



FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS
MÉDICAS

Relação entre o polimorfismo Val66Met do gene do BDNF
com a ativação do córtex motor primário: uma análise
preliminar.

Guilherme de Oliveira Venturini

ORIENTADOR

Professor Wolnei Caumo, M.D., PhD.

Porto Alegre, dezembro de 2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Guilherme de Oliveira Venturini

Orientador: Prof. Wolnei Caumo, M.D., PhD.

Dissertação apresentada como requisito parcial
Para obtenção do título de Mestre em Medicina:
Ciências Médicas pelo Programa de Pós-
Graduação em Medicina: Ciências Médicas da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marino Muxfeldt Bianchin

(PPGCM - UFRGS)

Profa. Dra. Juliana Avila Duarte

(PPGCM-UFRGS)

Profa. Dra. Luciana da Conceição Antunes

(Centro de Ciências da Saúde - UFSC)

Prof. Dr. Gilberto Braulio

(HCPA-UFRGS)

“L'importante non è sapere, ma cercare. Sconfiggere l'ignoranza sia il vostro impegno primario, perché l'ignoranza non ci dà alcun diritto. Continuate a cercare fino alla fine, con la consapevolezza che non potete fare a meno del bene e della vita.”

(Testamento per i medici - Umberto Veronesi)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para construção do saber profissional e pessoal adquiridos durante o mestrado:

Ao Prof. Dr. Wolnei Caumo, por sua dedicação como orientador e amigo. Por ter participado intensamente da minha formação em Dor e durante o percurso deste mestrado.

À Dra. Camila Fernanda da Silveira Alves, por sua persistência em ser minha coorientadora e por sempre estar disponível a me auxiliar nas mais diversas tarefas e desafios.

À Mestre Janete Bandeira, por ter-nos auxiliado no entendimento e desenvolvimento deste estudo, estando sempre pronta a colaborar.

Ao Álvaro de Oliveira Franco, nosso aluno de iniciação científica, que foi fundamental no decorrer dessa trajetória.

Às nossas pacientes e voluntárias, pela paciência, dedicação, e confiança em nossa pesquisa. Seus esforços serão lembrados e ajudarão construir novos caminhos na compreensão da doença e seu tratamento.

Ao Serviço de Dor e Medicina Paliativa, pelos ensinamentos, e pela disponibilidade para facilitar o recrutamento do ensaio clínico randomizado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), que desempenha papel fundamental no fomento da pesquisa em nosso estado.

Ao Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas (PPGCM).

Aos meus pais, Eli João Venturini e Rosane de Oliveira Venturini pelo amor, carinho e dedicação a mim dispensados ao longo da minha vida.

Às minhas irmãs: Camila, Andressa e Bruna, por serem meus portos seguros em todas as horas, e por me lembrarem diariamente da importância de estar próximo a quem se ama.

Aos meus sobrinhos e afilhados: Pedro Henrique, Maya e Maria Fernanda, por me mostrarem que não há limites em amar e ser amado, e que a curiosidade é algo inerente ao ser humano.

À Ana Luíza, por sua paciência e parceria em todas as horas, por entender as ausências e indisponibilidades, por ser minha parceira nessa louca aventura que é a vida.

Aos meus amigos, que compõe a minha família, e que não me permitem esmorecer diante dos desafios.

Ao Dr. Paulo Adilson Herrera, por me mostrar ao longo da minha formação que podemos fazer a diferença na vida dos nossos pacientes.

RESUMO

A fibromialgia (FM) é uma síndrome caracterizada por dor crônica generalizada, sono não reparador, fadiga, e alterações cognitivas. Esse conjunto de sintomas reforça a teoria que a FM é uma doença que se caracteriza por sintomas de disfunção ao nível do sistema nervoso central. Ela tem sido definida como uma síndrome de neuroplasticidade mal adaptativa que cursa com sensibilização central (SC). Dentre os fatores que mediam estes processos, encontramos o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e seus polimorfismos, como os do códon 66 (Val66Met). Os dados a respeito da influência deste polimorfismo nos mecanismos de neuroplasticidade, particularmente no processamento das informações são escassos. Frente a possibilidade de avaliar em tempo real áreas envolvidas no processamento da sinalização nociceptiva e de modulação da dor, tal como o córtex motor primário (M1), este estudo exploratório teve como objetivo quantificar a ativação do M1. Esta foi mensurada por meio da curva de oxihemoglobina pelo método de neuroimagem funcional da Espectroscopia de luz próxima ao infravermelho (fNIRS). As medidas com este equipamento nos fornecem um mapa de ativação cortical, que foi utilizado para comparar o padrão entre os genótipos para o gene do BDNF (Val66Val; Val66Met). Nossa hipótese foi que os indivíduos heterozigotos para este polimorfismo (Val/Met) apresentam maior susceptibilidade à estimulação nociceptiva comparado aos sujeitos homozigotos (Val/Val).

Materiais e Métodos: Neste estudo exploratório, utilizou-se de um paradigma experimental que teve como propósito a indução de nocicepção em condições controladas. O paradigma experimental incluiu a indução de nocicepção pelo frio por meio da imersão da mão dominante em água à temperatura de zero graus Celsius, com o objetivo de avaliar por meio do fNIRS as diferenças nas variações da ativação cortical (AC) em M1 dos diferentes genótipos para o gene do BDNF (Val66Val; Val66Met).

