamentos nas análises de dados.

Ao Prof. Helder Nakaya e Deney Araújo, por nos ajudarem com a análise de dados, sempre muito solícitos.

Ao Prof. Yossi Zana e ao Pedro Bronze da UFABC, que nos ajudou a enriquecer o trabalho com novo horizonte em análise dados.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Sistemas, todos meus colegas e funcionários do Instituto de Ciências Biomédicas, que de alguma forma fizeram parte dessa jornada, tornando-a muito agradável

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida, permitindo assim a realização desse trabalho.

Obrigada!

*“Não sou nada.
Nunca serei nada
Não posso querer ser nada.
À parte isso, tenho em mim todos os sonhos do mundo”*
(Álvaro de Campos, 1928)

Resumo

De Paula-Oliveira, I. **Caracterização da prevalência da dor neuropática em voluntários diabéticos, validação de instrumentos de rastreamento da dor e correlação com neuropatologia cutânea.** 98 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Sistemas- Área de Concentração: Ciências Morfofuncionais) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

A neuropatia diabética (ND) é uma das complicações mais comuns do diabetes, atingindo cerca de 50% dos pacientes portadores da doença. Dentre os diversos sintomas da ND, destaca-se o desenvolvimento de dor crônica, que acomete principalmente as extremidades dos membros, manifestando-se como respostas exacerbadas para estímulos sensoriais. Os tratamentos convencionais disponíveis para a neuropatia, incluindo a dor associada, ainda são inadequados, e insatisfatórios, e beneficiam apenas uma pequena parcela dos pacientes. O que sugere que estes indivíduos sejam heterogêneos, pois apresentam variedades distintas de sintomas sensoriais e qualidades nociceptivas, que impedem o correto diagnóstico de sua comorbidade sensorial e conseqüentemente, o tratamento adequando de suas algias. Dessa forma, delinear os dados epidemiológicos e clínicos existentes, bem como conjuntos de sintomas sensoriais característicos da doença, pode ser de grande valia para o direcionamento de tratamentos mais adequados e específicos a estes pacientes. O projeto teve como objetivo determinar os perfis sensoriais de pacientes diabéticos por meio da aplicação de questionários e realização do teste quantitativo sensorial. Os resultados aqui obtidos demonstram que 70% da amostra estudada apresentou algum tipo de dor, manifestando-se de forma neuropática ou nociceptiva, sendo que ela traz um impacto negativo na vida dos voluntários com DM, demonstrados pela associação positiva entre sentir dor e sintomas de ansiedade e depressão, além da presença de pensamentos catastróficos sobre dor. Foi possível detectar também os três perfis distintos na amostra, sendo pacientes eles, pacientes sem dor, pacientes com dor leve ou moderada e pacientes com dor severa, estes separados de acordo os sintomas de dor. Ainda, através da biópsia de pele, pode-se observar que os voluntários apresentaram um avançado comprometimento sensorial, como consequência da degeneração das fibras nervosas periféricas amielínicas e mielinizadas. O estudo reforça a importância do acompanhamento clínico dos pacientes com diagnóstico de DM a longo prazo, a fim de conhecê-los quanto aos seus perfis de sintomas e sensibilidade exteroceptiva.

Palavras chave: neuropatia diabética periférica, teste quantitativo sensorial, fibras nervosas intraepidérmicas

Abstract

De Paula-Oliveira, I. **Caracterização da prevalência da dor neuropática em voluntários diabéticos, validação de instrumentos de rastreamento da dor e correlação com neuropatologia cutânea.** 98 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Sistemas- Área de Concentração: Ciências Morfofuncionais) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Diabetic neuropathy (DN) is one of the most common complications of diabetes, affecting about 50% of patients with the disease. Among the various symptoms of DN, the development of chronic pain, which occurs mainly in the extremities of the limbs, manifesting as exacerbated responses to sensorial stimuli. The conventional treatments available for general neuropathy, including associated pain, are still inadequate, unsatisfactory, and benefit only a small portion of patients, suggesting that these individuals are heterogeneous and present both distinct varieties of sensory symptoms and nociceptive qualities, which prevents the correct diagnosis of its sensory comorbidity and consequently, the appropriate treatment of its pain. Thus, delineating the typical epidemiological and clinical data, as well as the characteristic sensory symptom sets for each disease entity, can be of great value in directing the most used and specific treatment for these patients. Furthermore, this knowledge may be important for the design of future clinical trials and for the development of commonly used drugs for patients who are not yet using the appropriate drugs currently available. The study aims to determine the different sensory profiles through the application of questionnaires and the realization of the quantitative sensory test in diabetic patients. The results obtained here demonstrate that 70% of the studied sample presented some type of pain, manifesting in a neuropathic or nociceptive way, and it has a negative impact on the life of volunteers with DM, demonstrated by the positive association between feel pain and symptoms of anxiety and depression, in addition there was the presence of catastrophic thoughts about pain. It was also possible to detect the three distinct profiles in the sample, patients without pain, patients with mild or moderate and patients with severe pain, these separated according to the symptoms of pain. Also, through skin biopsy, it can be seen that the additional volunteers have an advanced sensory impairment, as a consequence of the degeneration of the myelinated and myelinated peripheral nerve fibers. The study reinforces the importance of clinical monitoring of patients diagnosed with DM in the long term, in order to know them regarding their symptom profiles and exteroceptive sensitivity.

Key-words: Peripheral diabetic neuropathy, quantitative sensory test, intraepidermal nervous fiber

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	29
Figura 2	31
Figura 3	38
Figura 4	40
Figura 5	41
Figura 6	43
Figura 7	47
Figura 8	51
Figura 9	53
Figura 10.....	54
Figura 11.....	58
Figura 12.....	60
Figura 13.....	63
Figura 14.....	64

Lista de tabelas

Tabela 1.....	39
Tabela 2.....	42
Tabela 3.....	45
Tabela 4.....	46
Tabela 5.....	50
Tabela 6.....	56
Tabela 7.....	57
Tabela 8.....	62

LISTA DE SÍMBOLOS

%- porcentagem

°C- graus Celsius

mN – Milinewton

β - Beta

δ - Delta

K⁺- Potássio

Na⁺- Sódio

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- ABEP** – Associação Brasileira de Estudos Populacionais
- ALO** – Alodínia dinâmica
- ANOVA**- Análise de Variância
- AUDIT** - *Alcohol Use Disorders Identification Test*
- CCEB** - Critério de Classificação Econômica Brasil
- CEPSH** - Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos
- CPME** - Coluna Posterior da Medula Espinal
- CGRP**- Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina
- DM** – Diabetes *Mellitus*
- DM1** – Diabetes *Mellitus* Tipo 1
- DM2** – Diabetes *Mellitus* Tipo 2
- DN** – Dor Neuropática
- DNo**- Dor Nociceptiva
- DN4** – Questionário de Dor Neuropática 4
- DNP** – Dor Neuropática Periférica
- DP** – Desvio Padrão
- EHAD**- Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão
- EPCSD** – Escala de Pensamentos Catastróficos sobre Dor
- EPM** – Erro Padrão da Média
- ERC**- Eliminação Retrógrada de Características
- EVA** – Escala Visual Analógica
- Fem.**- Feminino
- FNIE** – Fibra Nervosa Intraepidérmica
- IASP** – International Association for the Study of Pain
- IBD** – Inventário Breve de Dor
- IC**- Intervalo de Confiança
- IL-1 β** – interleucina 1 β
- IL-6**- Interleucina 6
- ISDN**- Inventário dos Sintomas de Dor Neuropática
- KNN**- *K-Nearest Neighbors*
- LDeF** – Limiar de Detecção ao Frio
- LDeQ** – Limiar de Detecção ao Quente

LDoF- Limiar de Dor ao frio
LDoM – Limiar de Dor Mecânica
LDoQ- Limiar de Dor ao Quente
Masc.- Masculino
MEEM – Mini Exame de Estado Mental
ND – Neuropatia Diabética
NMDA - N-metil D-aspartato
NPD – Neuropatia Periférica Diabética
OCT- *Optimal cutting temperature compound*
OR- *Odds Ratio*
PB – *Phosphate Buffer* (Tampão Fosfato)
PFA- paraformaldeído
PGP 9.5 - *Protein gene product 9.5*
ROS- *Reactive Oxygen Species* (Espécies Reativas de Oxigênio)
SBD – Sociedade Brasileira de Diabetes
SD- Sem dor
SNC – Sistema Nervoso Central
SNP – Sistema Nervoso Periférico
Supra F- Supra limiar de dor ao frio
Supra M- Supra limiar de dor ao estímulo mecânico
Supra Q- Supra limiar de dor ao quente
SPSS – *Statistical Package for the Social Sciences*
SVM – *Support Vector Machine*
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TLR4- Toll-like Receptor4 (Receptor do tipo Toll 4)
TNF- α – fator de necrose tumoral - α
TQS – Teste Quantitativo Sensorial
WHO - *World Health Organization*
WUP- *Wind Up*

Sumário

1.1 Dor	19
1.2 Dor Neuropática	20
1.3 Diabetes <i>Mellitus</i> e Neuropatia Diabética.....	22
1.4 Neuropatia Diabética e acometimento das fibras intraepidérmicas.....	24
2 Justificativa	25
3 Objetivo Geral	26
3.1 Objetivos Específicos.....	26
4 Materiais e Métodos	27
4.1 Desenho do estudo	27
4.2 Critérios de inclusão.....	27
4.3 Critérios de não inclusão.....	27
4.4 Avaliação sociodemográfica	28
4.5 Teste Quantitativo da Sensibilidade (TQS).....	28
4.5.1 Avaliação Mecânica por Monofilamentos de Von Frey	28
4.5.2 Avaliação de sensibilidade térmica por estimulador térmico de dor.....	30
4.6 Avaliação instrumentalizada	32
4.6.1 Avaliação sociodemográfica.....	32
4.6.2 Inventário Breve de Dor (IBD).....	32
4.6.3 Questionário de dor neuropática 4 (DN4)	32
4.6.4 Questionário Breve de Dor McGill	32
4.6.5 Inventário de Sintomas de Dor Neuropática (ISDN)	32
4.6.6 Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão (EHAD)	33
4.6.7 Escala de Pensamento Catastrófico sobre a Dor (EPCSD).....	33
4.6.8 AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test).....	33
4.6.9 Mini- Exame do Estado Mental (MEEM)	33
4.7 Biópsia de pele e Ensaio de Imunofluorescência	34

4.8 Análise dos Resultados	35
4.9 Aspectos Éticos.....	36
5 Resultados	37
5.1 Dados epidemiológicos	37
5.2 Perfil sensorial	39
5.3 Dor, ansiedade e depressão	55
5.3 Imunohistoquímica para Fibras Intraepidérmicas	59
5.4 Análise de grupos através do aprendizado supervisionado: DN4 e McGill	61
6 Discussão	65
8. Referências Bibliográficas	73
9. Anexos.....	81
Anexo A - Critério de Classificação Econômica – ABEP.....	81
Anexo B – Inventário Breve de Dor	81
Anexo C – DN4.....	84
Anexo D – Questionário McGill Forma Breve.....	85
Anexo E – Inventário de Sintomas de Dor Neuropática	86
Anexo F – Escala de Hospitalar de Ansiedade e Depressão	88
Anexo G – Escala de Pensamentos Catastróficos sobre a dor	89
Anexo H – AUDIT	90
Anexo I– Mini Exame do Estado Mental	91
Apêndices*	92

1 Introdução

1.1 Dor

A dor tem um importante papel de proteção do nosso organismo. A capacidade de senti-la nos adverte contra possíveis danos teciduais iminentes ou reais, além de gerar respostas reflexas e comportamentais para conter danos (WOOLF, 1995). Dor é uma condição multifatorial e de entendimento complexo, sendo definida pela *International Association fo the Study of Pain* (IASP) nos últimos anos como “Experiencia sensorial e emocional desagradável, associada ou semelhante à um dano real ou potencial dos tecidos” (RAJA et al, 2020).

Fisiologicamente, o fenômeno sensitivo-doloroso se inicia através da transformação de estímulos ambientais, sejam eles físicos ou químicos, em potenciais de ação, que através das fibras nervosas periféricas conduzem o sinal para o sistema nervoso central (TEIXEIRA et al, 2001). A transformação do estímulo elétrico é chamada de transdução e ocorre por meio dos nociceptores presentes em tecidos sejam eles superficiais, profundos ou viscerais, que apresentam terminações nervosas livres de alto limiar de ativação que levam a informação em direção ao sistema nervoso central (SNC).

O corpo celular desses neurônios está localizado nos gânglios da coluna posterior da medula espinal (CPME) e suas ramificações centrais terminam de uma maneira altamente organizada. Os neurônios aferentes que transmitem distintas modalidades sensoriais terminam em lâminas diferentes (Lâminas I, II, III e IV), havendo uma forte relação da organização anatômica com o processamento da informação. A modulação do estímulo doloroso ocorre através da comunicação dos neurônios aferentes primários com os de segunda ordem na CPME que ascendem para o tálamo onde se comunicam com os neurônios de terceira ordem que se projetam para o córtex sensorial (KANDEL et al, 2014; KUNER; FLOR, 2017; SCHAIBLE; RICHTER, 2004).

Existem diversas maneiras para descrever a dor. De forma temporal, a dor pode ser classificada como aguda ou crônica. No entanto esses conceitos podem ser subjetivos, uma vez que a dor aguda é definida como de início recente, de duração limitada e diretamente relacionada a uma lesão ou a um processo patológico (MCKUNE et al, 2015; MACINTYRE et al., 2010).

No caso de dor crônica, ela persiste ou recorre, além do período esperado de três meses, mesmo após a cura de uma doença. Está diretamente relacionada a processos inflamatórios

crônicos, doenças neurodegenerativas ou danos decorrentes de lesões neurais, sendo capaz de se manifestar de forma espontânea ou através de estímulos exógenos gerando uma resposta exagerada em duração e amplitude (KLAUMANN; WOUK; SILLAS, 2008; MCKUNE et al.; 2015; COSTIGAN; SCHOLZ; WOOLF; 2009).

A dor pode ser classificada quanto aos seus mecanismos fisiopatológicos, podendo ser fisiológica (nociceptiva), disfuncional (nociplástica) ou patológica. A dor fisiológica apresenta uma resposta natural frente a uma lesão tecidual, caracterizando um evento agudo e transitório com o propósito de manter a homeostase (de OLIVEIRA-ALVES et al., 2017). A dor nociplástica ocorre mesmo sem evidência clara de danos reais ou potenciais dos tecidos, que leva a ativação de nociceptores periféricos, ou quando há evidências ou lesões do sistema nervoso somatossensorial (AYDEDE; SHRIVER, 2018). No caso da dor patológica, a mesma pode surgir em diversos tecidos, podendo ser classificada como dor inflamatória, que envolve estruturas somáticas e viscerais. Também pode ser classificada como dor neuropática, que ocorre após uma lesão, disfunção do sistema nervoso ou por alterações dinâmicas no processamento da informação proveniente do estímulo nocivo (HELLYER et al., 2007).

1.2 Dor Neuropática

A dor neuropática (DN) se caracteriza por um quadro doloroso em formigamento, choques elétricos, queimação, sensação de compressão e frio doloroso, sendo definida como: dor causada por lesão ou doença do sistema nervoso somatossensorial que abrange uma ampla variedade de distúrbios centrais e periféricos (BOUHASSIRA, 2019). Além de hiperalgesia, hiperpatias, alodínia, hipostesia e hipoalgesia, que são sensações que trazem um grande impacto negativo sobre a vida dos pacientes (TREEDE et al., 2008).

As neuropatias ocorrem após lesões em estruturas do sistema nervoso periférico ou central, que envolvem a participação de diversos mediadores inflamatórios que desempenham papéis importantes na iniciação, manutenção e mediação da dor. Sendo que, a liberação de fatores pró-inflamatórios, como interleucina 1 β (IL-1 β) e o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), quando sustentados continuamente, originarão o que é chamado de sensibilização periférica. Neste processo, as fibras aferentes primárias liberam mediadores químicos, como substância P e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), que promovem a vasodilatação e extravasamento de proteínas plasmáticas, além do recrutamento de células inflamatórias, que levam a ativação das fibras de dor sensoriais primárias.

Contudo, a sensibilização periférica não é o único fenômeno responsável por todas as mudanças observadas da dor neuropática, sendo que o envolvimento do sistema nervoso central, implica em alterações dos impulsos periféricos, com adaptações que podem ser positivas com o surgimento das novas funções neuronais ou negativas com a perda de alguma função do neurônio, e que geram o processo chamado de sensibilização central (KUNER; FLOR, 2017; LAURETTI, 2008). Esses acontecimentos podem desencadear a redução do limiar de excitação dos neurônios, o aumento da resposta aos impulsos aferentes, descargas persistentes após estímulos repetidos e ampliação dos campos receptivos de neurônios da CPME, que contribuem na instauração da dor neuropática (CALVO; DAWES, BENNETT, 2012; ZHAO et al., 2017; KLAUMANN, WOUK, SILLAS, 2008; ROCHA et al., 2007).

Dentre os diversos fenômenos observados na sensibilização central, ocorre o “*Wind Up*” onde potenciais elétricos decorrentes das descargas ectópicas ativam receptores específicos, como o receptor N-metil D-aspartato (NMDA), nos neurônios da CPME estimulando a liberação de neurotransmissores excitatórios, contribuindo assim para o aumento da resposta dolorosa (LAMONT; TRANQUILLI, 2000.; KLAUMAN; WOUK; SILLAS, 2008).

A dor neuropática periférica (DNP) ocorre após lesões ou disfunção no sistema nervoso periférico (SNP), decorrentes de traumas mecânicos, drogas neurotóxicas como quimioterápicos, infecções ou até mesmo por doenças metabólicas, como o Diabetes *Mellitus* (DM) (WOOLF; MA, 2007; CAMPBELL; MEYER, 2013). Tais lesões, provocam nos indivíduos sensações de dor severas e constantes, caracterizadas principalmente por dor espontânea em forma de queimação, dor em resposta a estímulos não dolorosos (alodínea) e resposta atenuada a estímulos dolorosos (hiperalgesia), além da presença de parestesias, que são sensações evocadas ou espontâneas (CEUSTERS, 2014), como formigamento ou dormência (KAPUR, 2003). A dor com características neuropáticas atinge em cerca de 70% da população geral, sendo que a grande maioria dos tratamentos farmacológicos destinados à ND é direcionada ao bloqueio da neurotransmissão, como é o caso dos antidepressivos tricíclicos e anticonvulsivantes, o que em geral limita sua eficácia, visto que os processos de sensibilização periférica e central continuam presentes, sensibilizando e ativando os neurônios da via nociceptiva (VAN HECKE et al., 2014).

1.3 Diabetes *Mellitus* e Neuropatia Diabética

O diabetes *Mellitus* (DM) é uma doença metabólica de caráter multifatorial, de alta prevalência, caracterizada por hiperglicemia crônica e disfunções no metabolismo de lipídeos, carboidratos e proteínas. É consequência de problemas na secreção e/ou ação da insulina e lesão, em longo prazo, diversos órgãos, podendo em última instância, provocar sua falência e, em casos extremos, a morte (ALBERTI; ZIMMET, 1998). De acordo com a *International Diabetes Federation* o DM é uma doença de alta importância em saúde pública e sua incidência e prevalência vêm aumentando cada vez mais, (IDF, 2020).

As principais causas de morbidades do DM, consistem nas complicações crônicas que surgem em decorrência da doença e da hiperglicemia prolongada, que incluem a retinopatia, nefropatia, neuropatia e acometimento vascular (BRUNTON; KNOLLMANN, 2018). Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO), a DM pode ser classificada em quatro subtipos etiológicamente distintos, Diabetes *Mellitus* tipo 1 (DM1), DM tipo 2 (DM2), diabetes gestacional e pré-diabetes (WHO, 2006). Clinicamente, a DM assume majoritariamente as formas tipos 1 (DM1) e DM2, sendo a primeira resultante da destruição das células β -pancreáticas decorrentes de fenômenos autoimunes. Já o DM2 está atrelada a um complexo estado insulino-resistente com um déficit da secreção ou ação da insulina (LESLIE et al., 2008; GUELHO, PAIVA; CARVALHEIRO, 2013).

O DM é, mundialmente, a causa mais comum de neuropatia, atingindo cerca de 50% dos pacientes diabéticos (BOULTON et. al., 2005; FELDMAN et. al., 2005, TOTH et. al., 2010). Entretanto, essa prevalência pode aumentar significativamente, chegando a valores próximos a 100% de acometimento, quando utilizados métodos diagnósticos de maior sensibilidade, como os eletrofisiológicos, que são voltados para avaliação da condução nervosa. (DYCK et al., 1985; MULDER et al., 1961; SANDS et al., 1997; YOUNG et al., 1993). Em pacientes com diabetes tipo 2 (DM2), pode-se detectar precocemente um distúrbio neurológico na evolução da doença, muitas vezes, até mesmo no momento do diagnóstico. Entretanto, em pacientes com diabetes tipo 1 (DM1) a detecção de um distúrbio neurológico ocorre geralmente após cinco anos ou mais após o diagnóstico (BOULTON et al 2005).

As neuropatias dolorosas se desenvolvem após uma lesão ou doença que afeta o sistema nervoso somatossensorial (TREEDE et al., 2008). A neuropatia periférica diabética (NPD), é uma doença neurodegenerativa única do sistema nervoso periférico, acometendo principalmente os axônios periféricos, e possui um padrão chamado de “bota e luva”, pois

reflete os danos nos axônios sensoriais mais longos e distais e precede os danos nos membros mais proximais, tornando a ND uma condição comprimento-dependente (FELDMAN et al., 2019).

Tal degeneração ocorre porque os neurônios, que não estão adaptados ao metabolismo dos ácidos graxos como as outras células (hepatócitos e fibras musculares), necessitam de um suprimento de glicose constante e se sustentam apenas com a captação de glicose desencadeada pela sinalização da insulina. Assim, sua nutrição por glicose ocorre de forma proporcional aos níveis extracelulares e, em casos de hiperglicemia severa, os níveis de glicose podem aumentar em até quatro vezes a concentração intracelular, alterando o balanço químico dos neurônios (TOMLINSON; GARDINER, 2008).