Resultados: Foram selecionadas 14 mulheres com confirmação diagnóstica de FM, nove (64,3%) com genótipo Val66Val e cinco (35,7%) Val66Met. A média (DP) da ativação no córtex motor direito dos heterozigotos foi 22,09 (38,50), enquanto nos homozigotos foi de 3,71 (24,29). Enquanto isso, no lado esquerdo, a média nos portadores de Met foi de -8,65 (50,08) e -1,97 (12,51) para os sujeitos Val / Val. Os grupos diferiram quanto ao escore na Escala de Gravidade da Fibromialgia (FSS), foram então ajustados a média dessa variável, o que levou a um aumento na diferença na ativação cortical entre

os grupos, atingindo uma diferença cem vezes maior na ativação cortical no lado esquerdo dos indivíduos Val/Met (38.9 para 0.36) quando comparados ao outro grupo. Esses dados demonstraram que a ativação cortical pode ser influenciada por fatores como gravidade dos sintomas.

Os achados confirmam nossa hipótese primária de que os portadores do polimorfismo Val/Met apresentam maior variação na ativação do M1 do que os sujeitos homocigotos para o alelo Val/Val. Além disso, o estudo mostra que a ativação cortical é modulada pela gravidade dos sintomas clínicos.

Palavras-chave: córtex motor primário; ativação cortical; Polimorfismo Val66Met; fNIRS;

ABSTRACT

Fibromyalgia (FM) is a syndrome characterized by generalized chronic pain, non-restful sleep, fatigue and cognitive impairment. This set of symptoms reinforces the theory that FM is a disease characterized by symptoms of central nervous system dysfunction. It has been defined as a maladaptive neuroplasticity syndrome that undergoes central sensitization (SC). Among the factors that mediate these processes are brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its polymorphisms, such as codon 66 (Val66Met).

Data about the influence of this polymorphism on neuroplasticity mechanisms, particularly on information processing, are scarce. Given the possibility of evaluating in real time areas involved in the processing of nociceptive signaling and pain modulation, such as the primary motor cortex (M1), this exploratory study aimed to quantify M1 activation. It was measured using the oxyhemoglobin curve using the functional near infrared spectroscopy (fNIRS) method. Measurements with this equipment provide us a cortical activation map, which was used to compare the pattern between genotypes for the BDNF gene (Val66Val; Val66Met). We hypothesized that heterozygous individuals for this polymorphism (Val / Met) are more susceptible to nociceptive stimulation compared to homozygous subjects (Val / Val).

Methods: In this exploratory study, we used an experimental paradigm that aimed to induce nociception under controlled conditions. The experimental paradigm included the induction of cold nociception by immersion of the dominant hand in water at zero degrees Celsius, with the objective of evaluating by fNIRS the differences in variations of cortical activation (CA) in M1 of the different genotypes of the BDNF gene (Val66Val; Val66Met).

Results: We selected 14 women with confirmed FM diagnosis, nine (64.3%) with Val66Val genotype and five (35.7%) Val66Met. The mean (SD) activation in the right motor cortex of the heterozygotes was 22.09 (38.50), while in the homozygotes it was 3.71 (24.29). Meanwhile, on the left side, the average in the Met carriers was -8.65 (50.08) and -1.97 (12.51) for the Val / Val subjects. The groups differed in the score on the Fibromyalgia Severity (FSS), the mean of this variable was then adjusted, which led to an increase in the difference in cortical activation between the groups, reaching a hundred-fold greater difference in cortical activation in the left side of Val / Met individuals (38.9

for 0.36) when compared to the other group. These data demonstrated that cortical activation can be influenced by factors such as symptom severity.

The findings confirm our primary hypothesis that carriers of Val / Met polymorphism show greater variation in M1 activation than subjects homozygous for the Val / Val allele. In addition, the study shows that cortical activation is modulated by the severity of clinical symptoms.

Keywords: primary motor cortex; cortical activation; Val66Met polymorphism; fNIRS;

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS DO PROJETO

Figura 1 – fNIRS e Ativação Cortical

Figura 2 – Mapa Conceitual

FIGURAS DO ARTIGO

Figura 1 – Montagem da touca de aquisição do fNIRS

Figura 2 – Paradigma Experimental

Figura 3 – Gráfico com comparação das médias de Ativação Cortical

LISTA DE TABELAS

Tabelas do Artigo

Tabela 1 – Características demográficas da Amostra

Tabela 2 – Variação das Médias de Ativação Cortical

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C – Graus Celsius

μs – microssegundos

μV – Microvolt

AC / CA – Ativação Cortical, do inglês *Cortical Activation*

ACR – *American College of Rheumatology*

ALE – *Activation Likelihood Estimation*

AR – Artrite Reumatoide

BDNF – Fator neurotrófico derivado do cérebro, do inglês *Brain-derived Neurotrophic Factor*

CPC – Centro de Pesquisas Clínicas

CPT – Tarefa de pressão sob frio (do inglês *Cold Pressor Task*)

CS / SC – Sensibilização Central, do inglês *Central Sensitization*

EA – Efeitos Adversos

EAV – Escala análoga visual

ELISA – Ensaio de imunoabsorção ligado a enzima, do inglês *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*

EMT / TMS – Estimulação Magnética Transcraniana, do inglês *Transcranial Magnetic Stimulation*

ETCC / tDCS – Estimulação Transcraniana de Corrente Contínua, do inglês *Transcranial direct current stimulation*

FAPERGS – Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul

FIPE – Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos

FM – Fibromialgia

fMRI – Ressonância Magnética Funcional, do inglês *Functional magnetic resonance imaging*

fNIRS – Espectroscopia infravermelha funcional, do inglês *functional near infrared spectroscopy*

FSS – Escala de Gravidade da Fibromialgia, do inglês *Fibromyalgia Severity Scale*

HbO – Hemoglobina oxigenada, Oxihemoglobina

HbR – Hemoglobina desoxigenada, Desoxi-hemoglobina

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

IASP – *The International Association for the Study of Pain*

iTBS – Estimulação intermitente por impulso teta, do inglês *intermittent theta burst stimulation*

LED - *Light Emitting Diode*

M1 – Córtex motor primário

mA – Milliampere

min – Minutos

nm - Nanômetro

PPGCM – Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas

PPT – Limiar de dor à pressão, do inglês *Pressure Pain Threshold*.

QST – Teste sensorial quantitativo, do inglês *Quantitative Sensory Testing*

REDCap – do inglês *Research Electronic Data Capture*

SD – Desvio Padrão

Seg – segundos

SNP – Sistema Nervoso Periférico

SSS – Escala de Gravidade de Sintomas, do inglês *Symptom Severity Score*

TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido

UAMP – Unidade de Análises Moleculares e de Proteínas

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

WPI – *Widespread Pain Index*

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| BANCA EXAMINADORA | 3 |
| AGRADECIMENTOS | 5 |
| RESUMO..... | 7 |
| ABSTRACT | 9 |
| LISTA DE FIGURAS..... | 11 |
| FIGURAS DO PROJETO | 11 |
| FIGURAS DO ARTIGO | 11 |
| LISTA DE TABELAS..... | 12 |
| Tabelas do Artigo | 12 |
| LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS | 13 |
| INTRODUÇÃO..... | 16 |
| REVISÃO SISTEMATIZADA DA LITERATURA | 19 |
| FIBROMIALGIA | 19 |
| MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DA DOR..... | 21 |
| MARCO CONCEITUAL | 26 |
| OBJETIVO | 27 |
| REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA | 28 |
| ARTIGO | 35 |
| Abstract..... | 36 |
| Introduction..... | 38 |
| Methods | 39 |
| Statistical Analysis..... | 44 |
| Results..... | 45 |
| Discussion..... | 50 |
| References..... | 52 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 55 |
| PERSPECTIVAS..... | 56 |
| ANEXOS E/OU APÊNDICES | 57 |
| TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO | 58 |
| STROBE..... | 61 |

INTRODUÇÃO

A Fibromialgia (FM) é caracterizada por dor crônica generalizada, associada à fadiga, distúrbios do sono, queda do desempenho cognitivo, redução da funcionalidade e alterações do humor. Estima-se que na população a prevalência varia entre 0,2 e 6,6% (Marques et al. 2017; Guadalupe et al., 2018). É mais prevalente em mulheres, com uma razão de mulheres afetadas para cada homem de 3:1 (Arnold et al., 2019). A média de idade de apresentação está entre 30 e 50 anos (Arnold et al., 2019). Pacientes com FM convivem com diversos fatores que colaboram para uma menor qualidade de vida, tais como o uso contínuo de medicações, maior necessidade de atendimento e acompanhamento médico, absenteísmo, além do convívio com as doenças comórbidas. Pacientes com FM apresentam um risco de acidente vascular cerebral associada a morte duas a três vezes a de controles saudáveis (Tseng et al., 2016). Além disso, 62 a 86% dessas pacientes apresentam sintomas depressivos no decorrer de suas vidas (Alciate et al., 2012).

Diversos mecanismos foram aventados como responsáveis pela constelação de sintomas da FM, incluindo a sensibilização e amplificação da dor. Dentre os mecanismos subjacentes a esses sintomas consta a redução da atividade das vias moduladoras descendentes da dor. Assim como um aumento das vias facilitadoras da dor e aumento difuso no processamento dos estímulos sensoriais. Todos estes sintomas fazem parte da síndrome de Sensibilização Central (SC) (Ossipov et al., 2010). Embora os processos neurofisiológicos que sustentam a SC não estejam completamente esclarecidos, estudos de neuroimagem nos possibilitam acessar processos de forma dinâmica, e assim melhorar a compreensão das diferenças na ativação cortical em diferentes contextos. Estudos com ressonância magnética funcional (fMRI) tem permitido mensurar mapas de ativação de áreas do encéfalo durante a realização de tarefas com paradigmas específicos. No estudo das respostas nociceptivas e de processamento da dor esses mapas tem auxiliado na compreensão dinâmica das áreas que constituem a neuromatriz da dor (Bookheimer et al., 2000; Egan et al, 2003).