O acometimento neuropático dos pacientes é geralmente precoce e de alta prevalência, a maioria constituindo-se em triopatia diabética – oftalmo, nefro e neuropatia – sendo um importante problema de saúde, que ocasiona morbidade, mortalidade e piora significativamente a qualidade de vida por incapacitação e diminuição de sobrevida. (SBD 2014/2015). Sabe-se que o controle glicêmico inadequado, assim como a duração do diabetes, são fatores diretamente relacionados com o desenvolvimento da ND (BOULTON et al., 2005). Nesse sentido, já foi demonstrado em estudos prospectivos que o controle metabólico do diabetes reduz a frequência e a intensidade da lesão neurológica (CROFFORD, 1995; STEVENS; BROWN; MCGAHAN, 1995). No entanto, os mecanismos por trás do desenvolvimento da dor crônica são ainda pouco claros (CHENG et al., 2010; TOTH et al., 2010).

Em geral o acometimento do sistema nervoso é muito amplo, envolvendo todo o sistema nervoso periférico em seus componentes sensoriomotor e autonômico. No entanto, o perfil de anormalidades sensoriais pode variar entre as diferentes entidades, ou ainda entre os pacientes individualmente. Por exemplo, alguns pacientes podem manifestar dor espontânea, parestesias e choques, enquanto em outros a área corporal afetada apresenta-se sensível à temperatura ou ao toque, sugerindo que o perfil individual de sintomas sensoriais reflita diretamente nos mecanismos envolvidos na geração de dor (BARON et al., 2017).

Foi observado experimentalmente que em nervos periféricos de pacientes com ND, a presença de infiltrado inflamatório, composto de macrófagos e linfócitos T e B (DYCK; GIANNINI, 1996), além da degeneração axonal (THOMAS; TOMLINSON, 1993) e desmielinização segmental em decorrência de disfunções das células de Schwann (JOHNSON, RYALS; WRIGHT, 2007), acarretando uma menor capacidade da regeneração (CAMERON; COTTER, 1997).

Conseqüentemente, observa-se uma redução da inervação epidermal, redução da amplitude nos potenciais de ação do nervo sensorial e menor velocidade de condução (JOHNSON, RYALS; WRIGHT, 2007). As habilidades motoras e sensoriais dos pacientes acometidos pela ND são significativamente comprometidas (BARRET et al., 2007; CAO et al., 2010; RONDÓN et al., 2010 e SAID, 2007).

Não se estabeleceu um consenso preciso sobre os mecanismos envolvidos na hiperalgesia e alodínia na neuropatia periférica, mas relatos presentes na literatura demonstram que posterior a um dano em axônios sensoriais há um aumento da excitabilidade dos neurônios de primeira ordem, que exerce um papel crítico no desenvolvimento da dor (HONG et al., 2004; JAGODIC et al., 2007). Embora a degeneração nervosa, a hiperatividade dos neurônios, os déficits de fatores neurotróficos e a isquemia decorrente de distúrbios vasculares tenham sido apontados como responsáveis pelo desenvolvimento e manutenção da ND, as terapias disponíveis até o momento ainda são pouco eficazes, conferindo o alívio da dor apenas para uma pequena parcela de pacientes (BARRET et al., 2007; BOULTON, 2005; TESFAYE; KEMPLER, 2005; VINIK, 1999).

1.4 Neuropatia Diabética e acometimento das fibras intraepidérmicas

Os órgãos periféricos como a pele e outras estruturas subcutâneas, apresentam, entre outros receptores sensoriais, como os mecanorreceptores que medeiam o tato e estímulos inócuos, são fibras mielinizadas e de condução rápida, representadas pelas fibras A β . Há também os nociceptores, classificados como: térmicos, mecânicos e polimodais (EBNEZER, POLYDEFKIS, 2014).

Os nociceptores térmicos e mecânicos são terminações periféricas de axônios de pequeno diâmetro e pouco mielinizados, denominados de fibras A δ , de condutibilidade lenta (de 5 a 30m/s) que são ativados por temperaturas extremas (em geral mais de 45°C ou menos de 65°C) ou através de pressão intensa sobre a pele. Já os nociceptores polimodais, chamados de fibras C, são encontrados nos terminais dos axônios amielínicos de pequeno diâmetro e de condução lenta (0,5 a 2 m/s), e podem ser ativados por estímulos intensos térmicos, mecânicos ou químicos (KANDEL, et al., 2014; LAURIA, et al, 1999; EBÉNEZER, 2014).

Na neuropatia diabética o envolvimento é predominante das fibras A β , A δ e C, presentes na epiderme, conhecidas também como fibras nervosas intraepidérmicas (FNIE). Estudos apontam que há uma diminuição da densidade dessas fibras, devido a intolerância à glicose que se intensifica com o tempo de duração da doença (SOMMER; 2003).

2 Justificativa

A neuropatia periférica é a complicação de longa duração mais comum no diabetes, sendo extremamente incapacitante para os pacientes (SAID, 2007), e sabe-se que existem diferentes perfis sensoriais entre os pacientes com ND, que estão associados a dor e a capacidade de resposta para a analgesia (RAPUTOVA et al, 2017). Porém, não há estudos suficientes que classifiquem tais fenótipos de dor, inclusive no Brasil. O conhecimento dessas diferenças pode ser de grande importância para se classificar perfis sensoriais e de sintomas, que permitam uma melhor compreensão dos mecanismos de dor dessa população, dado que pode ser de grande valia para diferenciar populações distintas de pacientes com o mesmo diagnóstico inicial.

A compreensão dos perfis de pacientes com DM e dor pode auxiliar no melhor direcionamento para um tratamento mais eficaz, e assim, proporcionar aos pacientes o alívio necessário. O tratamento personalizado para a dor ainda está no início, mas a correlação entre fenótipos e mecanismos de dor pode ser uma possibilidade para se encontrar tratamentos mais específicos aos pacientes refratários que ainda não se beneficiam com a terapêutica disponível. Para tanto, compreender os mecanismos patofisiológicos ocorridos no sistema somatossensorial após lesão neural, como na definição de fenótipos individuais para dor, é uma possibilidade de correlacionar o diagnóstico da doença ao mecanismo e conseqüentemente seu tratamento.

3 Objetivo Geral

Caracterizar a prevalência da dor neuropática em voluntários diabéticos por meio da validação de instrumentos de rastreio da dor, estabelecimento de correlação com neuropatologia cutânea e determinação de perfis sensoriais.

3.1 Objetivos Específicos

- i)* Caracterizar a presença/ausência de síndromes dolorosas em pacientes diabéticos por meio da aplicação de questionários validados da literatura para avaliação de dor, dor neuropática, ansiedade e depressão e avaliação da sensibilidade térmica e mecânica avaliado pelo teste quantitativo sensorial (TQS);
- ii)* Correlacionar as síndromes dolorosas com a sensibilidade exteroceptiva, propioceptiva e avaliação quantitativa das fibras intraepidérmicas através de biópsia de pele dos pacientes com Diabetes *Mellitus*;
- iii)* Análise dos perfis sensoriais de dor e correlação com o TQS;
- iv)* Uso de métodos de aprendizado supervisionado para identificar variáveis preditivas para dor.

4 Materiais e Métodos

4.1 Desenho do estudo

O presente estudo é de caráter quantitativo, descritivo e transversal, e conta com uma amostra de 57 voluntários diagnosticados com diabetes, e estes foram acompanhados no ambulatório de feridas do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo. Os pacientes foram informados sobre o estudo e convidados a participar, e uma vez assinado o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), os voluntários incluídos no estudo foram submetidos a uma avaliação clínica, constituída pelo preenchimento de questionários para avaliação da dor, ansiedade e depressão. Em seguida, os pacientes realizaram o teste quantitativo sensorial (TQS) e foram submetidos a uma biópsia de pele (realizada por cirurgião vascular) de 5mm na região sural, para correlação com neuropatologia cutânea.

Também foi utilizado um banco de dados de voluntários não diabéticos (n=123) submetidos ao TQS, oriundos de uma colaboração com o Grupo de Dor Do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

4.2 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo pacientes com idade entre 18 e 65 anos, com diagnóstico firmado de qualquer forma de diabetes, com ausência de qualquer quadro psiquiátrico e que tenham concordado em participar do estudo e assinado o TCLE.

4.3 Critérios de não inclusão

Não foram aceitos para participar do estudo indivíduos com uso abusivo de álcool ou drogas, indivíduos que não compreenderam o termo de consentimento ou que possuíssem alguma dificuldade cognitiva para responder aos questionários e indivíduos com amputação total de membro.

4.4 Avaliação sociodemográfica

Foram anotados sexo, idade e cor da pele pelos critérios do Instituto Brasileiro de Geografia e estatística (IBGE, 2010) e escala sócio econômica pelo Critério de Classificação Econômica Brasil (CCEB) da Associação Brasileira de Estudos Populacionais (ABEP, 2011) (Anexo A).

4.5 Teste Quantitativo da Sensibilidade (TQS)

Esta avaliação foi feita através do método psicofísico que quantifica os fenômenos positivos e negativos da sensibilidade exteroceptiva transmitida pelas fibras finas ou grossas do sistema nervoso periférico, possibilitando determinar os limiares de detecção e dor a estímulos mecânicos e a térmicos. Essa ferramenta permite também detectar a ocorrência de hiperalgesia ou hiperpatia (ARENDDT-NIELSEN; YARNITSKY, 2009; SIVIERO et al., 2010).

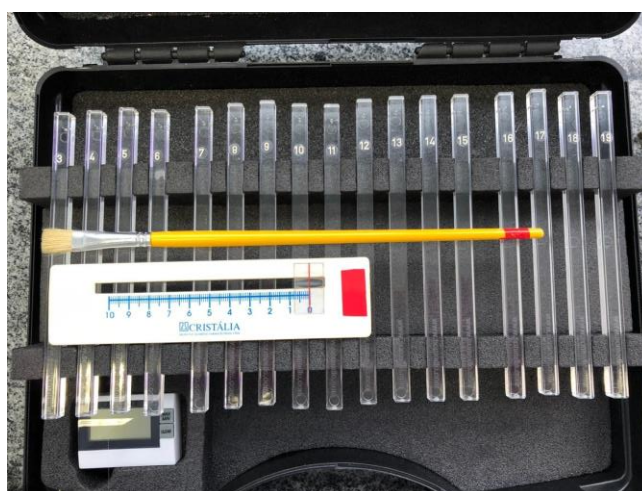
4.5.1 Avaliação Mecânica por Monofilamentos de Von Frey

Os limiares de detecção mecânica (LDeM) e de dor mecânica (LDoM) definidos como a menor pressão que gerou sensação de dor, foram mensurados com o uso do monofilamento de von Frey calibrados de 0.00025 mN a 1.079 N (Somedic AB, Horby, Sweden; **Figura 1**). Os monofilamentos de náilon foram aplicados perpendicularmente à superfície da pele, durante cerca de um segundo até o início da sua deformação, com os pacientes de olhos fechados. A avaliação foi iniciada com o filamento de menor graduação. A resposta afirmativa significou percepção do filamento. Se o filamento utilizado não foi sentido, o filamento com graduação imediatamente superior foi usado. O resultado da avaliação foi expresso como o do primeiro filamento percebido, o que significa que os demais filamentos, (com limiar inferior), não foram percebidos pelo paciente. Foram necessárias duas respostas positivas, em três toques, para considerar a percepção válida.

Para verificar a presença de alodínia dinâmica (ALO), foi utilizado um inócuo (pincel), realizando uma leve escovação por aproximadamente 10 segundos na área estudada, mensurado o aumento da intensidade da dor através da escala visual analógica (EVA) (SVENSSON, et al., 2011).

O teste de Somação temporal que busca verificar o mecanismo psicofísico do *Wind-up* (WUP), que é uma estimulação repetitiva e constante na área avaliada. A somação de estímulos, foi obtida através da comparação de um único estímulo, verificando a presença de dor através da EVA e posteriormente com a repetição de 10 estímulos seguidos, mensurando a intensidade de dor também pela EVA. Nesse processo foi utilizando o Filamento de *Von Frey* de força de 166.7 N, e a intensidade final de dor, foi calculada pela razão da intensidade de dor dos 10 estímulos divididos pelo único estímulo prévio (ROLKE et al., 2006). O teste foi aplicado na mão e pé esquerdo de acordo com o protocolo.

Figura 1- Monofilamentos de von Frey, Filamentos de nailón calibrados de 0,00025 N a 1079,0 N (Somedic AB, Horby, Sweden).



Fonte: Autor (2020)

4.5.2 Avaliação de sensibilidade térmica por estimulador térmico de dor

O aparelho utilizado, o *Neurosensory Analyzer Model TSA-II* (**Figura 2**), tem a finalidade de quantificar os exames das sensibilidades térmicas na prática clínica. O teste se inicia com a temperatura do estimulador (termodo) na faixa de adaptação térmica (31°C a 36°C). A percepção do estímulo quente ou frio e de dor aos estímulos quentes ou frios foi determinada a partir do aumento ou diminuição da temperatura do termodo. Este exame de foi realizado em todos os pacientes em um membro inferior (pé esquerdo) e o membro superior do lado correspondente (mão). No momento do teste os pacientes foram posicionados sentados em cadeira confortável em uma sala silenciosa durante a avaliação.

O teste foi aplicado na mão e pé esquerdo de acordo com o protocolo padronizado de TQS, e os pacientes não tiveram contato visual com a região avaliada. Os voluntários foram instruídos a pressionar um botão ao perceberem a mudança de temperatura, para a obtenção dos limiares de detecção ao quente (LDeQ) e ao frio (LDeF). Quando o estímulo gerado representou no paciente o início da dor, estes valores foram registrados como os limiares de dor ao quente (LDoQ) e ao frio (LDoF). Em todos os casos foram empregados o método dos limites.

O resfriamento e o aquecimento foram realizados de acordo com a variação linear de detecção de 1°C/s a partir da temperatura inicial neutra de 32°C. O termodo de contato (20x35mm) foi removido suavemente da área de ensaio depois de cada estimulação. As temperaturas não excederam 50°C para os estímulos quentes e 0°C para os frios. Os valores de três ensaios foram computados, sendo os limiares térmicos expressos como os valores da temperatura absoluta.

Os estímulos supralimiais (Supra Q e Supra F) também foram analisados, iniciando-se com o estímulo quente (hiperalgesia térmica ao quente), sendo a temperatura aumentada de acordo com taxa linear de 2°C/s a partir de temperatura inicial neutra de 32°C, mantida de forma constante durante 2s para dois valores diferentes de temperatura (46°C e 48°C).

A intensidade da dor experimental foi sinalizada em uma escala visual analógica (EVA) e graduada de 0 a 100 mm. Os estímulos infralimiais ao frio (hiperalgesia ao frio) consistiram na diminuição da temperatura a partir de 32°C a 10°C e 5°C com a velocidade de 2°C/s. Sendo consideradas as médias das duas pontuações da EVA obtidas durante os estímulos supralimiais ao quente (46°C e 48°C) e os estímulos infralimiais ao frio (10°C e 5°C).

Figura 2- Fotografia do aparelho VSA- 3000/TSA-2001 (Medoc, Ramat Yshai, Israel), utilizado para realizar os testes quantitativos de sensibilidade térmica.



Fonte: Thanos Science Co Ltda, 2020

4.6 Avaliação instrumentalizada

4.6.1 Avaliação sociodemográfica

Foi empregada a escala sócio econômica pelo Critério de Classificação Econômica Brasil (CCEB) da Associação Brasileira de Estudos Populacionais (ABEP, 2011) (Anexo A).

4.6.2 Inventário Breve de Dor (IBD)

Instrumento de curta duração para aferir a intensidade e a localização da dor, assim como os tratamentos em uso para alívio e qual é a interferência que a dor na vida dos pacientes em uma escala de zero a dez (FERREIRA et al., 2011) (Anexo B).

4.6.3 Questionário de dor neuropática 4 (DN4)

Ferramenta de rastreio para dor neuropática que consiste em dois aspectos. A primeira é um levantamento de sintomas, seguido por testes de sinais clínicos. A pontuação é assinalada de um ponto para cada item positivo e zero para cada item negativo, e o total é de dez pontos. Um resultado igual ou maior que quatro pontos sugerem dor neuropática (SANTOS et al., 2010) (Anexo C).

4.6.4 Questionário Breve de Dor McGill

Caracteriza a dor pelo uso de 15 descritores agrupados em três grupos: 8 sensitivos, 5 afetivos e 2 avaliativos, com pontuação binária: presente ou ausente. (FERREIRA et al., 2011) (Anexo D).

4.6.5 Inventário de Sintomas de Dor Neuropática (ISDN)

Instrumento para detectar diferentes sintomas e dimensões da dor neuropática. São dez descritores pontuados de zero a dez com pontuação final de zero a cem (DE ANDRADE et al., 2011) (Anexo E).

4.6.6 Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão (EHAD)

Consiste em 14 itens, sendo 7 para avaliar ansiedade e 7 para depressão. Cada um dos itens é graduado de zero a três, de modo a compor pontuação máxima de 21 pontos para cada uma das escalas (CASTRO et al., 2006) (Anexo F).

4.6.7 Escala de Pensamento Catastrófico sobre a Dor (EPCSD)

Instrumento que lista 13 pensamentos ou sentimentos de caráter trágico/ catastrófico que o indivíduo pode apresentar quando com dor. Cada item é graduado de zero a quatro, de acordo com a intensidade do pensamento, compondo a pontuação máxima de 52 pontos (JUNIOR et al.; 2006) (Anexo G).

Foram empregados para a avaliação cognitiva e escolaridade:

4.6.8 AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test)

Questionário para investigação sobre o uso abusivo de álcool (SAUNDERS et al., 1993) Instrumento de avaliação desenvolvido pela *WHO* (Anexo H).

4.6.9 Mini- Exame do Estado Mental (MEEM)

Instrumento para avaliação cognitiva constituído de tarefas que pontuam de zero a trinta (FOLSTEIN; FOLSTEIN; MCHUGH, 1975; BRUCKI et al., 2003) (Anexo I).

4.7 Biópsia de pele e Ensaio de Imunofluorescência

Para a análise quantitativa e qualitativa dessas fibras, atualmente usa-se um produto gênico anti-proteico (PGP9.5) contra uma proteína citoplasmática, a hidrolase da família ubiquitina, componente dos axônios e marcador pan-axonal. (WANG et al., 1990; ZHOU et al.; 2007). Esse marcador permite o estudo quantitativo e qualitativo das fibras nervosas cutâneas, permitindo assim um estudo de fibras amielínicas e mielínicas (MYERS; PELTIER 2013).

Foi realizada nos voluntários diabéticos uma biópsia para o estudo das fibras nervosas periféricas. A coleta se iniciou após a orientação do procedimento aos pacientes, e em seguida foi retirado um fragmento de 5mm de diâmetro e extensão, e com aproximadamente 4mm de profundidade, sob anestesia local. O fragmento foi fixado em paraformaldeído e crioprotelado em sacarose 10% a 4°C de um dia para o outro.

As amostras de pele fixadas foram emblocadas em uma solução de congelamento (Optimal cutting temperature compound - OCT) para serem cortadas em micrótomo de congelação (criostato) em uma espessura de 40µm a uma temperatura de -27°C. Para o ensaio de imunofluorescência foi utilizado o seguinte protocolo: a) três lavagens de 10 minutos cada, em tampão fosfato (PB 0,1 M); b) pré-bloqueio de uma hora com solução contendo 5% de soro de cabra (NGS) e Triton X-100 0,3%; c) incubação por overnight (19 horas) à temperatura ambiente com anticorpos primários específicos com um produto gênico antiproteico (PGP) 9.5 contra uma proteína citoplasmática, a hidroxilase da família ubiquitina, componente dos axônios e marcador pan-axonal (Zytomed Systems GmbH, 1:100), acrescido de 5% de NGS, diluídos em Triton X-100 0,3%; d) três lavagens de 10 minutos cada, em PB 0,1 M; d) incubação durante 2 horas com os anticorpo secundário fluorescentes com conjugado cabra anti-coelho IgG FITC (fluoresceína isocianetada) (1:25, Sigma-Aldrich®) diluídos em Triton X-100 0,3%; e) 3 lavagens em PB 0,1 M; f) montagem sobre lâminas gelatinizadas; g) proteção com meio de montagem à base de glicerol e vedação com lamínulas e esmalte. Os cortes foram mantidos em geladeira a 4° e a imunorreatividade foi capturada em microscópio de fluorescência (Aristoplan, Leitz).

4.8 Análise dos Resultados

Foram feitas análises descritivas para variáveis quantitativas contínuas, através de médias, erro padrão da média (EPM), e desvio padrão da média (DP), para as variáveis categóricas nominais, frequências e porcentagens e analisadas estatisticamente por análise de variância (ANOVA de uma via), o índice de significância considerado foi $p < 0,05$.

Para normalização da distribuição da amostra foi utilizado o Teste Z (ou Z-score), considerando hipótese nula.

$$Z = \frac{\text{Valor dos dados} - \text{média da amostra}}{DP_{\text{amostra}}}$$

Quando os dados não apresentaram distribuição normal, utilizou-se testes não paramétricos para dados pareados: teste de Wilcoxon e, para comparação de grupos não-pareado, teste de Mann Whitney.

Para a comparação de mais de dois grupos, utilizou-se teste de Friedman para medidas repetidas e teste de Kruskal-Wallis para fatores independentes, com correção *post hoc*. O índice de significância considerado foi de $p < 0,05$

Para a elaboração dos gráficos e tabelas relacionados às respostas dos questionários (variáveis qualitativas), foram utilizados os softwares de estatística GraphPad Prism 8 TM. e SPSS Statistics 17.0.

Para o agrupamento dos dados resultantes do questionário McGill, foi aplicado o método de Jaccard nos dados binários e, em seguida, o algoritmo de Agrupamento Hierárquico e o método de Ward para a criação dos clusters.

O aprendizado supervisionado foi utilizado para as classes a partir dos resultados do DN4 e McGill. Os classificadores foram construídos a partir pelos métodos de K vizinhos próximos (*K-Nearest Neighbors*, *KNN*), Regressão Logística e Máquinas de Vetor Suporte (*Support Vector Machine*, *SVM*). As etapas de seleção de características foram baseadas no método de Eliminação Retrógrada de Características (ERC).

4.9 Aspectos Éticos

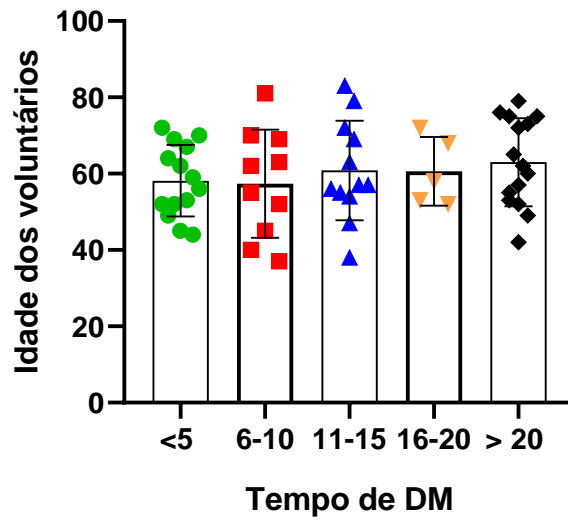
O presente projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEPSH) do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo pelo protocolo número CAA85121318.2.0000.5467. Neste projeto, a integridade ética, moral, cívica e de saúde dos pacientes participantes será mantida, de acordo com o seguimento de conduta ética relacionada à experimentação humana por parte dos pesquisadores.

5 Resultados

5.1 Dados epidemiológicos

Foram avaliados 57 voluntários sendo 29 homens (51%; média de idade: $60,86 \pm 2,621$) e 28 mulheres (49%; média de idade: $58,70 \pm 2,798$). Dos voluntários avaliados neste estudo, 53% (n=30) foram diagnosticados com diabetes há mais de 10 anos (**Figura 3**). Entre as características gerais dos voluntários (**Tabela 1**), 5% eram tabagistas, os demais 95% nunca fumaram ou não fumavam mais. Referente a doenças associadas, 61% (n=34) apresentaram hipertensão e 46% (n=26) hipercolesterolemia. Em relação a etnia, os pacientes foram questionados sobre qual etnia eles se autodeclaram, e os dados demonstram que 51% se classificaram como brancos, 28% pardos, 19% negros e apenas 2% se autodeclarou como indígena. A média da classificação socioeconômica foi de $17,98 \pm 0,737$, categoria C1 (correspondentes de 4 – 10 salários mínimos). As características de escolaridade e cognição obtidas através do MEEM conta com uma amostra de 55 pacientes, dois dos voluntários não conseguiram responder ao questionário, os dados demonstraram que 56% (n=31) da amostra apresentou alta escolaridade. Em relação ao consumo de álcool da amostra (dados do questionário AUDIT), 99% dos pacientes apresentaram baixo risco ou abstêmios para o alcoolismo sendo média da pontuação da amostra $0,68 \pm 0,33$. Os dados gerais de gênero, tabagismo e etnia foram obtidos através de uma ficha cadastral dos voluntários.

Figura 3- Tempo de Duração do DM. Levantamento dos dados cadastrais e clínicos dos pacientes (n=57) que indicam o tempo de diagnóstico do Diabetes *Mellitus* de acordo com a idade em um período de até 20 anos Sendo: DM <5 anos (27%), DM de 6 a 10 anos (18%); DM de 11 a 15 anos (22%), DM de 16 a 20 anos (25%) e DM > 20 anos (9%).



Fonte: Autor (2020)

Tabela 1- Características gerais dos voluntários obtidos através dos questionários aplicados na avaliação instrumentalizada. Dados expressos em números absolutos (n) e porcentagem (%), sendo as classificações socioeconômicas (D-E, C2, C1 E B2) segundo a ABEP. As classificações sobre o uso de abusivo de álcool de acordo com o questionário AUDIT e Escolaridade e cognição o MEEM.

Categoria	Característica	N	%
Fem.		28	49%
Msc.		29	51%
Etnia	Branco	29	51%
	Pardo	16	28%
	Negro	11	19%
	Indígena	1	2%
Tabagismo	Não fuma mais	25	43%
	Fumante	3	5%
	Nunca fumou	30	52%
Socioeconômico	D-E	26	45%
	C2	18	32%
	C1	11	20%
	B2	2	3%
Etilismo	Baixo risco ou abstinência	56	99%
	Consumo de alto risco	1	1%
Escolaridade e cognição	Analfabetismo	1	2%
	Baixa ou média escolaridade	23	42%
	Alta escolaridade	31	56%

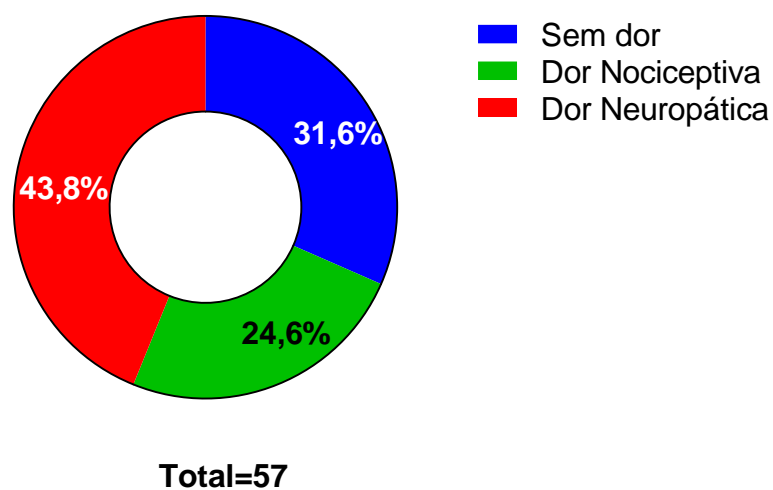
Fonte: Autor (2020)

5.2 Perfil sensorial

No que se refere ao perfil de dor destes pacientes, a análise do questionário DN4 (n=57) revelou que 44% dos pacientes apresentaram sintomas de DN e 26% dor nociceptiva, indicando

que a maior parte dos indivíduos avaliados apresentam alguma modalidade dolorosa (**Figura 4**).

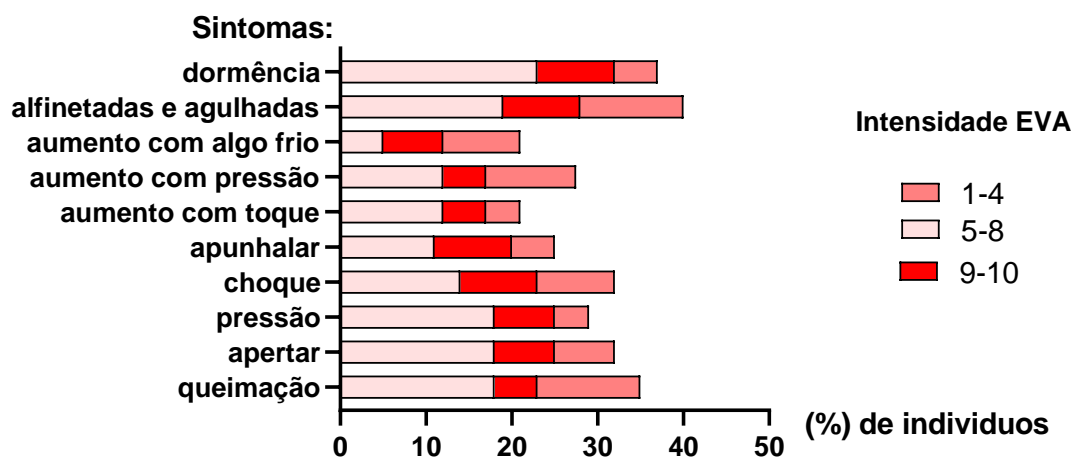
Figura 4- Prevalência de dor neuropática. A classificação do quadro clínico da doença foi feita de acordo com a pontuação individual dos pacientes de acordo com o DN4, sendo que 44% (n=25) dos pacientes apresentam sintomas característicos com dor neuropática, 26% (n=15) dos pacientes apresentam características de dor nociceptiva e 30% (n=17) da amostra não apresentou dor.



Fonte: Autor (2020)

Os sintomas de dor neuropática foram distribuídos através do ISDN (**Figura 5**), e cada descritor foi separado através dos escores dos pacientes de acordo com a intensidade dos sintomas de dor neuropática obtidos através da EVA (escores vão de 0-10), separados em grupos, os pacientes com EVA de 1 a 4, como sintomas de dor leve, de 5 a 8 sintomas de dor moderados e sintomas severos de dor, os de 9 a 10. Pudemos observar que dentre os sintomas de DN, os pacientes consideraram apunhalar (9%), choque (9%) e sensação de “apertar” como os de intensidade mais severas, os sintomas moderados, mais selecionados foram, queimação (18%), apertar (18%) e pressão (18%), choque (14%) e alfinetadas e agulhadas (19%), os sintomas leves mais selecionados pelos pacientes foram queimação (12%), aumento de dor com pressão (10%) e alfinetadas e agulhadas (12%). A prevalência desses sintomas, principalmente dos de maior intensidade, reforçam a presença de DN, na amostra estudada.

Figura 5- Inventário dos sintomas de dor neuropática. Distribuição dos sintomas de dor neuropática, de acordo com os escores da EVA, classificados em sintomas leves (1-4), sintomas moderados (5-8) e severos (9-10), com valores em porcentagens (%) de acordo com cada sintoma.



Fonte: Autor (2020)

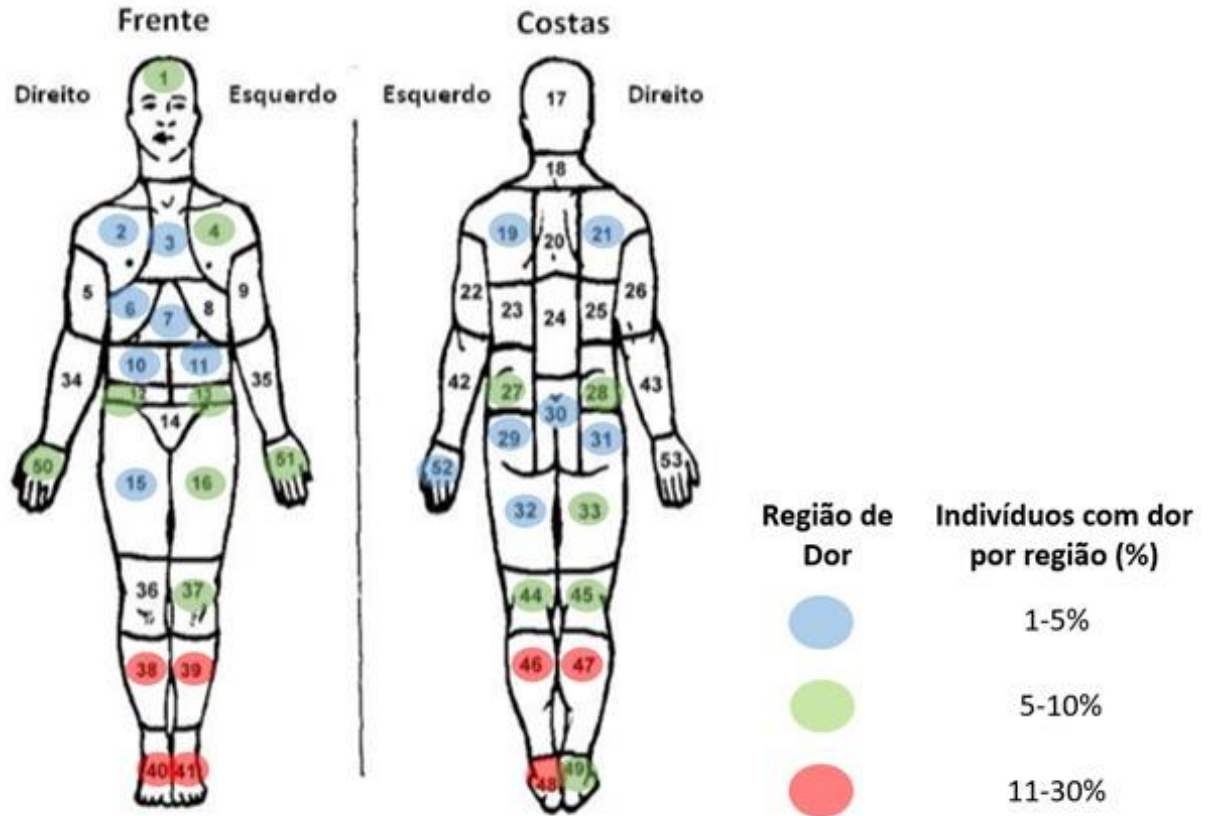
Através do inventário breve de dor (IBD) foi feito um levantamento de todas as dores que o paciente sentiu nas últimas 24 horas (não foram consideradas dor de dente, dor por corte na pele ou traumas recentes), as respostas foram avaliadas através da escala visual analógica de dor (EVA) que varia 0-10 em intensidade de dor analisando uma dimensão sensorial (pior dor, mais fraca e dor no momento) e o impacto da dor em relação a atividades em gerais como, trabalhar, humor, sono, relacionamento com outras pessoas, habilidade de caminhar e de apreciar a vida, entre outros fatores (interferência). Os resultados aqui obtidos demonstram que os voluntários apresentaram características de dor de maior frequência e intensidade nas regiões distais dos membros inferiores (pernas e pés), sendo que, dentre os pacientes com dor, cerca de 1 a 5% tiveram dores leves espalhadas por membros superiores e tórax, de 10 a 15% tiveram dores de leve a moderada espalhada por membros superiores e cabeça e 11-30% tiveram dores mais intensas nos membros inferiores, indicando um acometimento de dor severa nessa região (**Figura 6**). Ainda a média da EVA de dor nas últimas 24 horas foi classificada em: pior dor, ($3.93 \pm 0,4987$), dor fraca ($2,105 \pm 0,401$) e dor no momento ($1,825 \pm 2,971$). A interferência da dor na vida desses voluntários, teve uma média de impacto de $2,411 \pm 0,4309$ (**Tabela 2**).

Tabela 2- Características de dor do IBD. Características de dor obtidas através do inventário breve de dor com valores expressos em média, e.p.m e desvio padrão (DP).

Inventário breve de dor	Característica	Média \pm e.p.m	DP
	Pior dor	3.93 \pm 0,4987	3,765
	Dor mais fraca	2,105 \pm 0,401	3,028
	Dor no momento	1,825 \pm 2,971	0,3935
	Interferência	2,411 \pm 0,4309	3,253

Fonte: Autor (2020)

Figura 6- Localização de dor do IBD. Imagem representativa adaptada do questionário Inventário Breve de Dor demonstrando as regiões mais selecionadas pelos pacientes com dor (tanto nociceptiva quanto neuropática), apontando as regiões de maior intensidade da dor.



Fonte: Autor (2020)

A aplicação do questionário McGill avaliou a dor em sua dimensão sensitiva e afetiva (**Tabela 3**), sendo as queixas que se mostraram mais frequentes (**Figura 6**) na dimensão sensitiva, foram: pontadas (60%), físgadas (62%) e sensação dolorida (62%). Já na dimensão afetiva e avaliativa os sintomas mais comuns foram: aborrecida (43%) e que incomoda (60%), sendo média da intensidade de todos os sintomas de dor mensurada pela EVA foi de, $5,446 \pm 0,8764$.

Com o objetivo de melhor compreender a influência deste questionário na definição de fenótipo de dor dos voluntários avaliados realizamos o agrupamento por cluster dos resultados obtidos. Os dados aqui apresentados demonstram que nossa amostra se constitui de três padrões principais, ou clusters, denominados de *Cluster A*, B e C (**Tabela 3, Figura 6**). Os voluntários do grupo A, são aqueles que não sentem nenhum tipo de dor (n=15). No grupo B (n=25) estão os indivíduos que apresentam dor severa, sendo mais prevalentes os sintomas de pontada (80%), físgada (80%) e dolorida (76%), ainda muitos descreveram a dor na dimensão afetiva como incômoda (60%) e se sentem aborrecidos (56%). No grupo C (n=17) estão os indivíduos com predomínio de dor leve a moderada e com sintomas mais distribuídos, sendo o mais descrito na dimensão sensitiva, o sintoma dolorido (59%) e na dimensão afetiva, muitos relataram a dor como incômoda (59%) (**Tabela 3, Figura 6**). A queimação, sintoma mais descrito na literatura como um dos principais sintomas de ND, apresentou-se de maneira semelhante nos grupos B (44%) e C (41%), totalizando 43% dos pacientes em geral com a presença desse sintoma.

Na análise de TQS, os limiares de detecção e de dor a temperaturas frias e quentes (LDeF e LDeQ, LDoQ e LDoF) estão expressos em graus Celsius (°C). Os supra limiares de dor a estímulos térmicos (Supra Q e Supra F), mecânicos (filamentos de Von Frey) e a presença de alodínea dinâmica (Supra M e ALO), são dados obtidos através de EVA. Os limiares de detecção e dor a estímulos mecânicos são descritos de acordo com a força do filamento de von Frey em Newtons (N).

Inicialmente, utilizamos a análise de TQS para caracterizar os perfis de sensibilidade exteroceptiva dos voluntários, comparando-os ao perfil sensorial dos indivíduos de cada *Cluster* do questionário McGill. Os resultados obtidos demonstram que, os indivíduos do grupo B, classificados com dores severas, apresentaram o limiar de detecção ao estímulo mecânico (LDeM) de forma tardia quando comparados aos grupos A e C (Grupo A: LDeM mão $0,1494 \pm 0,6271$ e LDeM pé: $0,09573 \pm 0,06957$; Grupo B: LDeM mão $0,04851 \pm 0,04056$ e LDeM pé: $0,03476 \pm 0,0203$; Grupo C: LDeM mão $0,02412 \pm 0,01876$ e LDeM pé, $0,02944 \pm 0,01955$). Esses resultados sugerem um comprometimento, além das fibras nociceptivas do tipo C e A δ , também das fibras A β , principais responsáveis por percepções inócuas e de tato. Nos demais

parâmetros do teste, avaliação térmica e supralimiar, não foram detectadas diferenças estatísticas significativas entre os grupos ainda que estes indivíduos apresentem perfis de sintomas distintos (**Tabela 4**).

Tabela 3- Características dos sintomas de dor de acordo com os *Cluster*. Dados expressos em (%) das características dos sintomas como de acordo com a presença ou ausência de sintomas.

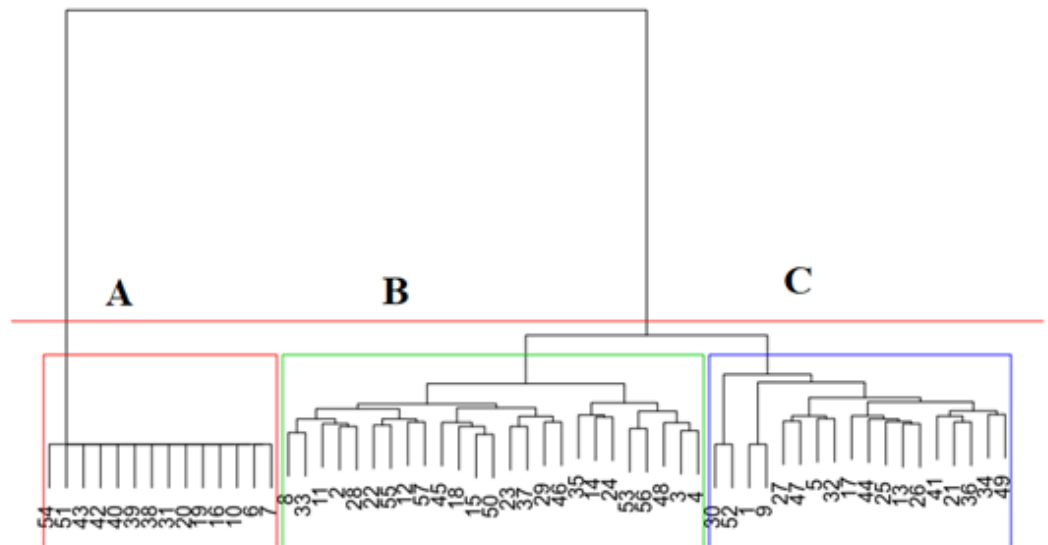
Dimensão Sensitiva								
	Latejante	Pontada	Choque	Agulhada	Fisgada	Queimação	Espalha	Dolorida
Grupo B	60%	80%	48%	64%	80%	44%	28%	76%
Grupo C	29%	29%	6%	24%	35%	41%	12%	59%
% total de dor	47%	60%	31%	50%	62%	43%	21%	69%
Dimensão Afetiva								
	Cansativa	Enjoada	Sufocante	Apavorante	Aborrecida	Incômoda	Insuportável	
Grupo B	48%	32%	24%	24%	56%	60%	44%	
Grupo C	18%	6%	12%	12%	24%	59%	12%	
% total de dor	36%	21%	19%	19%	43%	60%	31%	

Fonte : Autor (2020)

Tabela 4. TQS referente ao agrupamento obtido através do questionário McGill. Dados expressos em média e erro padrão da média (EPM). Os limiares de detecção e dor são dados expressos em Temperatura (°C), os supra limiares térmicos, mecânico e alodínea dinâmica em EVA (escala de 0-100) e os limiares basais e para dor em N (força em Newton). Os dados foram comparados pelo teste Kruskal-Wallis, considerando o nível de significância de 0,05 ($p > 0,0001^{****}$).