Com proposta similar à da fMRI surgiu a fNIRS (Functional Near infrared spectroscopy), ou espectroscopia com método óptico de neuroimagem funcional. Trata-se de alternativa menos onerosas na avaliação do córtex cerebral, somada a sua

aplicabilidade na pesquisa à área cortical e sua respectiva função, a fNIRS surge como candidata por preencher os critérios técnicos e factibilidade desejáveis. Esta técnica permite o mapeamento funcional do córtex do cérebro em tempo real, in vivo, em humanos e em animais, fornecendo informação por meio das alterações hemodinâmicas e da concentração da oxihemoglobina (Ferrari et al. 2012). A fNIRS utiliza níveis seguros de luz, emitidas por laser ou por LED, com comprimentos de onda entre 650 e 950 nm, ou seja, próximo ao infravermelho, e que penetra (até 2cm) nos tecidos biológicos, permitindo atingir o córtex cerebral e interagir com oxi- e desoxi-hemoglobina do sangue. Medindo-se a intensidade desta luz que é espelhada através dos tecidos cranianos, por meio de detectores colocados sobre o escalpo, pode-se inferir, de forma não invasiva, a variação do nível de oxigenação do tecido cerebral e a formação do mapa das regiões de ativação.

Evidências recentes sugerem que o processo fisiopatológico da FM envolve processos neurobiológicos que inclui alterações funcionais do córtex motor e de suas conexões com estruturas subcorticais, além de alterações quantitativas e qualitativas em fibras finas sensitivas do sistema nervoso periférico (SNP). Aliado as alterações periféricas, existe um processo de desinibição central. Sabe-se que o desequilíbrio nos mecanismos de excitação e de inibição, os quais fazem parte dos processos de plasticidade mal adaptativa, que sustentam circuitos reverberantes da dor e de seus sintomas correlatos (Latremoliere et al., 2009). O BDNF está intrinsecamente relacionado a mecanismos de plasticidade cerebral e à sobrevivência neuronal. O polimorfismo funcional (rs6265) de nucleotídeo único no Gene do BDNF, o qual leva a substituição do aminoácido valina para metionina no códon 66 (Val66Met), está associado a uma morfologia cortical anormal, redução da secreção da neurotrofina BDNF, deficiências na memória, redução da atividade do Lobo Temporal Médio (Kleim et al., 2006) e da plasticidade cerebral (Clauw et al., 2009).

Após estas considerações, e para aumentar a compreensão dos mecanismos envolvidos na fisiopatologia da FM e dos diversos fatores que influenciam nas suas características clínicas, desenvolvemos um estudo exploratório utilizando a fNIRS e a genotipagem para o gene do BDNF. Nossa hipótese primária foi que indivíduos que apresentam o Val66Met para o polimorfismo do BDNF são mais suscetíveis a alterações na ativação do córtex motor primário provocado por um estímulo algico padrão.

Esta dissertação está estruturada de acordo com as normas do Programa de Pós-Graduação: Ciências Médicas (PPGCM) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e originou um artigo que está apresentado de acordo com as normas do STROBE.

REVISÃO SISTEMATIZADA DA LITERATURA

A revisão da literatura objetivou buscar informações sobre a relação de fNIRS, dor crônica e FM, além de dados sobre fisiopatologia da dor. A estratégia de busca envolveu as bases de dados PubMed, Cochrane Reviews, EMBASE e Portal Capes com atualização no dia 28 de janeiro de 2019. Quando necessário, referências bibliográficas específicas de artigos identificados foram utilizadas e citados nas referências. Os termos utilizados na busca foram: *Polymorphism, Fibromyalgia, Cortical Activation, Functional Near Infra-red Spectroscopy (fNIRS)*.

FIBROMIALGIA

A dor é uma experiência multidimensional e individual, modulada através das mais diversas experiências e memórias singulares. Estes fatores ambientais ajudam a estruturar a arquitetura sináptica neural e formar a chamada “assinatura da dor”. Quando aguda, a dor é um mecanismo de defesa imprescindível à sobrevivência, alertando a buscar ajuda, auxiliando a evitar situações de risco e a resolução do dano (Melzack et al., 2001). Entretanto, quando ocorre o processo de cronificação da dor, ela perde sua função de alertar e passa a ser a doença em si, acarretando uma grande perda de qualidade de vida e de funcionalidade. Esta disfunção é resultado de um processo multifatorial que envolve o Sistema Nervoso Central (SNC) e o sistema Nervoso Periférico (SNP), tendo entre seus contribuintes fatores psicológicos, fatores genéticos, fatores neurobiológicos e fatores ambientais (Xiao-Su et al. 2019; Chen, W et al. 2016). A Fibromialgia (FM) é um exemplo de síndrome dolorosa que tem como base a Sensibilização Central (SC), sendo frequentemente usada como protótipo de Síndrome da Dor Crônica Primária (Napadow et al. 2012; Clauw et al. 2009).

O termo fibromialgia surgiu 1976, criado pelo *American College of Rheumatology* (ACR) após a descrição e definição da localização dos *tender points* – áreas de maior sensibilidade em músculos, bursas ou tecido gorduroso (Borg-Stein and Stein 1996). Atualmente o diagnóstico da fibromialgia continua sendo clínico, numa perspectiva mais

ampla, que engloba o conceito da dor difusa, somando-se a sintomas como fadiga, sintomas depressivos, sono não reparador e alterações cognitivas por período mínimo de três meses. A ausência de lesão tecidual que justifique os sintomas nos leva, segundo a IASP, a classificá-la como síndrome disfuncional. Além disso, pode coexistir com outras doenças como a artrite reumatoide (AR) por exemplo.