	Média		IC		Média		IC		Média		IC		Pvalor
	Cluster A	95%	IC	95%	Cluster B	95%	IC	95%	Cluster C	95%	IC	95%	
LDe F mão	26,15 ± 21,72	30,59	29,09	28,09	28,05±0,41	27,19	28,92	25,94±1,71	22,3	29,57	0,4989		
LDe F pé	20,1±14,62	25,58	28,04	19,87±2,17	15,38	24,36	14,57	19,76±2,44	14,57	24,95	0,5093		
LDe Q mão	36,55±35,07	38,03	36,44	36,54±0,61	35,27	37,81	30,16	34,92±2,24	30,16	39,67	0,2419		
LDe Q pé	44,52±41,64	47,4	45,37	42,16±1,25	39,58	44,74	38,06	41,33±1,5	38,06	44,6	<0,0001****		
LDo Q mão	43,69±41,1	46,27	45,61	44,74±0,83	43,01	46,47	36,23	42,22±2,82	36,23	48,22	0,5024		
LDo Q pé	48,41±46,85	49,97	49,97	47,1±0,75	45,53	48,67	47,17	48,53±0,6	47,17	49,89	0,1566		
LDo F mão	16,37±11,6	21,13	20,29	12,06±1,94	8,053	16,06	6,765	12,7±2,8	6,765	18,64	0,5108		
LDo F pé	6,186±0,4759	11,9	6,928	7,846±1,87	3,984	11,71	2,906	8,678±2,7	2,906	14,45	0,4095		
Supra Q mão	25±10,4	39,56	50,6	21,58±5,17	10,9	32,26	3,202	12,76±4,5	3,202	22,33	0,0262*		
Supra Q pé	12,96±1,73	24,2	42,11	14±3,04	7,726	20,27	-0,746	9,324±4,75	-0,746	19,39	0,1795		
Supra F mão	26,82±9,532	44,11	50,68	20,12±4,23	11,38	28,86	3,432	12,65±4,34	3,432	21,86	0,024*		
Supra F pé	15,46±2,71	28,22	42,23	11,38±2,57	6,072	16,69	2,691	5,382±1,26	2,691	8,073	0,1365		
LDe M mão	0,1494±-0,602	0,3616	0,2337	0,04851±0,04	-0,03521	0,1322	-0,01566	0,024±0,18	-0,01566	0,06389	0,6811		
LDe M pé	0,09573±-0,069	0,261	0,27	0,03476±0,02	-0,00715	0,07667	-0,012	0,029±0,019	-0,012	0,07088	0,1515		
LDo M mão	0,06377±0,027	0,09968	0,3579	0,1889±0,05	0,06607	0,3117	0,008083	0,18±0,084	0,008083	0,3645	0,8227		
LDo M pé	0,1328±-0,028	0,2943	0,3579	0,1889±0,05	0,06607	0,3117	0,008083	0,18±0,084	0,008083	0,3645	0,9331		
Supra M mão	15,57±5,6	25,54	35,22	15,64±4,63	6,08	25,2	1,266	10,47±4,34	1,266	19,68	0,2645		
Supra M pé	13,43±3,89	22,97	35,22	16,16±4,59	6,672	25,65	1,266	10,47±4,34	1,266	19,68	0,3084		
Alo mão	1,214±-0,34	2,77	23,66	1,76±0,86	-0,01655	3,537	0	0±0	0	0	0,0853		
Alo pé	1,714±0,81	4,24	4,24	3,32±2,42	-1,68	8,32	-0,6588	0,5882±0,58	-0,6588	1,835	0,4834		
WUP mão	1,146±0,48	1,807	1,131	0,3272±0,13	0,05547	0,5989	0,1556	0,48±0,155	0,1556	0,8139	0,3081		
WUP pé	0,4814±0,16	0,7998	1,131	0,8872±0,39	0,0729	1,701	0,1556	0,48±0,155	0,1556	0,8139	0,6948		

Figura 7- Agrupamento dos sintomas de dor dos voluntários. Agrupamento dos sintomas de dor em três fenótipos sensoriais. A análise de cluster foi realizada pelo método de Jaccard aplicado nas respostas dos voluntários ao questionário McGill, seguido do algoritmo de Agrupamento Hierárquico e o método de Ward. Na imagem Cluster A, corresponde aos pacientes sem dor, o Cluster B, corresponde aos pacientes com dor severa e o Cluster C, corresponde aos pacientes com dor leve ou moderada.



Fonte: Autor (2020)

Foi feita também a análise do teste quantitativo sensorial, em comparação à um grupo de voluntários sadios com média de idade de $38 \pm 1,251$ ($n=123$) anos. Os voluntários diabéticos, apresentam limiares tardios de detecção basal e de dor, tanto para calor quanto para o frio, significando que em relação ao frio, a média do limiar de detecção ao frio (LDeF) na mão foi de: $27,33 \pm 0,5724$ e no pé: $20,63 \pm 1,338$. Já os limiares de dor ao frio (LDoF) na mão foram de: $13,28 \pm 1,332$ e no pé: $6,89 \pm 1,292$. Quando comparadas aos pacientes sadios, a média foi de LDeF mão: $30,10 \pm 0,12$ e LDeF pé: $28,82 \pm 0,17$ e de LDoFmão: $10,83 \pm 0,63$ e LDoF pé: $10,50 \pm 0,079$ demonstrando significância estatística relevante tanto para detecção do limiar basal quanto para dor (LDeF mão – $p=0,0001$; LDoF mão - $p= 0,0473$ e LDeF pé- $p= 0,0001$ LDoF pé - $p=0,0022$) (**Tabela 5, Figura 8**).

Os limiares de detecção de calor e dor ao quente dos pacientes diabéticos também tiveram respostas tardias quando comparados aos saudáveis, sendo nos doentes, LDeQ mão $35,85 \pm 0,74$ e LDeQpé: $42,07 \pm 0,79$ e sadios LDeQmão: $33,77 \pm 0,86$ e LDeQ pé $35,83 \pm 0,20$ ($p=0,0001$). Para dor nos membros superiores (mãos) os diabéticos comparados com os sadios, apresentaram limiar de dor em uma temperatura mais baixas, LDoQ mão: $43,72 \pm 0,97$ (diabéticos) e LDoQ mão $44,63 \pm 0,28$ (sadios), não havendo diferença estatística ($p=0,4419$), já nos membros inferiores (pés), os diabéticos mostraram um alto grau de comprometimento, sentindo o estímulo doloroso de forma tardia (diabéticos - LDoQ, pé $47,73 \pm 0,46$, e os sadios, LDoQ, pé $32,7 \pm 12,6$, $p=0,0001$).

Em relação as sensações supralimiais, de calor (Supra Q mão, $p= 0,0086$ e Supra Q pé, $p=0,0004$) e frio (Supra F mão, $p=0,1197$ e Supra F pé, $p= 0,0004$), mostram que os voluntários diabéticos tiveram a experiência de dor menos intensa quando comparada aos pacientes saudáveis, análise foi feita através da EVA. A somação de estímulos mecânicos, para analisar o fenômeno *Wind up*, avaliados também pela EVA, mostrou que não houve diferença entre os diabéticos e os não diabéticos comparando-se as mãos (WUP mão: $p= 0,2616$), já nos pés os pacientes diabéticos praticamente não sentiram dor em relação aos saudáveis ($p=0,0015$), evidenciando a presença de hipoestesia mecânica. A presença de alodínia dinâmica, foi obtida através da média da EVA, apontando um ganho de função(mão: $p=0,0021$ e pé: $p=0,0009$, visto que nos pacientes diabéticos, ALO mão foi de $2,9 \pm 1,85$ e ALO pé de $2,3 \pm 1,16$, já os voluntários sadios, não sentiram dor frente ao estímulo aplicado no teste (Alo mão e pé: 0 ± 0) (**Tabela 5, Figura 8**).

Assim, os resultados aqui obtidos apontam para um alto grau de comprometimento das fibras finas (A δ e C) mais distais e também de fibras de tato como as A β , principalmente nos

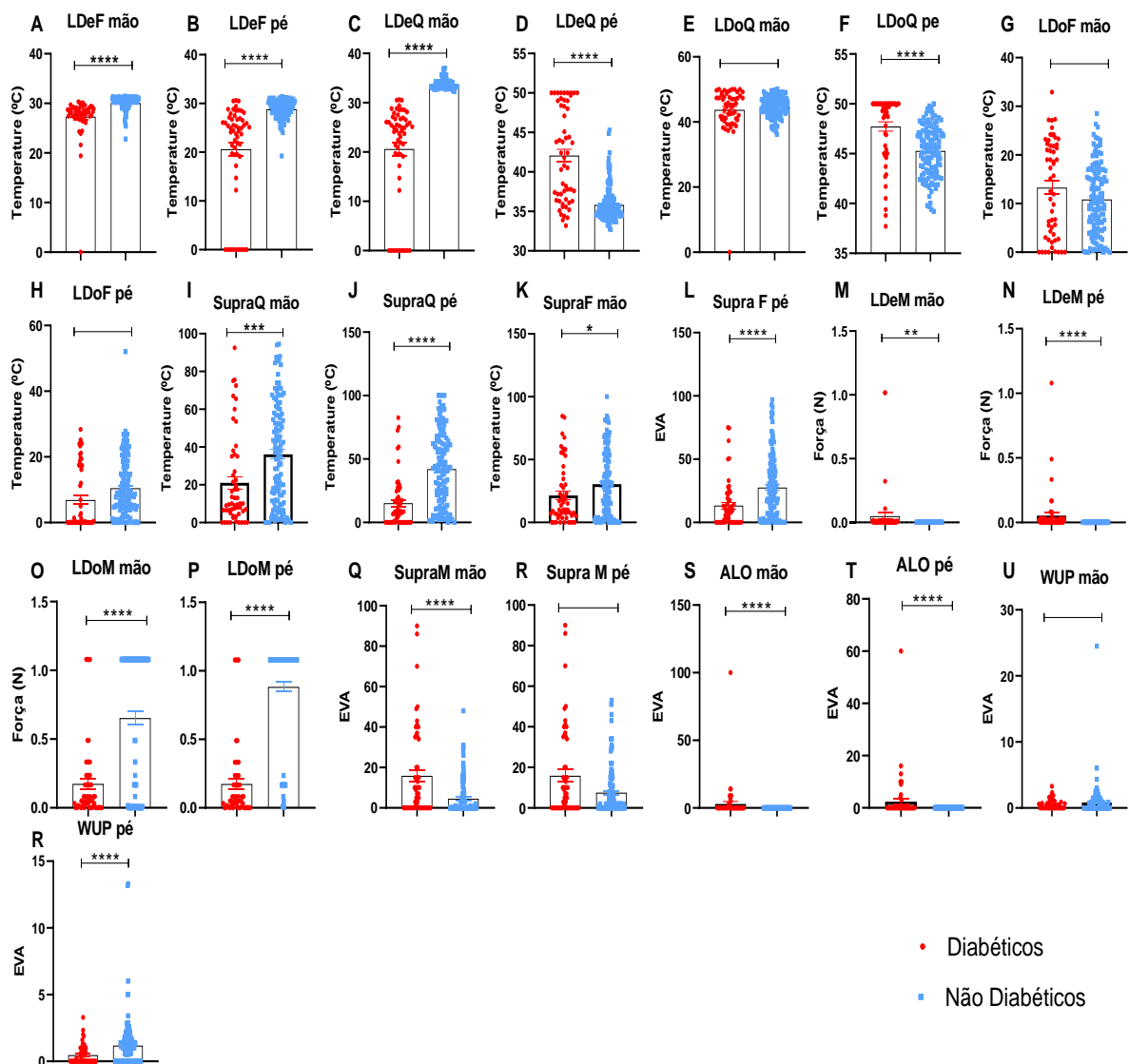
membros inferiores, o que explica a hipoestesia e a hipoalgesia presente na amostra, indicando também um ganho de função devido a presença da alodínia dinâmica tanto nas mãos quanto nos pés. Esses resultados, somados aos sintomas achados na avaliação instrumentalizada, sugerem uma ND com alto grau de comprometimento do sistema nervoso somatossensorial e das fibras periféricas.

Tabela 5- Análise sensorial dos pacientes diabéticos comparados com indivíduos saudáveis.
 Dados expressos em média±e.p.m analisados e comparados pelo teste de Mann- Whitney através do SPSS, considerando *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 e ****p<0,0001, como significância estática.

	Diabéticos			Sadios			Valor P
	Média	IC 95%	IC 95%	Média	IC 95%	IC 95%	
LDe F mão	27,33±0,57	26,18	28,48	30,10±0,12	29,43	30,26	<0,0001****
LDe F pé	20,63±1,3	17,94	23,31	28,82±0,17	28,28	29,39	<0,0001****
LDe Q mão	35,85±0,74	34,35	37,34	33,77±0,086	33,6	34,17	<0,0001****
LDe Q pé	42,07±0,79	40,47	43,66	35,83±0,20	35,48	36,87	<0,0001****
LDo Q mão	43,72±0,97	41,77	45,68	44,63±0,28	44,26	46,01	0,4419
LDo Q pé	47,73±0,46	46,79	48,66	32,7±12,6	45,22	46,38	<0,0001****
LDo F mão	13,28±1,3	10,61	15,95	10,83±0,63	7,75	11,14	0,0473*
LDo F pé	6,89±1,2	4,30	9,48	10,50±0,79	7,019	10,84	0,0022**
Supra Q mão	21,03±3,24	14,53	27,52	36,14±2,44	26,1	40,15	0,0086**
Supra Q pé	15,18±2,79	9,58	20,78	42,03±2,65	31,16	45,77	0,0004***
Supra F mão	21,44±3,15	15,11	27,76	30,50±2,34	22,44	35,01	0,1197
Supra F pé	13,32±2,48	8,33	18,3	27,54±2,25	20,37	32,38	0,0004***
LDe M mão	0,049±0,026	-0,003	0,10	0,002211±3,7	0,000274	0,00030	<0,0001****
LDe M pé	0,05±0,022	0,008	0,09	0,00031±1,17	0,0003	0,00039	<0,0001****
LDo M mão	0,13±0,029	0,076	0,19	0,67±0,045	0,6787	0,9099	<0,0001****
LDo M pé	0,17±0,38	0,097	0,25	0,88±0,035	0,7339	0,949	<0,0001****
Supra M mão	14,76±2,44	9,853	19,67	4,55±0,76	2,631	7,669	<0,0001****
Supra M pé	15,91±3,001	9,893	21,93	7,520±1,041	4,797	11,8	0,1765
Alo mão	2,9±1,85	-0,781	6,63	0±0	0	0	0,0021**
Alo pé	2,3±1,168	0,022	4,7	0±0	0	0	0,0009***
WUP mão	1,6±0,44	0,739	2,52	0,84±0,21	0,3649	2,668	0,2616
WUP pé	0,46±0,09	0,27	0,658	1,17±0,17	0,8431	1,984	0,0015**

Fonte: Autor (2020)

Figura 8- Representação gráfica dos valores do TQS. Os dados correspondem aos valores em distribuição da média±e.p.m como resultado do TQS de 55 pacientes, considerando mão (A, C, E, G, I, K, M, O, Q, S, U) e pé (B, D, F, H, J, L, N, P, R, T, V) comparados pelo teste de Mann-Whitney, considerando * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$, como significância estática. Sendo os Limiares de Detecção basais e de dor ao quente (LDeQ e LDoQ); Limiares de Detecção basais e de dor ao frio: LDeF e LDoF; Supralimiar de dor ao quente e ao frio: Supra Q e Supra F. Os Limiares de detecção mecânica basais e de dor são: LDeM e LDoM; Supralimiar de dor mecânica SupraM; presença de alodínea dinâmica: ALO e somação de estímulos WUP (*Wind Up*).

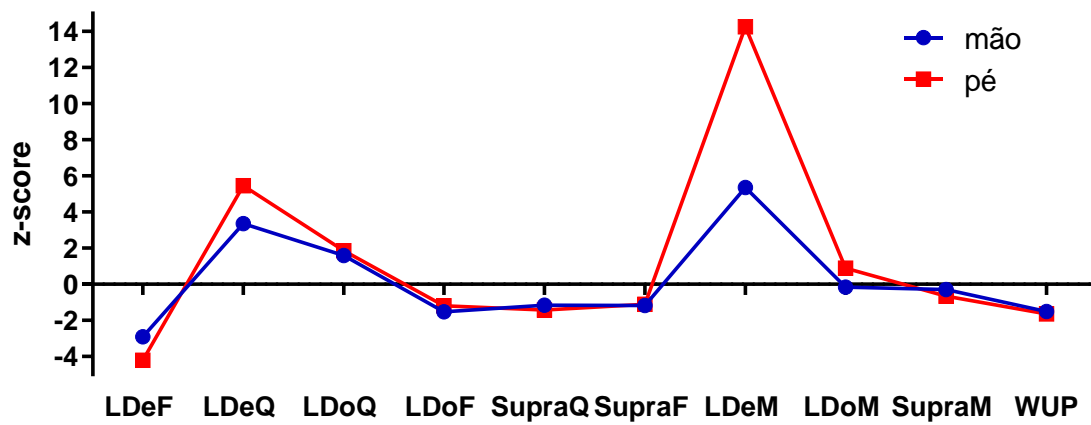


Fonte: Autor (2020)

A avaliação quantitativa dos resultados de TQS, foi realizada por teste Z para a normalização da distribuição da amostra, transformando os dados brutos em valores Z (*Z-score*). Para tanto, foi utilizado o intervalo de confiança (IC95%) da média da amostra de 55 indivíduos diabéticos como referência de preservação sensorial para cada um dos parâmetros avaliados no TQS, tanto para a mão quanto para o pé. Sendo IC95% mão (IC LDeF: -1,17 a -2,84; IC LDeQ: 3,76 a 0,61; IC LDoQ: 0,33 a -0,89; IC LDoF: 0,72 a -0,03; IC Supra Q: -0,31 a -0,79; IC Supra F: -0,10 a -0,59; IC LDeM: -5,08 a -10,05; IC LDoM: -0,31 a -0,43; IC Supra M: 1,77 a 0,62; IC WUP: 1,69 a -0,57) e IC95% pé (C LDeF: -2,92 a -5,77; IC LDeQ: 3,40 a 2,01; IC LDoQ: 1,29 a -0,73; IC LDoF: -0,11 a -0,69; IC Supra Q: -0,72 a -1,10; IC Supra F: -0,36 a -0,76; IC LDeM: 16,07 a 6,57; IC LDoM: -0,17 a -0,37; IC Supra M: 1,25 a 0,20; IC WUP: -1,15 a -1,44). Os valores superiores ou inferiores ao IC95% foram considerados indicativos de alteração sensorial. Tais valores permitiram avaliar a extensão do comprometimento do sistema nervoso somatossensorial de cada indivíduo. Na **figura 9**, temos a representação gráfica do teste z de um dos voluntários que participaram deste estudo, sendo este avaliado de acordo com os IC95% supracitados.

No entanto, sabemos que um único indivíduo não é capaz de representar o comprometimento que ocorre na amostra toda. Por isso, foi realizado de forma individual a análise do comprometimento dos membros superiores (mão) e inferiores (pés) demonstrado através de porcentagem (%) a incidência dos parâmetros alterados do TQS para as mãos e pés. Assim, os dados obtidos indicaram que os membros inferiores (pés) foram primeiramente e mais afetados (>75%) em relação aos membros superiores (mãos), os quais apresentaram maior preservação em LDeF, LDeQ, Supra F, LDeM e WUP (**Figura 10**). Ainda, pode-se observar que em LDoQ, LDoF, LDoM e Supra M o comprometimento sensorial foi semelhante (>90%) tanto nos pés quanto nas mãos, indicando uma degeneração nervosa avançada a ponto de também atingir os membros superiores (**Figura 10**). Confirmando, portanto, a presença da polineuropatia distal sensoriomotora, com característica em bota e luva, porém com início nos pés e apresentando-se de forma mais tardia nas mãos, como já demonstrado na literatura (SAID, 2007).

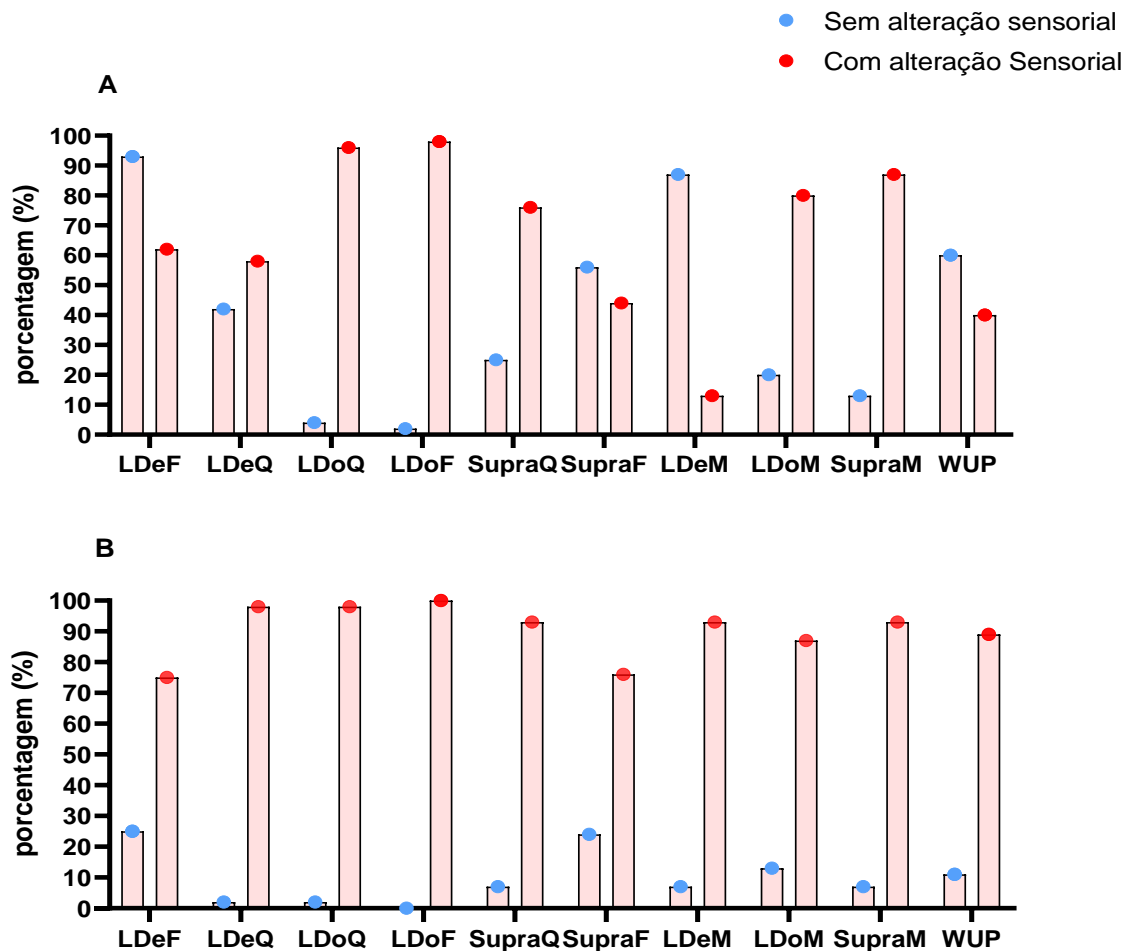
Figura 9- Representação gráfica de interpretação de diagnóstico do TQS. Figura ilustrativa de um paciente diabético avaliado pelo TQS, membro superior e inferior, considerando os valores de *Z-score* fora de IC95%. Os parâmetros considerados com alteração foram: Mão: LDeF: -2,91; LDoQ: 1,58; LDoF: -1,52; Supra Q: -1,16; Supra F: -1,17; LDeM: 5,36; LDoM: -0,16; Supra M: -0,29. Pé: LDeQ: 5,46; LDoQ: 1,85; LDoF -1,18; Supra Q: -1,42; Supra F: -1,10; LDoM: 0,89; Supra M: -0,65; WUP: 1,64.



Fonte: Autor (2020)

A análise dos membros inferiores e superiores dos diabéticos avaliada de forma individual, demonstrou que a incidência (%) dos parâmetros alterados do TQS nos membros inferiores (pés) apresentam-se maiores em relação aos membros superiores (mãos), o que indica uma maior preservação dos mesmos (**Figura 10**). Confirmando, portanto, a presença da polineuropatia distal sensoriomotora, com característica em bota e luva, porém com início nos pés e apresentando-se de forma mais tardia nas mãos, como já demonstrado na literatura (SAID, 2007).

Figura 10- Avaliação da incidência dos parâmetros do TQS em pacientes diabéticos. Os dados correspondem a porcentagem (%) dos valores normalizados em Z-score, equivalente à análise de comprometimento dos membros inferiores (A- mãos) em relação aos membros superiores (B- pés). Considerando os dados *em Z-score* normais (dentro) e alterados (fora) frente ao intervalo de confiança (IC 95%) da média Z para cada parâmetro do TQS, tanto para pé, quanto para mão.



5.3 Dor, ansiedade e depressão

O EHAD avalia o impacto da dor na vida dos pacientes e os resultados obtidos demonstram que 17% da população avaliada sofre com ansiedade (n=10) e 9% apresentaram depressão (n=5), e ainda apenas 10% dos indivíduos apresentaram características de ansiedade e depressão (n=6) concomitantemente. No entanto, a maior parte da amostra apresentou ausência de ansiedade e depressão (65%; n=37).

A relação entre ansiedade e depressão com a presença de dor nesses pacientes também foi analisada, e os resultados aqui obtidos demonstram que 30% (n=17) dos voluntários apresentam dor associada a ansiedade ou depressão e 40% (n=23) sente dor, mas não possui ansiedade ou depressão.

Os dados de acordo com os clusters, dos pacientes com dor severa, 16% (n=6) apresentou ansiedade ou depressão, e dos pacientes com dor leve a moderada, 14% (n=9) apresentaram esses sintomas. Em contra partida, 7% (n=4) não possuem dor, mas ainda assim expressam sintomas de ansiedade ou depressão e 23% (n=13) não apresentam nem dor, nem ansiedade ou depressão (**Tabela 6**). O impacto da dor na vida dos pacientes associada a ansiedade e depressão foi calculada por razão de chances (*Odds Ratio*, OR). Foi demonstrado uma OR de 3,7 indicando que a dor é uma influência negativa no estado emocional dos pacientes com a dor (**Tabela 7**).

Foi também avaliada a influência da dor no estado emocional e pensamentos catastróficos, utilizando as pontuações do EPCSD, na qual foi possível observar que os pacientes que possuem sintomas de dor neuropática são os que tendem a pensamentos mais catastróficos em relação aos pacientes sem dor ($p=0,0001$, $F= 11,51$; **Figura 11**).

Tabela 6- Relação dos pacientes diabéticos com dor e ansiedade e depressão. Dados expressos em porcentagem (%), de acordo com a pontuação dos pacientes ($n=57$) segundo o EHAD, apontando a associação entre dor, ansiedade e depressão.

Classificação	Porcentagem
<u>Com dor e depressão ou ansiedade</u>	30%
Com dor e sem depressão ou ansiedade	40%
Sem dor e com depressão ou ansiedade	7%
Sem dor e sem depressão ou ansiedade	23%

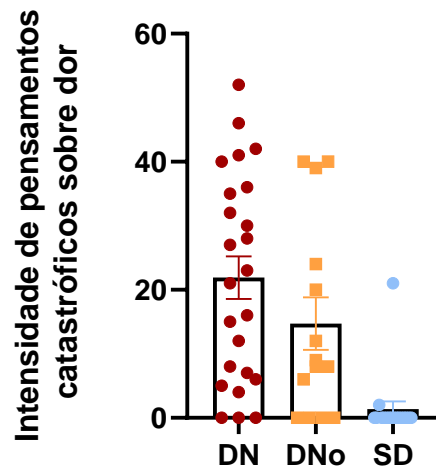
Fonte: Autor (2020)

Tabela 7- Associação de dor e impacto na ansiedade ou depressão. O cálculo da razão de chances *Odds Ratio* (OR) resultou em 3,7 sugerindo associação positiva entre possuir síndromes dolorosas e ansiedade ou depressão. Dados resultantes da aplicação do questionário HAD para identificação de ansiedade e depressão e do DN4 para identificação da dor (pacientes com dor n=57, pacientes sem dor n=17).

	Com dor	Sem dor	<i>Odds Ratio</i>	IC 95%
Ansiedade ou depressão	17	3	3,7	0,93-14,82
Sem ansiedade ou depressão	23	25		

Fonte: Auto (2020)

Figura 11 - Relação entre a dor e a intensidade de pensamentos catastróficos. A relação da intensidade dos pensamentos catastróficos, foi obtida através da média da pontuação final de todos os pacientes (n=57) de acordo com o PCSD com a média da pontuação dos grupos classificados pelo DN4 (média \pm erro padrão da média), sendo dor neuropática (DN): $21,92 \pm 3,319$; Dor Nociceptiva (DNo): $14,71 \pm 4,097$; Sem Dor (SD): $1,35 \pm 1,23$.



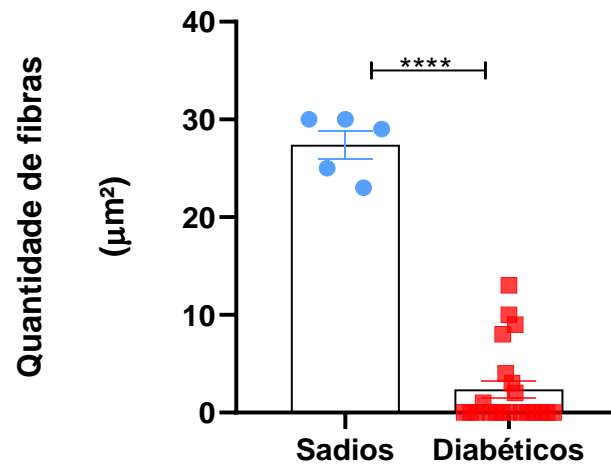
Fonte: Autor (2020)

5.3 Imunohistoquímica para Fibras Intraepidérmicas

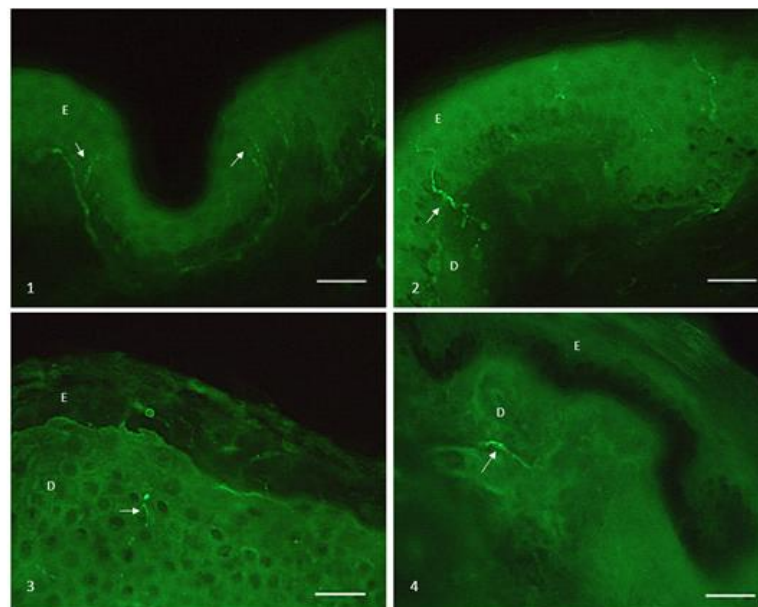
A análise da presença de fibras nervosas intraepidérmicas demonstrou uma diminuição significativa na quantidade de fibras nos pacientes diabéticos (n=21) quando comparados com indivíduos saudáveis (n=5) (**Figuras 12 A e B**).

Figura 12- Contagem das fibras intraepidérmicas dos pacientes diabéticos e controle. (A) O fragmento de pele foi tratado e submetido a microscopia de fluorescência e posteriormente as fibras intra epidérmicas foram quantificadas. Em relação ao grupo controle há uma diminuição significante das fibras $p < 0,0001$ **** avaliados pelo teste T não pareados, área equivalente a $212.1509 \mu\text{m}^2$, (B) Imagens representativas da expressão de FNIE de sujeitos controles (1 e 2) ou diabéticos (3 e 4). Fibras intraepidérmicas (seta) marcadas por imunofluorescência com marcador pan-axonal PGP 9.5. E = epiderme; D = derme. (40.000x, Barra: $25 \mu\text{m}$).

A



B



Fonte: Autor (2020)

5.4 Análise de grupos através do aprendizado supervisionado: DN4 e McGill

O uso de métodos de aprendizado supervisionado, foi utilizado para identificar quais variáveis contém informações preditivas em relação a categorização realizada pelos questionários de DN4 e McGill. Foi feita uma investigação para quais características entre os parâmetros do TQS e nível educacional (MEEM) poderiam conter informação que melhor classifiquem e agrupem pacientes entre sem dor, dor neuropática e dor nociceptiva de acordo com o DN4 e sem dor, dor leve, dor moderada e dor severa para o McGill.

O DN4 e McGill, foram utilizados para classificar as características mais frequentes, sendo que, 5 foi o número ideal considerado pelo algoritmo para a quantidade de características de ambos os questionários com a melhor acurácia balanceada.

Para o DN4, os achados de escolaridade e cognição (MEEM), Limiar de dor mecânica no pé (LDoM pé), presença de alodínia de dinâmica na mão (Alo mão), Intensidade de hiperalgesia ao frio em 10°C (Supra dor F1) e intensidade de hiperalgesia ao frio 5° (Supra dor F2) foram os mais selecionados pelo algoritmo.

Para o McGill, os achados mais selecionados foram: intensidade de hiperalgesia ao quente 46° (Supra Q1), Limiar de dor ao Frio na mão (L Dor F mão), Limiar de detecção ao quente no pé (LDeQ pé), Limiar de detecção mecânica na mão (LDeM mão) e Limiar de dor ao quente na mão (LDoQ mão). Esses parâmetros foram considerados preditores para essa amostra de pacientes para os perfis encontrados no DN4 (sem dor, dor neuropática e dor nociceptiva) e no McGill (sem dor, dor leve, moderada e severa) (**Tabela 8**).

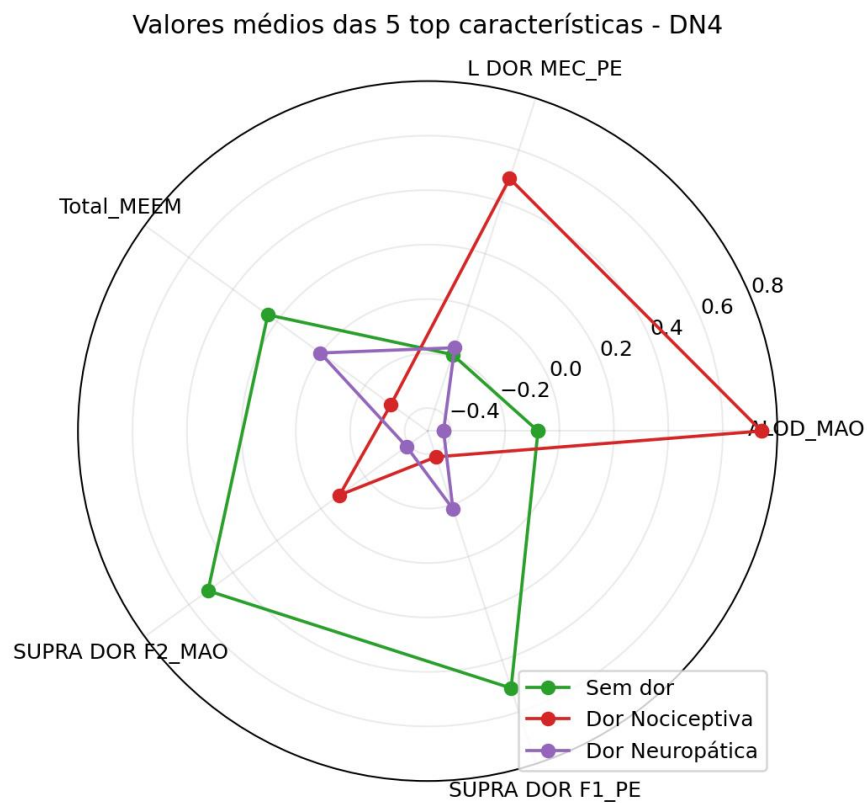
A partir dessa seleção, utilizando as classificações obtidas no questionário DN4 (sem dor, dor nociceptiva e dor neuropática) e McGill (sem dor, dor severa, dor moderada e leve) foi realizada a normalização da amostra utilizando o teste Z (ou *Z-score*) utilizando o intervalo de confiança para cada parâmetro (IC95%; DN4 -0,4 a 0,8 e McGill: -0,5 a 0,4) da pontuação dos pacientes para as cinco características mais escolhidas pelo algoritmo (**Figura 13 e 14**). Os achados no aprendizado supervisionado reforçam a presença de perfis de dor nesta amostra de diabéticos estudada, de acordo com a proximidade das médias de distribuição dos resultados (*Z-score*) para o DN4, sendo MEEM (-0,06±0,17), Supra F2 mão(-0,06±0,24), Supra F2 pé (-0,06±0,2404), LDoM pé(-0,06±0,2404) e Alo mão (0±0,30), e para o McGill: LDoF mão(0,15±0,22); Supra Q1 pé(0,15±0,22); LDoQ mão(-0,2±0,163); LDeQ pé(-0,15±0,09), LDeQ pé(0±0,24).

Tabela 8- Parâmetros do TQS selecionados pelo aprendizado supervisionado. Descritores mais escolhidos com desempenho do algoritmo (Regressão logística) pertencentes ao teste quantitativo sensorial, com maior precisão no DN4 (acurácia: $51 \pm 1,36$) e no McGill (acurácia: $41 \pm 1,15$).

DN4		McGill
Características		Caraterísticas
	Intensidade de Hiperalgisia 46°C	Limiar de dor quente- mão
	Limiar de dor mecânica pé	Limiar de detecção quente- pé
	Meem	Limiar de dor ao frio - mão
	Intensidade de Hiperalgisia 48°C	Limiar de detecção mecânica - mão
	Alodínia- mão	Intensidade de hiperalgisia 46°C - pé
Acurácia	51	41
e.p.m	1,36	1,15

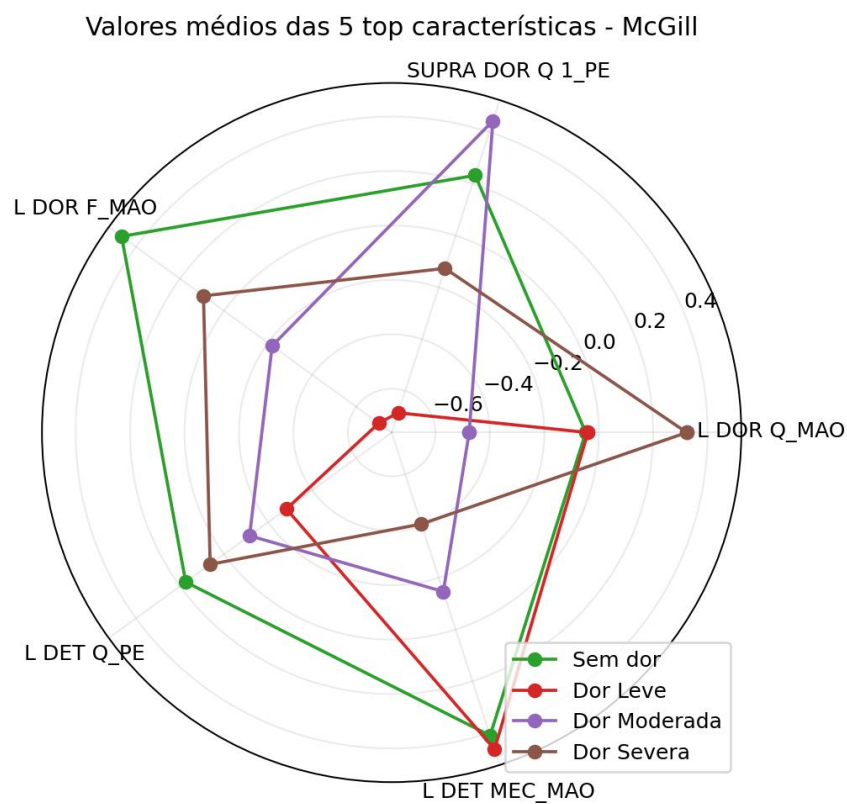
Fonte: Autor (2020)

Figura 13- Representação polar dos preditores do TQS para o DN4. Visualização dos dados em disposição de radar que permitem a comparação das diferentes classes e valores normalizados com teste T (z-score) utilizando a média (-0,4 a 0,8). Os achados do TQS que descrevem os pacientes nos grupos sem dor, para o MEEM em $z=0,2$; Supra Dor F2 mão: $z=-0,4$; Supra Dor F2 pé: $z=-0,2$; LDor Mec pé: $z=-0,4$ e Alo mão: $z=-0,2$. Para dor nociceptiva: MEEM em $z=-0,4$; Supra Dor F2 mão: $z=-0,2$; Supra Dor F2 pé: $z=-0,4$; LDor Mec pé: $z=0,4$ e Alo mão: $z=-0,6$. Para Dor Neuropática: MEEM em $z=0$; Supra Dor F2 mão: $z=-0,4$; Supra Dor F2 pé: $z=-0,2$; LDor Mec pé: $z=0,2$ e Alo mão: $z=-0,4$.



Fonte: Autor (2020)

Figura 14- Visualização polar dos preditores do TQS para o McGill. Visualização polar (radares) que permite a comparação das diferentes classes e valores normalizados com teste T (z-score) e a média (-0,5 a 0,4). Os achados do TQS que descrevem os pacientes nos grupos **Sem dor**: LDor Frio mão: $z=0,4$; Supra Dor Q1 pé: $z=0,2$; Limiar Dor Q mão: $z=-0,2$; L Det Q pé: $z=0$; L Det Q pé: $z=0,4$. **Dor Leve** : LDor Frio mão: $z=0,6$; Supra Dor Q1 pé: $z=-0,6$; Limiar Dor Q mão: $z=-0,2$; L Det Q pé: $z=-0,4$; L Det Q pé: $z=0,4$. **Dor Moderada**: LDor Frio mão: $z=-0,4$; Supra Dor Q1 pé: $z=0,4$; Limiar Dor Q mão: $z=-0,6$; L Det Q pé: $z=-0,2$; L Det Q pé: $z=-0,2$. **Dor Severa**: LDor Frio mão: $z=0$; Supra Dor Q1 pé: $z=0,2$; Limiar Dor Q mão: $z=0,2$; L Det Q pé: $z=0$; L Det Q pé: $z=-0,6$.



Fonte: Autor (2020)

6 Discussão

A neuropatia diabética é a complicação de longa duração mais comum observada no diabetes (CHENG et al., 2010; SAID, 2007) sendo a dor um dos sintomas mais proeminentes, atingindo cerca de 50% dos pacientes e para a qual não existe tratamento específico (BULTON, 2005).

Os resultados aqui obtidos demonstram que, na amostra avaliada, não houve diferenças significantes no que se refere à prevalência de diabetes entre homens e mulheres (49% homens, 51% mulheres), sendo que a maior parte da amostra apresenta diagnóstico da doença firmado há mais de 10 anos (53%), o que pode favorecer o aparecimento das complicações (CORTEZ et al., 2015). Tais achados corroboram com os dados encontrado na literatura produzida até momento sobre o tema, em que a prevalência é muito próxima entre homens e mulheres em uma faixa etária entre 20-79 anos, sem apresentar diferenças estatísticas devido ao gênero. No entanto, estudos sugerem que o sexo feminino seja um fator de risco para o desenvolvimento de ND dolorosa (CHO et al., 2018, RAPUTOVA et al., 2017).

A maior parte dos voluntários, apresentam também doenças associadas ao diabetes, como hipertensão (61%) e hipercolesterolemia (46%) além de já terem sido fumantes em alguma parte da vida (43%). Estes fatores estão diretamente ligados a uma possível síndrome metabólica (obesidade, hipertensão e hipercolesterolemia) e que podem favorecer o aparecimento das complicações do diabetes, como a degeneração das fibras nervosas epidérmicas, principalmente as amielínicas (THAISETTHAWATKUL et al., 2020).

Além disso, há também as alterações micro e macrovasculares que contribuem para o aparecimento e manutenção da ND e para complicações mais severas como as úlceras diabéticas (JAISWAL et al., 2017, ZHU et al., 2017, TESFAYE; KEMPLER, 2005). Os dados socioeconômicos sugerem que a maior parte dos pacientes se enquadraram em média e alta escolaridade, porém a maioria está na classificação socioeconômica C, D e E, dado que a literatura descreve como fatores de risco para o desenvolvimento de dor crônica na maioria dos estudos (WIJNHOFEN; DE VET; PICAVENT, 2006, SÁ et al, 2008; LEVEILLE et al., 2005).

No que se refere à localização da dor, os membros inferiores apresentam-se como os mais afetados e com maior intensidade, segundo o IBD. A glicotoxicidade tem sido atribuída como uma das principais causas da origem dessa dor, uma vez que o acometimento das fibras nervosas periféricas é comprimento dependente, ou seja, quanto mais longo for o trajeto da fibra nervosa, desde a raiz até a extremidade, mais precoce será o seu acometimento. Sendo assim, os membros inferiores são mais comumente afetados inicialmente em relação aos superiores,

um padrão clássico de distribuição chamado de “bota e luva” (SAID, 2007; SIVEIRO et al., 2011), como demonstrado na Figura 10.

A literatura, aponta que a 58% dos pacientes com diabetes apresentam dores de moderada a grave com um alto comprometimento na qualidade vida, (MENTING; TACK, KNOOP, 2017; BAIR et al., 2010). Os dados obtidos nesse estudo, no que se refere à avaliação dolorosa, demonstraram que 70% da população apresentou algum tipo de dor. Da mesma forma, observou-se que 44% da amostra apresenta dor com características neuropáticas conforme o questionário DN4 e de acordo com o ISDN. Os pacientes relatam que os piores sintomas de DN são dormência (9%), alfinetadas, finas agulhadas (9%) e apunhalar (9%), dados que corroboram com a estimativa de que cerca de 55% dos pacientes diabéticos desenvolverão neuropatia no decorrer de sua evolução clínica, sustentando a altas prevalência de dor em DM (NASCIMENTO; PUPE; CAVALCANTI, 2016; FELDMAN et al., 2019).

Ainda, o sintoma queimação é descrito na literatura como um dos mais prevalentes em ND (NASCIMENTO; PUPE; CAVALCANTI, 2016). Neste estudo, esta modalidade de sintoma apresentou-se com frequências semelhantes nos *clusters* B (44%) e C (41%), totalizando sua presença na amostra em 45% dos pacientes com dor, mas não se apresenta entre os sintomas mais incidentes, que são pontadas (80%) e físgadas (80%).