Dentre os diversos mecanismos subjacentes à sua fisiopatologia, inúmeros estudos de genética e epigenética tem sido realizados com o objetivo de entender e encontrar as relações existentes entre os genótipos e a apresentação clínica destes pacientes, podendo inclusive descobrir fatores genéticos de susceptibilidade para o desenvolvimento da FM. Vários genes parecem estar relacionados a FM, dentre eles o do BDNF. Apesar de sua fisiopatologia não estar bem elucidada e ser bastante complexa, sabe-se que esses pacientes possuem distúrbios sensoriais, endócrinos e também alterações de neurotransmissores. As queixas de hiperalgesia, alodinia e dor generalizada, dão corpo a argumentação sobre a existência de amplificação do input nociceptivo, hipótese sustentada por meio de estudos de neuroimagem demonstram diferenças em regiões corticais associadas ao processamento da dor (Harris et al. 2013; Foerster et al 2011). Além disto, alterações periféricas em tecidos musculares, fasciais e nervos periféricos tem apresentado relevância na explicação da fisiopatologia da fibromialgia. Eles demonstraram alterações na utilização do oxigênio em nível muscular (Shang et al. 2011), na densidade capilar e tamanho do músculo (Srikuea et al., 2013). Ao nível de fibras periféricas, tem sido observado que fibromiálgicas comparadas a pacientes depressivas e hígdas, apresentam maior limiar de detecção ao frio e ao calor, menores potenciais evocados com maior latência, padrão característico de lesão de nervo periférico. Esta observação foi confirmada com biópsias de pele, que evidenciaram menor número de fibras nervosas finas não mielinizadas (Üçeyler et al. 2013). Pacientes fibromiálgicas apresentam ainda um menor limiar de dor à pressão, que é generalizado, e tem pouca interferência de fatores cognitivos (Jespersen et al., 2007; Graven-Nielsen et al., 2000; Briestky et al. 2018).

Meta-análise baseada em coordenadas de neuroimagem, a qual fez uso de uma estimativa de probabilidade de ativação (*“Activation likelihood estimation - ALE”*) para FM, incluiu 37 estudos que utilizaram métodos de neuroimagem funcional diversos (Ressonância magnética Funcional, Tomografia por emissão de pósitrons,

eletroencefalograma, entre outros), buscando encontrar as alterações cerebrais apresentadas na FM. Observou-se a existência de diferença nos padrões de atividade na ínsula, amígdala, córtex cingulado anterior/médio, giro temporal superior, córtex somatossensorial primário e secundário, e giro lingual (Dehghan et al. 2016), áreas tradicionalmente associadas à neuromatriz da dor.

O tratamento da FM visa alterar o processo de neuroplasticidade mal adaptativo presente nestes pacientes, por meio de técnicas multimodais. As terapias farmacológicas incluem antidepressivos, anticonvulsivantes (Goldenberge et al., 2004; Arnold et al., 2017; Baptista et al., 2018), relaxantes musculares e analgésicos, buscando o controle sintomático, com limitado nível de sucesso terapêutico, mesmo com as terapêuticas farmacológicas vigentes os resultados são heterogêneos e de pequena magnitude com reduzido impacto na qualidade de vida (Goldenberg et al., 2007; Dymon et al., 2015). A busca de novas opções terapêuticas tem estimulado o desenvolvimento de intervenções não farmacológicas, tais como terapia cognitivo comportamental, atividade física, estimulações periféricas com eletro acupuntura (Bandeira et al., 2019), e estimulação transcraniana magnética e de corrente contínua (Hassett et al., 2017). Aliado ao avanço terapêutico tem-se buscado a compreensão de mecanismos fisiopatológicos que possam auxiliar no avanço da ciência visando melhorar o manejo dessa síndrome.

MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DA DOR

A dor aguda geralmente origina-se de estímulo nociceptivo, proveniente dos receptores localizados nos tecidos somáticos ou viscerais. Este tipo de dor é conduzido por dois tipos de fibra: as A- δ , que são fibras de baixo limiar e rápida condutância, e as fibras C (não mielinizadas), que são de alto limiar e lenta condução. Quando chegam no corno dorsal da medula, estas fibras realizam sinapses com neurônios específicos para condução da dor e também com interneurônios, transmitindo assim o estímulo à região cortical (Tálamo, Córtex Cingulado anterior, insula, e córtex Somatossensorial), que é conhecida como Matrix cortical da dor. O arco reflexo provocado pela dor na medula tem por objetivo ações como mudança de comportamento ou mesmo reações que visam reduzir o dano tecidual. Pacientes com FM apresentam um baixo limiar à dor e percepção exacerbada caracterizada por hiperalgesia, além de dor à estímulos não álgicos (alodinia).

Esta disfunção tem origem nos processos de sensibilização central e periféricos, que são processos fundamentais na fisiopatologia da dor crônica.