Sabe-se que existem diferentes perfis sensoriais para pacientes diabéticos com neuropatia, que estão associados a dor e a capacidade de resposta para a analgesia (RAPUTOVA et al., 2017). Utilizando o questionário McGill, que avalia dimensões sensoriais e afetivas do comportamento doloroso, foi possível agrupar os pacientes em três perfis de sintomas, chamados de *Clusters*. Sendo o *cluster* A formado por indivíduos sem dor, o *cluster* B composto pela maioria dos pacientes com dor severa e o *cluster* C por pacientes com dor de moderada a leve.

No agrupamento B, os sintomas mais comuns foram dor em pontada (80%), físgada (80%), latejante (60%), agulhada (64%) e dolorida (76%). Os pacientes pertencentes à esse grupo apresentam um comprometimento das fibras aferentes mais graves, sendo, os sintomas de agulhada e choque, junto com a presença dos sintomas de queimação e incomodo, também apresentados por estes pacientes (KRAYCHETE; SAKATA, 2011). Ainda, essas parestesias relatadas como os piores sintomas, tanto no ISDN quanto no McGill, refletem a grave disfunção do SNC somatossensorial, envolvendo todo um mecanismo inflamatório em que há um aumento de citocinas como TNF- α , IL-1 β , IL-6 e espécies reativas de oxigênio (ROS), além do aumento da expressão de canais iônicos, principalmente canais de potássio (K⁺) e sódio (Na⁺), que acabam levando uma excitabilidade exagerada do neurônio sensoriais primários, gerando

potenciais ectópicos (VON HEHN; BARON; WOOLF, 2012). Tal mecanismo acarreta mudanças nos neurônios periféricos levando ao fenômeno de sensibilização central, piorando a sensação de dor.

Embora essas mudanças ocorram em neurônios lesionados, as fibras adjacentes não lesionadas ou com lesões parciais podem gerar também esses potenciais evocados, piorando a sensação dolorosa (BASBAUM et al., 2009; DJOUHRI et al., 2006; WU et al., 2002). Esses sinais, acompanhados da perda de sensibilidade ao tato (Tabela 5, Figura 8), geram uma sensação paradoxal pela perda de sensibilidade, mas com a presença de sintomas dolorosos, o que reforça a existência da degeneração avançada das fibras nervosas periféricas. (KLAUMANN; WOUK; SILLAS, 2008; VON HEHN; BARON; WOOLF 2012).

Com a avaliação exteroceptiva térmica podemos analisar os sinais descritos na literatura (ROLKE et al., 2006; BARON et al., 2017) como negativos, que representam uma perda de função, e positivos, que representam um ganho de função. Nesse estudo, pode-se observar entre os pacientes diabéticos, quando comparados a não diabéticos, a presença de hipoalgesia e hipoestesia térmica e mecânica, devido aos seus limiares basais e de dor tardios tanto ao quente quanto ao frio, que podem ser interpretados como sinais negativos ou de perda de função (**Tabela 7**). Há, ainda, entre os diabéticos a presença de hiperestesia mecânica e a alodínea dinâmica, sugerindo sinais positivos ou ganho de função.

O TQS confirma o grau de comprometimento da amostra, evidenciando que os membros inferiores estão mais comprometidos em relação aos membros superiores, confirmando a presença da polineuropatia distal em “bota e luva”, o que está de acordo com a literatura (SAID, 2007), indicando que nessa amostra o comprometimento das mãos sugere um acometimento severo da doença nesses pacientes (Figura 10). Tais dados, em conjunto com os achados dos questionários, demonstra a perda de sensibilidade para estímulos térmicos e mecânicos, o que nesses pacientes correspondem à uma possível perda de função, sugerindo uma degeneração avançada das fibras nervosas do tipo A δ e C (FELDMAN et al., 2019). Ademais, a perda de sensibilidade a estímulos inócuos, pode indicar também uma degeneração das fibras A β , mielinizadas (FELDMAN et al., 2019).

Mesmo que o diabetes não seja considerado uma doença principalmente desmielinizante, alguns estudos apontam que em casos graves de ND, a glicotoxicidade está diretamente relacionada a desmielinização, uma vez que as células de Schwann também são alvos, da hiperglicemia crônica (PAN; CHAN, 2017; FELDMAN et al., 2019). Dados do nosso grupo (da SILVA OLIVEIRA et al., 2018) demonstraram que em roedores a indução da ND por estreptozotocina acarretou danos severos nas fibras nervosas periféricas, tanto mielínicas

quanto as amielínicas. Tais danos podem levar à falhas no suporte e na regulação do citoesqueleto, incluindo alterações na posição das proteínas no nodo de Ranvier, e consequentemente leva à alterações na condução do estímulo (VON HEHN; BARON; WOOLF, 2012; PAN; CHAN, 2017; FELDMAN, et al., 2019).

Ainda não está claro como o diabetes promove esse mecanismo que facilita de degeneração neuronal da mielina, e estudos experimentais crônicos em ratos com DM1 mostraram que o diabetes altera também o fenótipo do neurônio, o que interfere no seu funcionamento em terminais distais, acarretando também mudanças no corpo celular do neurônio e contribui com o processo de neurodegeneração (CASHMAN, HÖKE, 2015; SCOTT; CLARK; ZOCHODNE, 1999). Sobre a presença de alodínia dinâmica, que implica um ganho de função, a literatura demonstra que em casos de dor neuropática a degeneração das fibras C leva a mudanças nos ramos de fibras A β (mecanorreceptores cutâneos) que se projetam para a lâmina II da coluna posterior da medula, e favorece o desenvolvimento de conexões anormais com interneurônios de fibras C degeneradas. As novas conexões sinápticas liberam neurotransmissores excitatórios que normalmente não são encontrados em sinapses relacionadas a esses neurônios (WOOLF et al., 1995; KAPUR, 2003).

Sabemos que existem várias abordagens de tratamento para neuropatias, e no entanto, essas abordagens nem sempre tem tanta eficácia em pacientes diabéticos, uma vez que o diabetes, por ser uma doença de caráter multifatorial e neurodegenerativo (MIZISIN et al., 1998; DUNNIGAN et al., 2013), é responsável por danos ao sistema nervoso, sendo que a manutenção da dor está diretamente ligada ao metabolismo de ácidos graxos, além dos danos associados a síndrome metabólica presente em alguns dos pacientes com diabetes (KIM; YOON, 2012).

Ainda existem os danos na microcirculação, porém não há estudos suficientes associando as mudanças de fluxo sanguíneo ao desenvolvimento da neuropatia, mas sabe-se que a deficiência do suprimento de sangue nos nervos periféricos é considerado um possível mecanismo patológico, onde há um aumento da densidade dos capilares endoneurais, que podem acarretar uma isquemia nervosa e favorecer o desenvolvimento da ND (FELDEMAN, 2019).

Nesse sentido, é plausível especular que um tratamento específico para ND será mais efetivo se conhecermos os pacientes de acordo com a intensidade e sintomas de dor que apresentam. Este estudo sugere a existência de três perfis de sintomas distintos entre os voluntários com DM ao longo do desenvolvimento da doença, sendo eles, pacientes sem dor, sintomas ou parestesias (*Cluster A*), um segundo grupo composto por pacientes com dor leve

ou moderada, que relatam o sintoma “dolorido” como a pior sensação (*Cluster C*). E, por fim, um terceiro grupo com dor severa (*Cluster B*), apresentando pontadas e fisgadas como sintomas de maior incidência e o único a apresentar alteração exteroceptiva relevante no que se refere ao limiar de detecção mecânica (LDeM). Dessa maneira, os perfis podem estar relacionados a manifestação dos sintomas específicos de cada grupo e, também, ao grau de degeneração nervosa que estes apresentam (BARON et al., 2009).

Ainda, com os agrupamentos do questionário McGill, foi possível observar, o quão impactante é a dor na qualidade de vida desses pacientes (**Tabela 3**), e a maioria descreve na dimensão afetiva, uma dor incômoda (60%) e se sentem cansados (36%) ou aborrecidos (43%) por causa dela. Comparando os pacientes com dor em relação aos dados obtidos através das escalas de ansiedade e depressão (EHAD) e pensamentos catastróficos (EPCSD), percebe-se que a intensidade de pensamentos catastróficos, trágicos e ruins é significativamente maior nos pacientes com dor neuropática. Esses dados foram reforçados pela análise de chances que demonstrou uma associação positiva entre a presença de dor e a ansiedade ou depressão, indicando que a dor favorece o desenvolvimento desses dois quadros, que por sua vez implicam diretamente na qualidade de vida (CASTRO et al., 2011).

O DM além de ser uma condição crônica que necessita de medicamento diário para controle da hiperglicemia e adesão a dietas adequadas, pode estar também associada a outras comorbidades como úlceras diabéticas, nefropatia ou retinopatia. Tais condições requerem tratamentos constantes ou até mesmo hospitalizações frequentes, e acabam comprometendo ainda mais a qualidade de vida desses pacientes, e podem acarretar no desenvolvimento de um quadro denominado “Angústia do diabetes”, termo que descreve a carga emocional do quadro diabético (FISHER et al., 2012; FELDMAN et al., 2019).

Para os pacientes desse estudo, a hipoestesia, hipoalgesia e as parestesias (formigamento, dormência e agulhadas) estão diretamente relacionadas a degeneração das fibras mais densas e das fibras finas, que implicam também na perda da função protetora, uma vez que na ausência dos sinais sensoriais, frente a pequenas lesões ou impactos, pode haver um risco significativo de complicações extras como as ulcerações, principalmente em regiões mais distais como pés, agravando ainda mais o quadro doloroso do paciente (STINO et al., 2020).

Em relação a avaliação sensorial, os membros inferiores se mostram mais comprometidos quando comparado às mãos, reforçando o diagnóstico de polineuropatia distal severa nessa pequena amostra de diabéticos (FELDMAN et al., 2019). Esses dados, somados as informações obtidas nos questionários de dor, demonstram que a maioria dos indivíduos sofrem com algum tipo dor e uma grande parcela possui sintomas clássicos de dor neuropática,

como formigamento, queimação e fisgadas. Porém, na análise sensorial comparada aos *clusters* A sem dor, B dor severa e C dor leve ou moderada, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, apontando que apesar do quadro de sintomas dolorosos serem distintos, esses pacientes apresentam perfis sensoriais térmicos e mecânicos parecidos.

Sabemos que os protocolos de TQS, utilizam combinações de estímulos térmicos e mecânicos diversos, com intuito exploratório afim de detectar lesões ou disfunção do sistema nervoso somatossensorial (SIPILÄ, KALSO, LÖETSCH et al., 2019). Pesquisas baseadas na exploração de fenótipos utilizando os parâmetros do TQS, foram capazes de prever melhores tratamentos para doentes com dor neuropática, que identificaram os efeitos mais relevantes com o uso da capsaicina tópica e da luz ultravioleta (UVB) para o tratamento de dor (LÖETSCH et al., 2019).

Outro estudo classificou pacientes de acordo com a metilação de genes que codificam para o receptor Toll-like 4 (TLR4) como um mediador principal das contribuições gliais para a dor persistente e fatores não genéticos através do método de aprendizagem de máquina (KRINGEL et al., 2019). No presente estudo, o algoritmo do método de aprendizado supervisionado utilizou características da bateria de testes aplicados na avaliação instrumentalizada e sensorial, sendo possível observar que para o DN4 os achados de nível de escolaridade e parâmetros do TQS, como os principais preditores para classificar os pacientes como sem dor, dor neuropática e dor nociceptiva. Já os preditores encontrados no McGill, continham apenas informações do TQS, para classificar os pacientes como sem dor, dor leve e moderada e dor severa. Esses dados encontraram-se próximos quando comparadas as distribuições das médias em *Z-score* (**Figuras 14 e 15**), podendo assim sugerir a presença de fenótipo sensoriais de acordo com essas duas ferramentas para avaliar dor.

A identificação de fenótipos sensoriais distintos nos permitem pensar em tratamentos específicos e mais efetivos para a dor. Um estudo realizado na Alemanha (BARON et al., 2017), foi capaz de identificar três perfis sensoriais distintos em pacientes que sofrem com polineuropatia distal diabética, nevralgia pós-herpética, lesões de nervos periféricos e radiculopatia, reforçando a ideia de que o mecanismo de dor neuropática é distinto. Fato que pode variar de acordo com a população e que, para obter sucesso farmacológico para dor, é necessário conhecer o perfil de sensorial destes pacientes. Estudos com fenótipos de pacientes com dor neuropática de outras etiologias mostram que pessoas que sofrem com alodínea mecânica respondem melhor a tratamentos com toxina botulínica (COLLOCA et al., 2017; RANOUX et al., 2008), assim como em um outro estudo de fenótipos os pacientes identificados com o perfil de nociceptores irritáveis tiveram uma resposta melhor com o uso da

oxacarbamazepina quando comparados ao grupo placebo (DEMANT et al., 2014). Esses dados só confirmam que o tratamento personalizado para a dor ainda está no início, mas a correlação entre fenótipos e mecanismos de dor podem ser uma possibilidade para encontrar tratamentos mais específicos aos pacientes refratários que ainda não se beneficiam com a terapêutica disponível. No caso da ND, as abordagens adjuvantes, auxiliam na melhora dos sintomas, como, manter um ótimo índice glicêmico e modificações no estilo de vida que incluem dietas adequadas e prática de exercícios físicos (SINGLETON et al., 2014).

Por fim, a análise das biópsias de pele identificou uma perda significativa de fibras intraepidérmicas nos pacientes diabéticos quando comparados a indivíduos controle, sem diabetes. Nesse estudo foi possível apenas observar a presença de algumas fibras na derme nos pacientes com o diagnóstico da doença inferior a 5 anos, sugerindo que não houve uma degeneração completa das fibras na pele e reforçando que pacientes com maior tempo de diagnóstico da doença tendem a ter complicações (CORTEZ et al., 2015). Uma correlação entre a expressão destas fibras e o perfil sensorial de cada um desses pacientes será necessária para uma análise mais minuciosa desses resultados.

Em conjunto, os dados aqui obtidos demonstram até o momento que é possível a classificação de diferentes fenótipos de dor em pacientes diabéticos quanto aos sintomas através de ferramentas validadas na literatura. Apesar de possuírem um perfil sensorial semelhante, esses pacientes apresentam sintomas de dor distintos, assim como a presença de um grupo com manifestação de dor severa, o que sugere um estado avançado de degeneração nervosa, principalmente de fibras C e A δ relacionado a dor e até mesmo das fibras mielinizadas como A β , relacionada a perda de tato. Há ainda um outro grupo com dor leve a moderada, em que a dor tem características nociceptivas que pode indicar uma maior preservação dessas fibras nervosas periféricas, confirmando os achados no TQS.

Assim, percebe-se que indivíduos diabéticos possuem características de dor neuropática distintas, e apesar do mesmo diagnóstico inicial, apresentam diferentes sintomas e complicações. Desta forma, é plausível especular que um tratamento eficaz para DN deve-se iniciar com o monitoramento dos pacientes a longo prazo e acompanhamento pelos serviços de saúde, não apenas em seu metabolismo, mas também quanto ao seu o perfil sensorial, afim de observar a neurodegeneração, bem como a evolução do seu perfil de sintomas. Para que assim os pacientes com dor severa possam ter um tratamento baseado nesses parâmetros e associado ao controle da hiperglicemia, como tentativas de atingir a uma maior eficácia em tratamentos para ND.

7. Conclusões

Os dados obtidos neste estudo caracterizam os perfis de dor e sensibilidade exteroceptiva de pacientes diabéticos, o que pode contribuir para uma melhor compreensão da fisiopatologia da doença e uma análise das características da dor neuropática nesses pacientes. O estudo reforça que o conhecimento desses perfis dos pacientes, possa direcionar os pacientes para tratamentos de NPD mais eficazes de acordo com seus perfis de sintomas e dor, diminuindo assim a taxa de refratariedade.

8. Referências Bibliográficas

ABEP, Brasil. Critério de Classificação Econômica. São Paulo, 2003. **Critério Brasil**; 2011 [acesso em 2018 nov 20].

ALBERTI, K.G.M.M., ZIMMET, P.Z. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes *Mellitus* and its Complications. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes *Mellitus*. Provisional Report of WHO Consultation. *Diabetic Medicine*, 15: 539–553, 1998

ARENDETT-NIELSEN, Lars; YARNITSKY, David. Experimental and clinical applications of quantitative sensory testing applied to skin, muscles and viscera. **The Journal of Pain**, v. 10, n. 6, p. 556-572, 2009..

ATTAL, N. et al. Systemic lidocaine in pain due to peripheral nerve injury and predictors of response. **Neurology**, v. 62, n. 2, p. 218-225, 2004.

AYDEDE, Murat; SHRIVER, Adam. Recently introduced definition of “nociplastic pain” by the International Association for the Study of Pain needs better formulation. **Pain**, v. 159, n. 6, p. 1176-1177, 2018.

BAIR, M. J. et al. Prevalence of pain and association with quality of life, depression and glycaemic control in patients with diabetes. **Diabetic Medicine**, v. 27, n. 5, p. 578-584, 2010.

BARON, Ralf et al. A cross-sectional cohort survey in 2100 patients with painful diabetic neuropathy and postherpetic neuralgia: differences in demographic data and sensory symptoms. **Pain**, v. 146, n. 1-2, p. 34-40, 2009.

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

BARRET, A. M.; LUCERO, M. A., LE, T.; ROBINSON, R. L.; DWORKIN, R. H.; CHAPPELL, A. S. Epidemiology, public health burden, and treatment of diabetic peripheral neuropathic pain: a review. **Pain medicine**, v. 8, n. s2, p. S50-S62, 2007.

BOUHASSIRA, D. Neuropathic pain: definition, assessment and epidemiology. **Revue neurologique**, v. 175, n. 1-2, p. 16-25, 2019.

BOULTON, A. J.M., VINIK, A.I., AREZZO, J. C., BRIL, V., FELDMAN, E. L., FREEMAN, R., ... & ZIEGLER, D. Diabetic Neuropathies. A statement by the American Diabetes Association. **Diabetes Care**, v. 28, p. 956-962, 2005.

BRUCKI, Sonia et al. Suggestions for utilization of the mini-mental state examination in Brazil. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, v. 61, n. 3B, p. 777-781, 2003.

BRUNTON, Laurence L.; KNOLLMANN, Björn C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman-13**. Artmed Editora, 2018.

CALVO, Margarita; DAWES, John M.; BENNETT, David LH. The role of the immune system in the generation of neuropathic pain. **The lancet neurology**, v. 11, n. 7, p. 629-642, 2012.

CAMERON, N. E., COTTER, M. A. Metabolic and vascular factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy. **Diabetes**, v. 46, n. Supplement 2, p. S31-S37, 1997.

CAMPBELL, J. N, MEYER, R. A. Mechanisms of neuropathic pain. **Neuron**, v. 52, n. 1, p. 77-92, 2006.

CAO, X. H.; BYUN, H. S.; CHEN, S. R.; CAI, Y. Q.; PAN, H. L. Reduction in voltage-gated K⁺ channel activity in primary sensory neurons in painful diabetic neuropathy: role of brain-derived neurotrophic factor. **Journal of Neurochemistry**, v. 114, n. 5, p. 1460-1475, 2010.

CASHMAN, Christopher R.; HÖKE, Ahmet. Mechanisms of distal axonal degeneration in peripheral neuropathies. **Neuroscience letters**, v. 596, p. 33-50, 2015.

CASTRO, Martha MC et al. Comorbidade de sintomas ansiosos e depressivos em pacientes com dor crônica eo impacto sobre a qualidade de vida. **Archives of Clinical Psychiatry**, v. 38, n. 4, p. 126-129, 2011.

CASTRO, Martha Moreira Cavalcante et al. Validade da escala hospitalar de ansiedade e depressão em pacientes com dor crônica. 2006.

CEUSTERS, Werner. Pain Assessment Terminology in the NCBO BioPortal: Evaluation and Recommendations. **ICBO**, v. 2014, p. 1-6, 2014.

CHENG, H. T, DAUCH, J. R, OH S. S., HAYES, J. M., HONG, Y., FELDMAN, E. L. p38 mediates mechanical allodynia in a mouse model of type 2 diabetes. **Molecular Pain**, v. 6, n. 28, p. 1-14, 2010.

CHO, NH1 et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. **Diabetes research and clinical practice**, v. 138, p. 271-281, 2018.

COLLOCA, L., Ludman, T., Bouhassira, D., Baron, R., Dickenson, A. H., Yarnitsky, D. Neuropathic pain. **Nature reviews Disease primers**, v. 3, p. 17002, 2017.

CORTEZ, Daniel Nogueira et al. Complicações e o tempo de diagnóstico do diabetes *mellitus* na atenção primária. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 28, n. 3, p. 250-255, 2015.

COSTIGAN, Michael; SCHOLZ, Joachim; WOOLF, Clifford J. Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. **Annual review of neuroscience**, v. 32, p. 1-32, 2009.

CROFFORD., Oscar B. Diabetes control and complications. **Annual review of medicine**, v. 46, n. 1, p. 267-279, 1995.

DA SILVA OLIVEIRA, Victória R. et al. Photobiomodulation induces antinociception, recovers structural aspects and regulates mitochondrial homeostasis in peripheral nerve of diabetic mice. **Journal of biophotonics**, v. 11, n. 9, p. e201800110, 2018.

DE ANDRADE, Daniel Ciampi et al. Psychometric validation of the Portuguese version of the Neuropathic Pain Symptoms Inventory. **Health and quality of life outcomes**, v. 9, n. 1, p. 107, 2011.

DE OLIVEIRA ALVES, Jose Edgard et al. Mecanismos fisiopatológicos da nocicepção e bases da analgesia perioperatória em pequenos animais. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 8, n. 1, p. 56-68, 2017.

DEMANT, Dyveke 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.

DJOUHRI, Laiche et al. Spontaneous pain, both neuropathic and inflammatory, is related to frequency of spontaneous firing in intact C-fiber nociceptors. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 4, p. 1281-1292, 2006.

DUNNIGAN, Samantha K. et al. Conduction slowing in diabetic sensorimotor polyneuropathy. **Diabetes Care**, v. 36, n. 11, p. 3684-3690, 2013.

DYCK, P.J.; GIANNINI, C. Pathologic alterations in the diabetic neuropathies of humans: a review. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, v. 55, n. 12, p. 1181-1193, 1996.

GIANNINI, C. Pathologic alterations in the diabetic neuropathies of humans: a review. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, v. 55, n. 12, p. 1181-1193, 1996.