A SC é definida pela IASP como “Responsividade aumentada dos neurônios nociceptivos do sistema nervoso central a estímulos normais ou subliminar”. Este processo é resultado de um processo de neuroplasticidade mal adaptativa, que leva as alterações nas funções dos sistemas neuroquímicos e neurofisiológicos (Wilkelstein et al., 2004; DeLeo et al., 2002; Wall et al., 1996). O BDNF, está visceralmente envolvido nos processos de neuroplasticidade cerebral. O polimorfismo comum e funcional localizado no cromossoma 11p13, (dbSNP:rs6265) de nucleotídeo único no Gene do BDNF, causa uma alteração de aminoácidos na proteína da posição 66, valina (Val) para metionina (Met), da proteína proBDNF. (Hariri et al., 2003; Mowla et al., 2001). Sendo o BDNF uma neurotrofina da família de fatores que controlam o crescimento neural, possui papel crítico nos mecanismos de neuroplasticidade, bem como nos efeitos dos tratamentos (Silveira et al., 2017; Bertran et al., 2019; Brietzke et al., 2019). O polimorfismo rs6265, também conhecido como Val66Met, foi associado à morfologia cortical anormal, comprometimento da memória, atividade reduzida do lobo temporal médio (Kleim et al., 2006) e diminuição da plasticidade cerebral (Clauw et al., 2009).

Em indivíduos saudáveis, estudo anterior encontrou redução dos efeitos da estimulação magnética transcraniana repetitiva (EMT) em indivíduos com genótipo Val / Met (Cheeran et al. 2008). E outro estudo, usando o TMS, descobriu que os portadores do alelo Met demonstraram uma reorganização do mapa cortical motor dependente do treinamento reduzida (Kleim JA, 2006). Por outro lado, os portadores de alelos Met parecem responder mais prontamente à estimulação transcraniana por corrente contínua (tDCS) aplicada sobre o córtex motor primário (M1) do que os homozigotos Val / Val (Antal et al., 2010; Teo et al., 2014; Strube et al., 2015). No entanto, o oposto parece ser observado após a estimulação magnética transcraniana repetitiva (EMTr) ou a estimulação intermitente por impulso teta (iTBS), ou seja, uma propensão para que os homozigotos Val/Val exibam alteração cortical mais significativa do que os portadores de Met (Antal et al., 2010; Lee et al., 2013).

Assim sendo, a presença do alelo Met pode estar relacionada a redução da desempenho, numa variedade de domínios da cognição, incluindo memória (Brooks et al.; 2014; Galloway et al., 2008; Gong et al., 2009; Hansell et al., 2007; Ursini et al., 2016;

. Yogeetha et al., 2013), atenção (Lee et al., 2007; Huang et al., 2014; Zeni et al., 2013), ansiedade (Cheen et al., 2006) e funções executivas. Sobretudo, estão associadas a este polimorfismo modificações na plasticidade da via córtico-espinhal (Kleim et al., 2006). Entre as áreas envolvidas nesse processo de neuroplasticidade disfuncional, podemos destacar o papel fundamental do córtex motor primário, área responsável pela modulação da dor (Castillo-Saveedra et al., 2014). De acordo com estudos recentes, que procuram identificar mecanismos neurofisiológicos das diversas síndromes de dor crônica, observou-se alterações nas características basais do M1 (Ohara et al., 2005; Gentile et al., 2019).

Além disso, estudos utilizando EMT (Estimulação Magnética Transcraniana) de pulso único e pareado demonstraram alteração da plasticidade em M1 nos indivíduos com dor neuropática (Vidor et al., 2014), dor miofascial crônica (Baldry et al., 2002) e Fibromialgia (Maioli et al., 2006). Esses estudos encontraram redução da atividade inibitória, que indica um estado de desinibição. Também em estudos recentes o M1 vem sendo considerado alvo para tratamento de dor refratária por meio da estimulação cortical (Leite et al., 2017; Mylius et al., 2012). Estes estudos sugerem que a estimulação de M1 leva à modulação da atividade cortical por efeitos diretos, atingindo núcleos subcorticais, tais como o ventro lateral e talâmico anterior. Além disso, a estimulação de M1 induz efeitos que atingem o tálamo medial, córtex cingulado anterior e porção superior do tronco (Reidler et al. 2012). Estas abordagens têm-se mostrado efetivas no tratamento de diversas síndromes de dor crônica, entre elas a fibromialgia (O'Connell et al., 2010; Da Graca-Tarragó et al. 2019;). Embora esses resultados sejam promissores, ainda persistem lacunas no conhecimento sobre o processamento dos estímulos nociceptivos direcionados a área motora. Dentre estas, as técnicas que permitem mapeamento cortical em tempo real, consta as técnicas de neuroimagem funcional (Fox et al., 2007; Hu et al., 2018).

O emprego dessas técnicas de neuroimagem, para avaliação do córtex cerebral, permite-nos estudar a ativação cortical em cenários variados. Dentre estas técnicas a espectroscopia infravermelha funcional (fNIRS) emerge como técnica acessível economicamente, portátil, de fácil aplicação, empregável durante atividades cotidianas, além do mais possui resolução temporal e espacial (Nguyen and Hong, 2016; Hong and Zafar, 2018).