DYCK, P.J.; KARNES, J.L.; DAUBE, J. et al. – Clinical and neuropathological criteria for the diagnosis and staging of the diabetic polyneuropathy. *Brain* 108: 861-880, 1985

EBENEZER, Gigi; POLYDEFKIS, Michael. Epidermal innervation in diabetes. In: **Handbook of clinical neurology**. Elsevier, 2014. p. 261-274.

FELDMAN, E. L., STEVENS, M. J., RUSSELL, J. W; PELTIER, A., INZUCCHI, S., PORTE, J. D., SHERWIN, R.S., BARON, A. **The Diabetes Mellitus Manual**. McGraw-Hill, Somatosensory neuropathy, v. 6, p. 366-384, 2005.

FELDMAN, Eva L. et al. Diabetic neuropathy. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 5, n. 1, p. 1-18, 2019.

FERREIRA, Karine A. et al. Validation of brief pain inventory to Brazilian patients with pain. **Supportive Care in Cancer**, v. 19, n. 4, p. 505-511, 2011.

FISHER, Lawrence et al. When is diabetes distress clinically meaningful?: establishing cut points for the Diabetes Distress Scale. **Diabetes care**, v. 35, n. 2, p. 259-264, 2012.

FOLSTEIN, Marshal F.; FOLSTEIN, Susan E.; MCHUGH, Paul R. “Mini-mental state”: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. **Journal of psychiatric research**, v. 12, n. 3, p. 189-198, 1975.

GUELHO, Daniela; PAIVA, Isabel; CARVALHEIRO, Manuela. Diabetes *mellitus*–um «continuum» fisiopatológico. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes E Metabolismo**, v. 8, n. 1, p. 44-49, 2013.

HELLYER, Peter et al. AAHA/AAFP pain management guidelines for dogs and cats. **Journal of Feline Medicine & Surgery**, v. 9, n. 6, p. 466-480, 2007.

HONG, Shuang-song et al. Early painful diabetic neuropathy is associated with differential changes in tetrodotoxin-sensitive and-resistant sodium channels in dorsal root ganglion neurons in the rat. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 28, p. 29341-29350, 2004.

International Diabetes Federation (IDF). 8a ed. Diabetes Atlas; 2020[acesso 2019 Mar 10]. Disponível em: <http://www.diabetesatlas.org/resources/2020-atlas.html>

JAGODIC, Miljen M. et al. Cell-specific alterations of T-type calcium current in painful diabetic neuropathy enhance excitability of sensory neurons. **Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 12, p. 3305-3316, 2007.

JAISWAL, Mamta et al. Prevalence of and risk factors for diabetic peripheral neuropathy in youth with type 1 and type 2 diabetes: SEARCH for Diabetes in Youth Study. **Diabetes care**, v. 40, n. 9, p. 1226-1232, 2017.

JOHNSON, M. S.; RYALS, J. M.; WRIGHT, D. E. Diabetes-induced chemogenic hypoalgesia is paralleled by attenuated stimulus-induced fos expression in the spinal cord of diabetic mice. **The Journal of Pain**, v. 8, n. 8, p. 637-649, 2007.

JUNIOR, Jamir Sardá et al. Validação da escala de pensamentos catastróficos sobre dor. **Acta fisiátrica**, v. 15, n. 1, p. 31-36, 2008.

KANDEL, Eric et al. **Princípios de Neurociências-5**. AMGH Editora, 2014.

KAPUR, Dilip. Neuropathic pain and diabetes. **Diabetes/metabolism research and reviews**, v. 19, n. S1, p. S9-S15, 2003.

KIM, Hyongbum; J KIM, Julie; YOON, Young-sup. Emerging therapy for diabetic neuropathy: cell therapy targeting vessels and nerves. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)**, v. 12, n. 2, p. 168-178, 2012.

KLAUMANN, Paulo Roberto; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, Thiago. Patofisiologia da dor. **Archives of veterinary science**, v. 13, n. 1, 2008.

KRAYCHETE, Durval Campos; SAKATA, Rioko Kimiko. Neuropatias periféricas dolorosas. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, 2011.

KRINGEL, Dario et al. Machine-learned analysis of global and glial/opioid intersection-related DNA methylation in patients with persistent pain after breast cancer surgery. **Clinical epigenetics**, v. 11, n. 1, p. 167, 2019.

KUNER, R.; FLOR, H. Structural plasticity and reorganisation in chronic pain. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 18, n. 1, p. 20, 2017.

LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J. Physiology of Pain. The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. **Philadelphia:Saunders**, v.30,n.4, p. 703-728, 2000.

LAURETTI, Gabriela Rocha. Mechanisms of analgesia of intravenous lidocaine. **Revista brasileira de anestesiologia**, v. 58, n. 3, p. 280-286, 2008.

LAURIA, Giuseppe et al. Epidermal innervation: changes with aging, topographic location, and in sensory neuropathy. **Journal of the neurological sciences**, v. 164, n. 2, p. 172-178, 1999.

LESLIE, R. D. G. et al. Diabetes classification: grey zones, sound and smoke: Action LADA 1. **Diabetes/metabolism research and reviews**, v. 24, n. 7, p. 511-519, 2008.

LEVEILLE SG, Zhang Y, McMullen W, Kelly-Hayes M, Felson D. Sex differences in musculoskeletal pain in older adults. **Pain**. 2005;116(3):332-8. DOI: 10.1016/j.pain.2005.05.002

LOETSCH, Joern et al. Quantitative sensory testing response patterns to capsaicin-and ultraviolet-B-induced local skin hypersensitization in healthy subjects: a machine-learned analysis. **Pain**, v. 159, n. 1, p. 11, 2018.

MACINTYRE, Pamela E. et al. (Ed.). **Acute pain management: scientific evidence**. Melbourne: Australian and New Zealand College of Anaesthetists, 2010.

MCKUNE, M. C.; MURRELL, J. C.; NOLAN, A. M.; WHITE, K. L.; WRIGHT, B. D. Nociception and pain. In: GRIMM, K. A.; LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J. GREENE, S. A.; ROBERTSON, S. A. **Veterinary anesthesia and analgesia** - The fifth edition of Lumb and Jones. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2015. p. 584-616.

MENTING, Juliane; TACK, Cees J.; KNOOP, Hans. Prevalence and correlates of pain in fatigued patients with type 1 diabetes. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 95, p. 68-73, 2017.

MIZISIN, Andrew P. et al. Myelin splitting, Schwann cell injury and demyelination in feline diabetic neuropathy. **Acta neuropathologica**, v. 95, n. 2, p. 171-174, 1998.

MULDER, Donald W. et al. The neuropathies associated with diabetes *mellitus*: A clinical and electromyographic study of 103 anelected diabetic patients. **Neurology**, v. 11, n. 4, p. 275-275, 1961.

MYERS, M. Iliza; PELTIER, Amanda C.; LI, Jun. Evaluating dermal myelinated nerve fibers in skin biopsy. **Muscle & nerve**, v. 47, n. 1, p. 1-11, 2013.

NASCIMENTO, Osvaldo José Moreira do; PUPE, Camila Castelo Branco; CAVALCANTI, Eduardo Boiteux Uchôa. Diabetic neuropathy. **Revista Dor**, v. 17, p. 46-51, 2016.

PAN, Simon; CHAN, Jonah R. Regulation and dysregulation of axon infrastructure by myelinating glia. **Journal of Cell Biology**, v. 216, n. 12, p. 3903-3916, 2017.

RAJA, Srinivasa N. et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain**, v. 161, n. 9, p. 1976-1982, 2020.

RANOUX, Danièle et al. Botulinum toxin type A induces direct analgesic effects in chronic neuropathic pain. **Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society**, v. 64, n. 3, p. 274-283, 2008.

RAPUTOVA, Jana et al. Sensory phenotype and risk factors for painful diabetic neuropathy: a cross-sectional observational study. **Pain**, v. 158, n. 12, p. 2340, 2017.

ROCHA, Anita Perpétua Carvalho et al. Dor: aspectos atuais da sensibilização periférica e central. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, p. 94-105, 2007.

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, 2006.

RONDÓN, L. J.; PRIVAT, A. M.; DAULHAC, L.; DAVIN, N.; MAZUR, A.; FIALIP, J., ESCHALIER, A., COURTEIX, C. Magnesium attenuates chronic hypersensitivity and spinal cord NMDA receptor phosphorylation in a rat model of diabetic neuropathic pain. **The Journal of physiology**, v. 588, n. 21, p. 4205-4215, 2010.

SÁ, Katia Nunes et al. Chronic pain and gender in Salvador population, Brazil. **Pain**, v. 139, n. 3, p. 498-506, 2008.

SAID, G. Diabetic neuropathy—a review. **Nature Clinical Practice Neurology**, v. 3, n. 6, p. 331-340, 2007.

SANDS, M. L. et al. Incidence of distal symmetric (sensory) neuropathy in NIDDM: the San Luis Valley Diabetes Study. **Diabetes Care**, v. 20, n. 3, p. 322-329, 1997.

SANTOS, Jamile G. et al. Translation to Portuguese and validation of the Douleur Neuropathique 4 questionnaire. **The Journal of Pain**, v. 11, n. 5, p. 484-490, 2010.

SAUNDERS, John B. et al. Development of the alcohol use disorders identification test (AUDIT): WHO collaborative project on early detection of persons with harmful alcohol consumption-II. **Addiction**, v. 88, n. 6, p. 791-804, 1993.

SCHAIBLE, H. G; RICHTER, F. Pathophysiology of pain. **Langenbeck's Archives of Surgery**, v. 389, n. 4, p. 237-43, 2004.

SCOTT, James N.; CLARK, Arthur W.; ZOCHODNE, Douglas W. Neurofilament and tubulin gene expression in progressive experimental diabetes: failure of synthesis and export by sensory neurons. **Brain**, v. 122, n. 11, p. 2109-2118, 1999.

SINGLETON, John R. et al. Exercise increases cutaneous nerve density in diabetic patients without neuropathy. **Annals of clinical and translational neurology**, v. 1, n. 10, p. 844-849, 2014.

SIPILÄ, Reetta; KALSO, Eija; LÖTSCH, Jörn. Machine-learned identification of psychological subgroups with relation to pain interference in patients after breast cancer treatments. **The Breast**, v. 50, p. 71-80, 2020.

SIVIERO, Mariana et al. Central mechanisms in burning mouth syndrome involving the olfactory nerve: a preliminary study. **Clinics**, v. 66, n. 3, p. 509-512, 2011.

SOMMER, Claudia. Painful neuropathies. **Current opinion in neurology**, v. 16, n. 5, p. 623-628, 2003.

STEVENS, Jim; BROWN, Brad D.; MCGAHAN, John P. Nephrogenic diabetes insipidus: a cause of severe nonobstructive urinary tract dilatation. **Journal of ultrasound in medicine**, v. 14, n. 7, p. 543-545, 1995.

STINO, Amro Maher et al. Evolving concepts on the role of dyslipidemia, bioenergetics, and inflammation in the pathogenesis and treatment of diabetic peripheral neuropathy. **Journal of the Peripheral Nervous System**, 2020.

SVENSSON, P. et al. Guidelines and recommendations for assessment of somatosensory function in oro-facial pain conditions--a taskforce report. **J Oral Rehabil**, 38, 5, 366-94, May. 2011.

SYDNEY, Priscila Brenner Hilgenberg; CONTI, Paulo César Rodrigues. Diretrizes para avaliação somatossensorial em pacientes portadores de disfunção temporomandibular e dor orofacial. **Rev Dor**, v. 12, n. 4, p. 349-53, 2011.

TEIXEIRA, W. G. J., de Souza Santos, F. P., DE ANDRADE, D. C. A., BEZERRA, S. L., FIGUEIRÓ, J. B., & OKADA, M. (2001). Epidemiologia clínica da dor músculo-esquelética. **Revista de Medicina**, 80, 1-21.

TESFAYE, S.; KEMPLER, P. Painful diabetic neuropathy. **Diabetologia**, v. 48, n. 5, p. 805-807, 2005.

THAISETTHAWATKUL, Pariwat et al. Prediabetes, diabetes, metabolic syndrome, and small fiber neuropathy. **Muscle & Nerve**, v. 61, n. 4, p. 475-479, 2020.

THOMAS, P. K.; TOMLINSON, D. R. Diabetic and hypoglycemic neuropathy. In: Dyck PJ, Thomas PK, Griffin JW, Low PA, Poduslo JF, eds. **Peripheral Neuropathy**. 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co:1219-1250, 1993.

TOMLINSON, D.R.; GARDINER, N.J. Glucose neurotoxicity. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 9, n. 1, p. 36-45, 2008.

TOTH, C. C, JEDRZEJEWSKI, N.M., ELLIS, C.L., FREY, W.H. Cannabinoid-mediated modulation of neuropathic pain and microglial accumulation in a model of murine type I diabetic peripheral neuropathic pain. **Molecular Pain**, v. 6, n. 1, p. 16, 2010.

TOTH, C. C, JEDRZEJEWSKI, N.M., ELLIS, C.L., FREY, W.H. Cannabinoid-mediated modulation of neuropathic pain and microglial accumulation in a model of murine type I diabetic peripheral neuropathic pain. **Molecular Pain**, v. 6, n. 1, p. 16, 2010.

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

VAN HECKE, O. et al. Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies. **PAIN®**, v. 155, n. 4, p. 654-662, 2014.

VINCENT, Andrea M. et al. Diabetic neuropathy: cellular mechanisms as therapeutic targets. **Nature Reviews Neurology**, v. 7, n. 10, p. 573, 2011.

VINIK, A. I. Diabetic Neuropathy: Pathogenesis and Therapy. **Am J Med.**, v. 107(2B):17S–26, 1999.

VON HEHN, Christian A.; BARON, Ralf; WOOLF, Clifford J. Deconstructing the neuropathic pain phenotype to reveal neural mechanisms. **Neuron**, v. 73, n. 4, p. 638-652, 2012.

WANG, Lixin et al. Protein gene product 9.5-immunoreactive nerve fibres and cells in human skin. **Cell and tissue research**, v. 261, n. 1, p. 25-33, 1990.

.ORGANIZATION WH. Definition and diagnosis of diabetes *mellitus* and intermediate hyperglycemia: Report of a WHO/IDF consultation. 2006

WIJNHOVEN, Hanneke AH; DE VET, Henrica CW; PICAVET, H. Susan J. Explaining sex differences in chronic musculoskeletal pain in a general population. **Pain**, v. 124, n. 1-2, p. 158-166, 2006

WOOLF, C. J. Somatic pain--pathogenesis and prevention. **British Journal of Anaesthesia**, v. 75, n. 2, p. 169-176, 1995.

WOOLF, C.J., SHORTLAND, P., REYNOLDS, M., RIDINGS, J., DOUBELL, T., COGGESHALL, R.E. Reorganization of central terminals of myelinated primary afferents in the rat dorsal horn following peripheral axotomy. **J Comp Neurol**; 360(1): 121-134, 1995.

WOOLF, C.J.; MA, Q. Nociceptors-noxious stimulus detectors. **Neuron**, v. 55, n.3, p.353-364, 2007.

WU, Gang et al. Degeneration of myelinated efferent fibers induces spontaneous activity in uninjured C-fiber afferents. **Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 17, p. 7746-7753, 2002.

YOUNG, M. J. et al. A multicentre study of the prevalence of diabetic peripheral neuropathy in the United Kingdom hospital clinic population. **Diabetologia**, v. 36, n. 2, p. 150-154, 1993.

ZHAO, H., ALAM, A., CHEN, Q., EUSMAN, M.A., PAL, A., EGUCHI, S., WU, L., MA, D. The role of microglia in the pathobiology of neuropathic pain development: what do we know? **British Journal of Anaesthesia**, 118 (4): 504-16, 2017.

ZHOU, L. et al. Correlates of epidermal nerve fiber densities in HIV-associated distal sensory polyneuropathy. **Neurology**, v. 68, n. 24, p. 2113-2119, 2007.

ZHU, Ping et al. Cigarette smoking, diabetes, and diabetes complications: call for urgent action. **Current diabetes reports**, v. 17, n. 9, p. 78, 2017.

9. Anexos

Anexo A - Critério de Classificação Econômica – ABEP



O Critério de Classificação Econômica Brasil, enfatiza sua função de estimar o poder de compra das pessoas e famílias urbanas, abandonando a pretensão de classificar a população em termos de "classes sociais". A divisão de mercado definida abaixo é de classes econômicas.

SISTEMA DE PONTOS

Posse de itens

	Quantidade de Itens				
	0	1	2	3	4 ou +
Televisão em cores	0	1	2	3	4
Rádio	0	1	2	3	4
Barbeiro	0	4	5	6	7
Automóvel	0	4	7	9	9
Empregada mensalista	0	3	4	4	4
Máquina de lavar	0	2	2	2	2
Videocassete e/ou DVD	0	2	2	2	2
Geladeira	0	4	4	4	4
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)	0	2	2	2	2

Grau de Instrução do chefe de família

Nomenclatura Antiga	Nomenclatura Atual	
Analfabeto/ Primário incompleto	Analfabeto/ Até 3ª série Fundamental/ Até 3ª série 1ª. Grau	0
Primário completo/ Ginasial incompleto	Até 4ª série Fundamental / Até 4ª série 1ª. Grau	1
Ginasial completo/ Colegial incompleto	Fundamental completo/ 1ª. Grau completo	2
Colegial completo/ Superior incompleto	Médio completo/ 2ª. Grau completo	4
Superior completo	Superior completo	8

CORTES DO CRITÉRIO BRASIL

Classe	Pontos
A1	42 - 46
A2	35 - 41
B1	29 - 34
B2	23 - 28
C1	18 - 22
C2	14 - 17
D	8 - 13
E	0 - 7

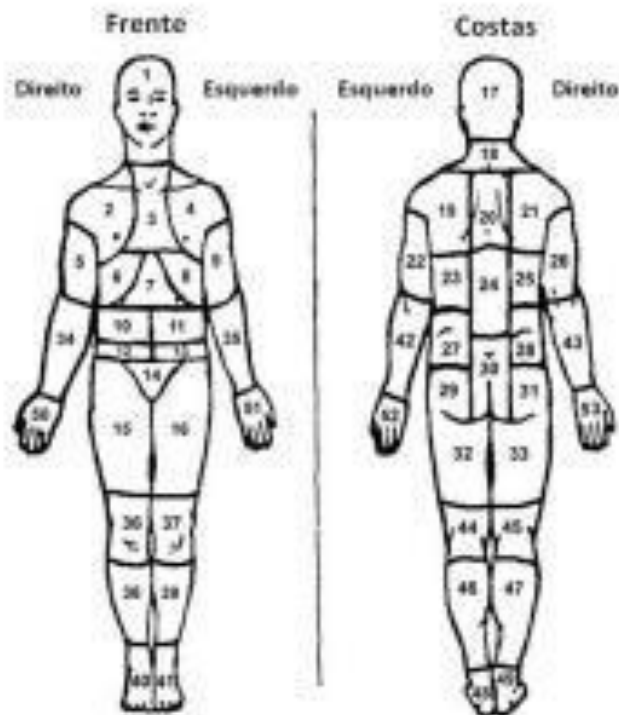
Anexo B – Inventário Breve de Dor

INVENTÁRIO BREVE DE DOR

1) Durante a vida, a maioria das pessoas apresenta dor de vez em quando (dor de cabeça, dor de dente, etc.). Você teve hoje, dor diferente dessas?

1. Sim 2. Não

2) Marque sobre o diagrama, com um X, as áreas onde você sente dor, e onde a dor é mais intensa.



3) Circule o número que melhor descreve a pior dor que você sentiu nas últimas 24 horas.

Sem dor | 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 | Pior dor possível

4) Circule o número que melhor descreve a dor mais fraca que você sentiu nas últimas 24 horas.

Sem dor | 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 | Pior dor possível

5) Circule o número que melhor descreve a média da sua dor.

Sem dor | 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 | Pior dor possível

6) Circule o número que mostra quanta dor você está sentindo agora (neste momento).

Sem dor | 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 | Pior dor possível

Anexo C – DN4

Questionário Para diagnóstico De Dor Neuropática – DN4

Por favor, nas quatro perguntas abaixo, complete o questionário marcando uma resposta para cada número:

ENTREVISTA DO PACIENTE

Questão 1: A sua dor tem uma ou mais das seguintes características?

- 1- Queimação
2- Sensação de frio dolorosa
3- Choque elétrico

Sim	Não
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Questão 2: Há presença de um ou mais dos seguintes sintomas na mesma área da sua dor?

- 4- Formigamento
5- Alfinetada e agulhada
6- Adormecimento
7- Coceira

Sim	Não
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

EXAME DO PACIENTE

Questão 3: A dor está localizada numa área onde o exame físico pode revelar uma ou mais das seguintes características?

- 8- Hipoestesia ao toque
9- Hipoestesia a picada de agulha

Sim	Não
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Questão 4: Na área dolorosa a dor pode ser causada ou aumentada por:

- 10- Escovação

Sim	Não
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

SCORE

0 – Para cada item negativo 1 – Para cada item positivo

Dor Neuropática: Escore total a partir de 4/10.