O fNIRS baseia-se na premissa que a atividade cerebral causa aumento do consumo de oxigênio, e devido ao acoplamento neuro vascular produz alterações no fluxo

sanguíneo cerebral, mais especificamente nas concentrações de oxi- (HbO) e desoxihemoglobina (HbR) (Ferrari and Quaresima, 2012; Scholkmann et al., 2014;). Este método de imagem neurofuncional analisa as mudanças na concentração relativa de HbO e HbR em tempo real, fazendo-o por meio da emissão de feixes luminosos no espectro próximo ao infravermelho (650-950 nm) através dos tecidos cerebrais (escalpo, crânio, espaço subaracnóideo e tecido cortical) (Scholkmann et al., 2013).

Este aparelho é composto por uma touca na qual são acoplados diodos, classificados por suas funções em diodos fonte (*sources*) e diodos receptores (*detector*). A luz emitida nos primeiros atravessa os tecidos cerebrais e retorna ao receptor formando uma onda em forma de banana (“Banana Shape” – Fig. 3). A forma e profundidade desta é determinada pela distância entre a fonte e o receptor, sendo que quanto mais próximos um do outro menor será a profundidade atingida. Este fator ganha grande importância visto que esta onda sofre diversas interferências (batimento cardíaco, respiração, hemodinâmica de tecidos adjacentes, entre outros) e que a distância entre os diodos é determinante na interpretação do sinal obtido (Boas et al., 2004; Strangman et al. 2014; Rupawala et al., 2018).

Várias estratégias para redução desses ruídos fisiológicos estão sendo usadas, desde modelos estatísticos de análise multivariada até a adição de diodo extra à uma distância menor da fonte que aquela dos receptores. A utilização dos chamados canais curtos (“Short Channels”), localizados à menos de 1 cm do diodo fonte, propõe-se ao controle da interferência proveniente da circulação sanguínea das camadas mais superficiais (Okada et al. 2003; Kirilina et al. 2012; Rupawala et al., 2018).

A análise da atenuação sofrida pela luz emitida por meio da lei modificada de Beer–Lambert nos permite correlacioná-las às mudanças nas concentrações de HbO e HbR (Patterson et al., 1989; Delpy et al. 1993; Steinbrink et al., 2006;), e por conseguinte, inferirmos a ativação das diferentes regiões corticais, gerando mapas da ativação funcional (Gentile et al., 2019; Yücel et al. 2015; Bandeira et al. 2019).

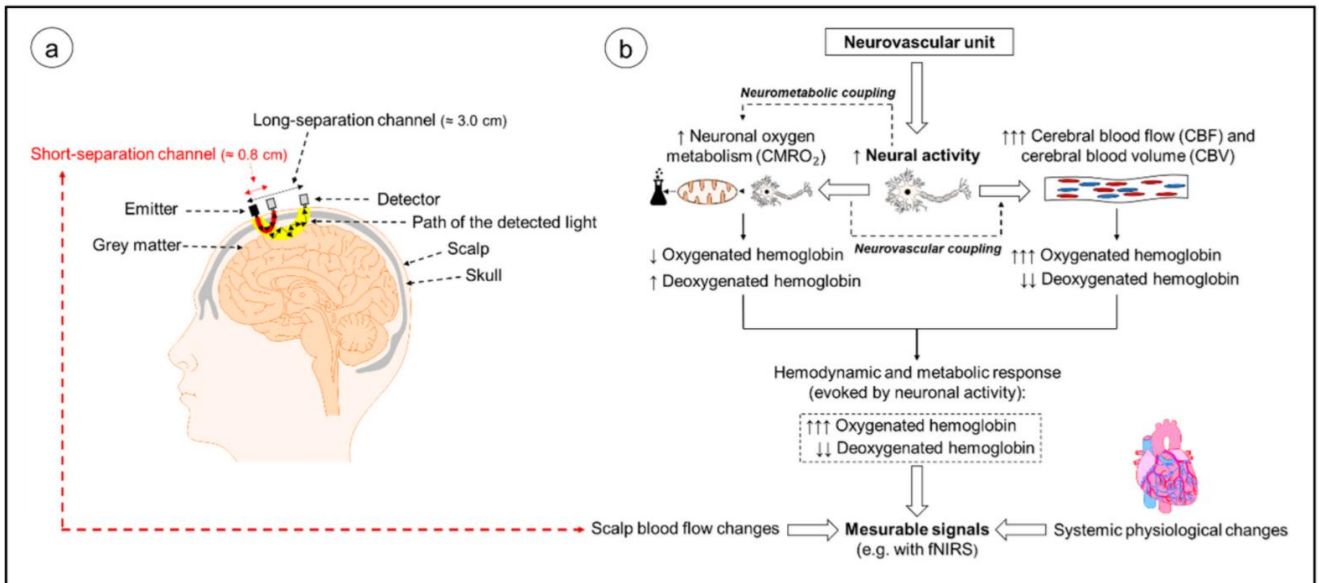


Figura 1 - Imagem adaptada de Herold et al. 2018. (a) Representação esquemática do formato de onda gerada pela fNIRS, exemplificando uma montagem que usa canais curtos. (b) Representação esquemática das mudanças hemodinâmicas provocadas pela ativação cerebral.

MARCO CONCEITUAL

A fibromialgia é uma síndrome de dor crônica associada às alterações corticais decorrentes da neuroplasticidade mal adaptativa. O gene do BDNF e seu polimorfismo (dbSNP:rs6265) parecem estar diretamente relacionados à capacidade de adaptação neuronal, sendo que indivíduos heterozigotos (Val66Met) parecem apresentar, dentre outras alterações, uma menor neuroplasticidade.