() Dor Nociceptiva () Dor Neuropática

Anexo D – Questionário McGill Forma Breve

McGill forma breve

Marcar com "X" a presença ou ausência de cada característica da dor

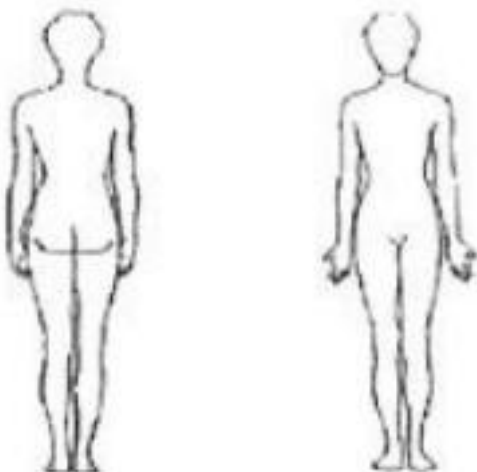
Dimensão Sensitiva	Presente	Ausente
Latejante		
Pontada		
Choque		
Fina/agulhada		
Fisgada		
Queimação		
Espalha		
Dolorida		
Dimensão Afetiva		
Cansativa		
Enjoada		
Sufocante		
Apavorante		
Aborrecida		
Dimensão Avaliativa		
Que incomoda		
Insuportável		

Intensity

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Sem dor Pior dor possível

Intensidade da dor _____



Localização da dor (marcar a localização)

INVENTÁRIO DE SINTOMAS DE DOR NEUROPÁTICA

Q6. A sua dor dá a sensação de apunhalar?												
Sem punhalada	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	A pior punhalada imaginável
Q7. <u>Durante as últimas 24 horas</u> , quantos destes ataques de dor teve? <i>Seleccione a resposta que melhor descreve o seu caso</i>												
Mais de 20												<input type="checkbox"/>
Entre 11 e 20												<input type="checkbox"/>
Entre 6 e 10												<input type="checkbox"/>
Entre 1 e 5												<input type="checkbox"/>
Sem ataque de dor												<input type="checkbox"/>
<i>Nós queremos saber se você sente dor provocada ou aumentada por leve toque, pressão, contacto com frio na área onde dói. Para cada das seguintes questões, por favor seleccione o número que melhor descreve a gravidade média da dor provocada durante as últimas 24 horas. Seleccione o número 0 se você não sentiu tal dor (circule um número apenas).</i>												
Q8. A sua dor é provocada ou aumentada por um leve toque na área dolorosa?												
Sem dor	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	A pior dor imaginável
Q9. A sua dor é provocada ou aumentada por pressão na área dolorosa?												
Sem dor	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	A pior dor imaginável
Q10. A sua dor é provocada ou aumentada por contacto com algo frio na área dolorosa?												
Sem dor	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	A pior dor imaginável
<i>Nós queremos saber se você sente sensações anormais na zona onde dói. Para cada das seguintes questões, por favor seleccione o número que melhor descreve a gravidade média das sensações anormais durante as últimas 24 horas. Seleccione o número 0 se você não sentiu tal dor (circule um número apenas).</i>												
Q11. Sente alfinetes e agulhas?												
Sem alfinetes nem agulhas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Os piores alfinetes e agulhas imagináveis
Q12. Sente dormente?												
Sem dormência	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	O mais dormente imaginável

Anexo F – Escala de Hospitalar de Ansiedade e Depressão

HAD

Nome Idade Classificação	Sexo:	Nasc: / /	Est. Civ:	Profissão:	REG:
				telefone:	

Por favor, leia todas as frases. Marque com um "X" a resposta que melhor corresponder a como você tem se sentido na última semana.

Não é preciso ficar pensando muito em cada questão. Vale mais a sua resposta espontânea.

<p>A - Eu me sinto bem ou controlado</p> <p>3 <input checked="" type="checkbox"/> A maior parte do tempo</p> <p>2 <input checked="" type="checkbox"/> Boa parte do tempo</p> <p>1 <input checked="" type="checkbox"/> De vez em quando</p> <p>0 <input checked="" type="checkbox"/> Nunca</p>	<p>0 <input checked="" type="checkbox"/> Estou lento (lento) para pensar e fazer as coisas</p> <p>3 <input checked="" type="checkbox"/> Quase sempre</p> <p>2 <input checked="" type="checkbox"/> Muitas vezes</p> <p>1 <input checked="" type="checkbox"/> De vez em quando</p> <p>0 <input checked="" type="checkbox"/> Nunca</p>
<p>D - Eu ainda sinto gosto (satisfação) pelas coisas que costumava gostar</p> <p>0 <input checked="" type="checkbox"/> Sim, do mesmo jeito que antes</p> <p>1 <input checked="" type="checkbox"/> Não tanto quanto antes</p> <p>2 <input checked="" type="checkbox"/> Só um pouco</p> <p>3 <input checked="" type="checkbox"/> Já não sinto mais prazer em nada</p>	<p>A - I tento uma sensação ruim de medo (como um tapinha esperto ou um aperto no estômago)</p> <p>0 <input checked="" type="checkbox"/> Nunca</p> <p>1 <input checked="" type="checkbox"/> De vez em quando</p> <p>2 <input checked="" type="checkbox"/> Muitas vezes</p> <p>3 <input checked="" type="checkbox"/> Quase sempre</p>
<p>A - Eu sinto uma sensação de medo, como se alguma coisa rumo fosse acontecer</p> <p>3 <input checked="" type="checkbox"/> Sim, de um jeito muito forte</p> <p>2 <input checked="" type="checkbox"/> Sim, mas não tão forte</p> <p>1 <input checked="" type="checkbox"/> Um pouco, mas isso não me preocupa</p> <p>0 <input checked="" type="checkbox"/> Não sinto nada disso</p>	<p>D - Eu perdi o interesse em cuidar de mim mesmo</p> <p>3 <input checked="" type="checkbox"/> Completamente</p> <p>2 <input checked="" type="checkbox"/> Não estou mais me cuidando como eu deveria</p> <p>1 <input checked="" type="checkbox"/> Talvez não tanto quanto antes</p> <p>0 <input checked="" type="checkbox"/> Cuido-me do mesmo jeito que antes</p>
<p>D - Dou risada e me divirto quando vejo coisas agradáveis</p> <p>0 <input checked="" type="checkbox"/> Do mesmo jeito que antes</p> <p>1 <input checked="" type="checkbox"/> Quase um pouco menos</p> <p>2 <input checked="" type="checkbox"/> Quase bem menos</p> <p>3 <input checked="" type="checkbox"/> Não consigo mais</p>	<p>A - Eu me sinto inquieto, como se eu não pudesse ficar parado em nenhum lugar</p> <p>3 <input checked="" type="checkbox"/> Sim, demais</p> <p>2 <input checked="" type="checkbox"/> Bastante</p> <p>1 <input checked="" type="checkbox"/> Um pouco</p> <p>0 <input checked="" type="checkbox"/> Não me sinto assim</p>
<p>A - Estou com a cabeça cheia de preocupações</p> <p>3 <input checked="" type="checkbox"/> A maior parte do tempo</p> <p>2 <input checked="" type="checkbox"/> Boa parte do tempo</p> <p>1 <input checked="" type="checkbox"/> De vez em quando</p> <p>0 <input checked="" type="checkbox"/> Raramente</p>	<p>D - Fico esperando alguma coisa boa que deve vir</p> <p>0 <input checked="" type="checkbox"/> Do mesmo jeito que antes</p> <p>1 <input checked="" type="checkbox"/> Um pouco menos que antes</p> <p>2 <input checked="" type="checkbox"/> Bem menos do que antes</p> <p>3 <input checked="" type="checkbox"/> Quase nunca</p>
<p>D - Eu me sinto alegre</p> <p>3 <input checked="" type="checkbox"/> Nunca</p> <p>2 <input checked="" type="checkbox"/> Parcialmente</p> <p>1 <input checked="" type="checkbox"/> Muitas vezes</p> <p>0 <input checked="" type="checkbox"/> A maior parte do tempo</p>	<p>A - De repente, tenho a sensação de entrar em pânico</p> <p>3 <input checked="" type="checkbox"/> A quase todo momento</p> <p>2 <input checked="" type="checkbox"/> Várias vezes</p> <p>1 <input checked="" type="checkbox"/> De vez em quando</p> <p>0 <input checked="" type="checkbox"/> Não sinto isso</p>
<p>A - Consigo ficar sentado à vontade e me sentir relaxado</p> <p>0 <input checked="" type="checkbox"/> Sim, quase sempre</p> <p>1 <input checked="" type="checkbox"/> Muitas vezes</p> <p>2 <input checked="" type="checkbox"/> Parcialmente</p> <p>3 <input checked="" type="checkbox"/> Nunca</p>	<p>D - Consigo sentir prazer ao assistir a um bom programa de TV, de rádio ou quando leio alguma coisa</p> <p>0 <input checked="" type="checkbox"/> Quase sempre</p> <p>1 <input checked="" type="checkbox"/> Várias vezes</p> <p>2 <input checked="" type="checkbox"/> Parcialmente</p> <p>3 <input checked="" type="checkbox"/> Quase nunca</p>

Anexo G – Escala de Pensamentos Catastróficos sobre a dor

Escala de Pensamento Catastrófico sobre a Dor (B-PCS)

Nome:		Idade:		Sexo: <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F		Data: / /	
Escolaridade (anos completos de estudo, excluir moral):							
Instruções:							
Listamos 13 declarações que descrevem diferentes pensamentos e sentimentos que podem lhe aparecer na cabeça quando sente dor. Indique o GRAU destes pensamentos e sentimentos quando está com dor							
1	A preocupação durante todo o tempo com a duração da dor é	0	1	2	3	4	
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso	
2	O sentimento de não poder prosseguir (continuar) é	0	1	2	3	4	
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso	
3	O sentimento que a dor é terrível e que não vai melhorar é	0	1	2	3	4	
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso	
4	O sentimento que a dor é horrível e que você não vai resistir é	0	1	2	3	4	
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso	
5	O pensamento de não poder mais estar com alguém é	0	1	2	3	4	
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso	
6	O medo que a dor pode se tornar ainda pior é	0	1	2	3	4	
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso	
7	O pensamento sobre outros episódios de dor é	0	1	2	3	4	
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso	
8	O desejo profundo que a dor desapareça é	0	1	2	3	4	
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso	
9	O sentimento de não conseguir tirar a dor do pensamento é	0	1	2	3	4	
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso	
10	O pensamento que ainda poderá doer mais é	0	1	2	3	4	
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso	
11	O pensamento que a dor é grave porque da não quer parar é	0	1	2	3	4	
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso	
12	O pensamento de que não há nada para fazer para diminuir a intensidade da dor é	0	1	2	3	4	
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso	
13	A preocupação que alguma coisa ruim pode acontecer por causa da dor é	0	1	2	3	4	
		Mínimo	leve	Moderado	Intenso	Muito intenso	

Anexo H – AUDIT

Questionário AUDIT

1. Com que frequência consome bebidas que contêm álcool? [Escreva o número que melhor corresponde à sua situação.]

- 0 = nunca
- 1 = uma vez por mês ou menos
- 2 = duas a quatro vezes por mês
- 3 = duas a três vezes por semana
- 4 = quatro ou mais vezes por semana

2. Quando bebe, quantas bebidas contendo álcool consome num dia normal?

- 0 = uma ou duas
- 1 = três ou quatro
- 2 = cinco ou seis
- 3 = de sete a nove
- 4 = dez ou mais

3. Com que frequência consome seis bebidas ou mais numa única ocasião?

- 0 = nunca
- 1 = menos de um vez por mês
- 2 = pelo menos uma vez por mês
- 3 = pelo menos uma vez por semana
- 4 = diariamente ou quase diariamente

4. Nos últimos 12 meses, com que frequência se apercebeu de que não conseguia parar de beber depois de começar?

- 0 = nunca
- 1 = menos de um vez por mês
- 2 = pelo menos uma vez por mês
- 3 = pelo menos uma vez por semana
- 4 = diariamente ou quase diariamente

5. Nos últimos 12 meses, com que frequência não conseguiu cumprir as tarefas que habitualmente lhe exigem por ter bebido?

- 0 = nunca
- 1 = menos de um vez por mês
- 2 = pelo menos uma vez por mês
- 3 = pelo menos uma vez por semana
- 4 = diariamente ou quase diariamente

6. Nos últimos 12 meses, com que frequência precisou de beber logo de manhã para "curar" uma ressaca?

- 0 = nunca
- 1 = menos de um vez por mês
- 2 = pelo menos uma vez por mês
- 3 = pelo menos uma vez por semana
- 4 = diariamente ou quase diariamente

7. Nos últimos 12 meses, com que frequência teve sentimentos de culpa ou de remorsos por ter bebido?

- 0 = nunca
- 1 = menos de um vez por mês
- 2 = pelo menos uma vez por mês
- 3 = pelo menos uma vez por semana
- 4 = diariamente ou quase diariamente

8. Nos últimos 12 meses, com que frequência não se lembrou do que aconteceu na noite anterior por causa de ter bebido?

- 0 = nunca
- 1 = menos de um vez por mês
- 2 = pelo menos uma vez por mês
- 3 = pelo menos uma vez por semana
- 4 = diariamente ou quase diariamente

9. Já alguma vez ficou ferido ou ficou alguém ferido por you ter bebido?

- 0 = não
- 1 = sim, mas não nos últimos 12 meses
- 2 = sim, aconteceu nos últimos 12 meses

10. Já alguma vez um familiar, amigo, médico ou profissional de saúde manifestou preocupação pelo seu consumo de álcool ou sugeriu que deixasse de beber?

- 0 = não
- 1 = sim, mas não nos últimos 12 meses
- 2 = sim, aconteceu nos últimos 12 meses

Anexo I– Mini Exame do Estado Mental

MINI-EXAME DO ESTADO MENTAL

(Folstein, Folstein & McHugh, 1975)

Paciente: _____

Data da Avaliação: ____/____/____ Avaliador: _____

ORIENTAÇÃO

- Dia da semana (1 ponto)()
- Dia do mês (1 ponto)()
- Mês (1 ponto)()
- Ano (1 ponto)()
- Hora aproximada (1 ponto)()
- Local específico (apartamento ou setor) (1 ponto)()
- Instituição (residência, hospital, clínica) (1 ponto)()
- Bairro ou rua próxima (1 ponto)()
- Cidade (1 ponto)()
- Estado (1 ponto)()

MEMÓRIA IMEDIATA

- Fale 3 palavras não relacionadas. Posteriormente pergunte ao paciente pelas 3 palavras. Dê 1 ponto para cada resposta correta()
- Depois repita as palavras e certifique-se de que o paciente as aprendeu, pois mais adiante você irá perguntá-las novamente.

ATENÇÃO E CÁLCULO

- (100 - 7) sucessivas, 5 vezes sucessivamente
(1 ponto para cada cálculo correto)()
(alternativamente, soletrar MUNDO de trás para frente)

EVOCAÇÃO

- Pergunte pelas 3 palavras ditas anteriormente
(1 ponto por palavra)()

LINGUAGEM

- Nomear um relógio e uma caneta (2 pontos)()
- Repetir "nem aqui, nem ali, nem lá" (1 ponto)()
- Comando: "pegue este papel com a mão direita, dobre ao meio e coloque no chão" (3 pts)()
- Ler e obedecer: "feche os olhos" (1 ponto)()
- Escrever uma frase (1 ponto)()
- Copiar um desenho (1 ponto)()

SCORE: (____/30)



Apêndices*

Apêndice A – Ficha da Aluna



Universidade de São Paulo
 Instituto de Ciências Biomédicas
 Documento sem validade oficial
 FICHA DO ALUNO

42138 - 10674151/1 - Inaeh de Paula Oliveira

Email: inaeholiveira@icb.usp.br
Data de Nascimento: 20/01/1992
Cédula de Identidade: RG - 47.937.756-X - SP
Local de Nascimento: Estado de São Paulo
Nacionalidade: Brasileira
Graduação: Bacharel em Biomedicina - Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas - São Paulo - Brasil - 2018

Curso: Mestrado
Programa: Biologia de Sistemas
Área: Biologia Morfofuncional
Data de Matrícula: 27/06/2018
Início da Contagem de Prazo: 27/06/2018
Data Limite para o Depósito: 01/01/2021
Orientador: Prof(a). Dr(a). Camila Squarzoni Dale - 09/05/2019 até o presente. Email: camila.dale@usp.br
Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 27/06/2018
Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 17/10/2019
Data do Depósito do Trabalho:
Título do Trabalho:
Data Máxima para Aprovação da Banca:
Data de Aprovação da Banca:
Data Máxima para Defesa:
Data da Defesa:
Resultado da Defesa:
Histórico de Ocorrências: Primeira Matrícula em 27/06/2018

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 7493 em vigor a partir de 29/03/2018).
 Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 27/07/2020



Universidade de São Paulo
Instituto de Ciências Biomédicas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

42138 - 10674151/1 - Inaeh de Paula Oliveira

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
BMA5897-2/2	Seminários Avançados do Programa de Ciências Morfofuncionais - Tópico VII	07/08/2018	19/11/2018	15	1	100	A	N	Concluída
BTC5751-4/8	Seminários em Biotecnologia II (Curso Interunidades: Biotecnologia - Universidade de São Paulo)	15/08/2018	27/11/2018	30	2	100	A	N	Concluída
BMB5795-5/2	Neurociência Básica	13/09/2018	22/11/2018	120	8	100	A	N	Concluída
Atividade do Programa	Participou da Etapa de Estágio Supervisionado em Docência do Programa de Aperfeiçoamento do Ensino junto à Disciplina BMA126 - Anatomia Humana, ministrada aos alunos de graduação do curso de Farmácia e Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (1)	01/02/2019	30/06/2019	-	4	-	-	-	-
BMA5890-3/1	Tópicos Avançados em Biologia Morfofuncional I	12/03/2019	24/06/2019	15	1	100	A	N	Concluída
MNE5763-3/1	Avaliação Instrumentalizada em Dor: Uma Visão Crítica (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	13/05/2019	02/06/2019	90	6	100	A	N	Concluída
BMH5767-3/3	Conceitos, Métodos e Diagnósticos em Biologia Tecidual	06/08/2019	18/11/2019	90	0	-	-	N	Matrícula cancelada
MCP5871-3/2	Tratamento de Dados em Estudo Científico (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	12/08/2019	18/08/2019	30	0	-	-	N	Pré-matrícula indeferida
MCM5899-3/2	Fundamentos da Pesquisa Clínica (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	02/09/2019	13/10/2019	60	4	91	A	N	Concluída
MCP5874-1/3	Diabetes, Inflamação e Aterosclerose: Análise Crítica em Pesquisa Básica e Ensaios Clínicos (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	16/09/2019	22/09/2019	30	2	100	A	N	Concluída
BMA5894-3/1	Neuromodulação da Dor	17/09/2019	15/10/2019	60	4	80	A	N	Concluída
MCP5884-1/3	Método Científico Aplicado à Pesquisa Clínica (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	25/11/2019	01/12/2019	30	0	-	-	N	Matrícula cancelada
BMH5747-9/4	Tópicos Avançados em Biologia Celular e Tecidual I	04/03/2020	13/05/2020	60	4	89	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
Disciplinas:	14	32	36
Estágios:			
Total:	14	32	36

Créditos Atribuídos à Dissertação: 64

Observações:

- 1) Créditos atribuídos de acordo com o disposto na Portaria GR-3588/05, alterada pelas Portarias GR-4391/09 e GR-4601/09 - PAE e aprovados pela Comissão de Pós-Graduação, em Sessão de 11/02/2020.

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.
 Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 27/07/2020

Impresso em: 24/08/2020 09:34:46

**Apêndice B– Aprovação de emenda ao protocolo CEP SH n°85121318.200005467 do
ICB/USP São Paulo, SP, Brasil.**



Cidade Universitária "Armando de Sales Oliveira", Butantã, São Paulo, SP - Av. Professor Lineu Prestes, 2415 - ICB III - 05508-000
Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos - Telefone (11) 3091-7733 - e-mail: cep@icb.usp.br

São Paulo, 22 de março de 2018.

PARECER 1382/CEPSH

CAAE n° 85121318.2.0000.5467

Protocolo CEP SH-ICB n° 1426/18

O Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos do ICB, nesta data, **APROVOU** o projeto intitulado: "*Caracterização da prevalência da dor neuropática em pacientes diabéticos diabetes, validação de instrumentos de rastreamento da dor, correlação com neuropatologia cutânea, correlação com polimorfismo do gene para TNF alfa e avaliação efeito da terapia com fotobiomodulação*", da pesquisadora Profa. Dra. **Camila Squarzon Dale**.

Caberá à pesquisadora elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios anuais (parciais e final) de acordo com a Resolução n° 466/12, item II, II.19 e II.20, do Conselho Nacional de Saúde, conforme modelo constante no site: www2.icb.usp.br/icb/cepsb, como também finalizar o processo junto à Plataforma Brasil quando do encerramento deste projeto. O primeiro relatório deverá ser enviado, via Plataforma Brasil, até **22/03/2019**.

Atenciosamente,

Prof. Dra. **REGINA SCIVOLETTO**
Coordenadora 2 do Comitê de Ética em
Pesquisas com Seres Humanos - ICB/USP



USP - INSTITUTO DE
CIÊNCIAS BIOMÉDICAS DA
UNIVERSIDADE DE SÃO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização da prevalência da dor neuropática em pacientes diabéticos diabetes, validação de instrumentos de rastreio da dor, correlação com neuropatologia cutânea, correlação com polimorfismo do gene para TNF alfa e avaliação efeito da terapia com fotobiomodulação

Pesquisador: Camilla Squarzoní Dale

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 85121318.2.0000.5467

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.556.808

Apresentação do Projeto:

O projeto está bem apresentado, embasado em farta literatura especializada. Os Objetivos são claros e bem definidos. A hipótese é viável. O planejamento experimental e os métodos são adequados para atingir os objetivos e são de domínio do grupo proponente. Os critérios de inclusão e exclusão dos participantes estão explicitados. Os riscos são mínimos e os benefícios, ainda que indiretos, são relevantes.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo do projeto é determinar os diferentes perfis sensoriais criando um fenótipo de sinais e sintomas capazes de diferenciar populações distintas de pacientes diabéticos com o mesmo diagnóstico inicial. Avaliar o efeito terapêutico da fotobiomodulação sobre a sensibilidade dolorosa e padrão de cicatrização de feridas de pacientes diabéticos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os riscos são mínimos e são aqueles associados à coleta de sangue periférico e à realização da biópsia de pele. Todos os outros procedimentos de avaliação sensorial não causam dor e nem desconforto de qualquer tipo.

Benefícios: Pode contribuir para o avanço do conhecimento acerca da neuropatia diabética (dolorosa ou não) e neuropatologia cutânea e da terapia por fotobiomodulação como uma terapia alternativa

Endereço: Av. Profº Lineu Prestes, 2415

Bairro: Cidade Universitária

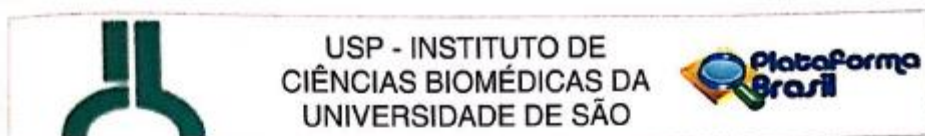
CEP: 05.508-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7733

E-mail: cep@icb.usp.br



Continuação do Parecer: 2.556.808

Ausência	TCLE.pdf	13/03/2018 11:46:28	Camila Squarzoni Data	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao.pdf	09/03/2018 14:50:06	Camila Squarzoni Data	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	07/03/2018 16:16:17	Camila Squarzoni Data	Aceito
Folha de Rosto	Folha.pdf	07/03/2018 16:10:26	Camila Squarzoni Data	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 22 de Março de 2018

Assinado por:
Regina Scivoletto
(Coordenador)

Endereço: Av. Profº Lineu Prestes, 2415

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7733

E-mail: cep@icb.usp.br