O uso de técnicas de neuroimagem funcional, no intuito de compreender as alterações corticais subjacentes que possivelmente estão envolvidas na gênese e propagação da síndrome, tem aumentado exponencialmente no cenário da pesquisa, atribuindo ao fNIRS uma destacada importância no estudo da ativação cortical, visto seu baixo custo relativo e aplicabilidade em situações cotidianas. O córtex motor primário tem papel fundamental na modulação da dor, sendo o alvo de diversas técnicas de neuromodulação.

Sendo assim, a hipótese primária deste estudo foi que indivíduos os quais apresentam o genótipo Val66Met para o polimorfismo do BDNF são mais suscetíveis a alterações na ativação do córtex motor primário provocado por um estímulo algico padrão. A seguir, apresenta-se de forma sucinta e representativa, o mapa conceitual (Figura 4) para facilitar o entendimento do racional teórico deste estudo.

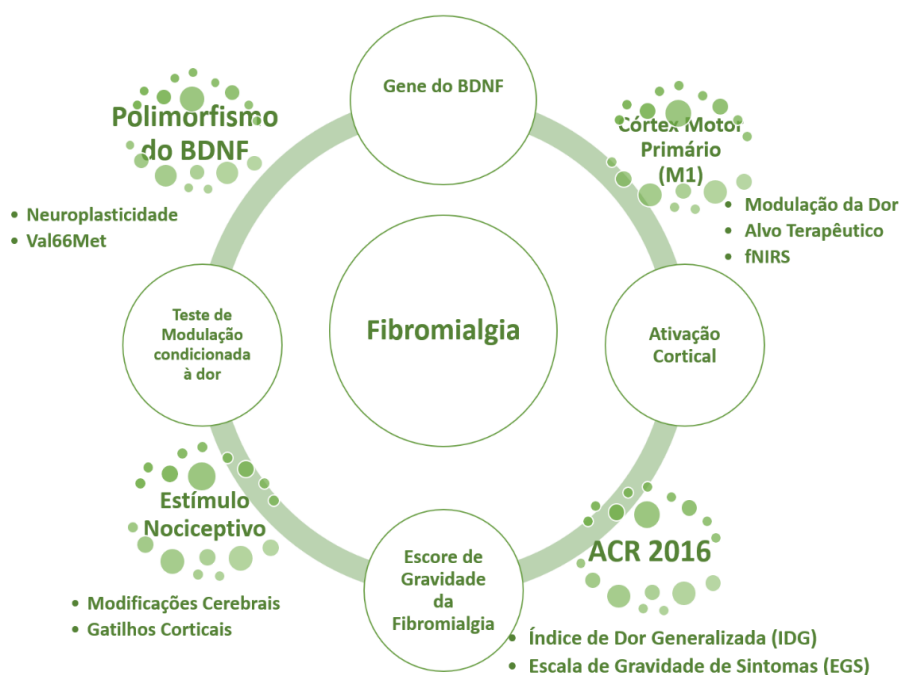


Figura 2 – Mapa Conceitual

OBJETIVO

O objetivo deste estudo exploratório foi avaliar a ativação do córtex motor induzida por um paradigma experimental de indução de nocicepção pelo frio avaliado por meio da curva de oxihemoglobina pelo fNIRS. O mapa de ativação (valor do delta da variação do pré- ao pós-estímulo) foi utilizado para comparar o padrão de ativação entre os genótipos para o gene do BDNF (Val66Val; Val66Met). Nossa hipótese foi de que o polimorfismo (Val/Met) apresentasse maior susceptibilidade à estimulação nociceptiva comparado aos sujeitos homocigotos (Val/Val).

REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA

1. Melzack R. Pain and the neuromatrix in the brain. *J Dent Educ.* 2001 Dec;65(12):1378-82. PubMed PMID: 11780656.
2. Hu, Xiao-Su et al. Brain Functional Changes before, during, and after Clinical Pain. *Journal of Dental Research.* 10.1177/0022034517750136.
3. Napadow, V, Kim, J, Clauw, DJ, and Harris, RE. Decreased intrinsic brain connectivity is associated with reduced clinical pain in fibromyalgia. *Arthritis Rheum.* 2012; 64: 2398–2403
4. Bellato E, Marini E, Castoldi F, et al. Fibromyalgia syndrome: etiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Pain Res Treat.* 2012;2012(June):426130. doi:10.1155/2012/426130.
5. Fagerlund AJ, Hansen OA, Aslaksen PM. Transcranial direct current stimulation as a treatment for patients with fibromyalgia: a randomized controlled trial. *Pain.* 2015;156(1):62-71. doi: 10.1016/j.pain.0000000000000006.
6. Foerster BR, Nascimento TD, DeBoer M, et al. Excitatory and inhibitory brain metabolites as targets of motor cortex transcranial direct current stimulation therapy and predictors of its efficacy in fibromyalgia. *Arthritis Rheumatol (Hoboken, NJ).* 2015;67(2):576-581. doi:10.1002/art.38945.
7. Riberto M, Marcon Alfieri F, Monteiro de Benedetto Pacheco K, et al. Efficacy of transcranial direct current stimulation coupled with a multidisciplinary rehabilitation program for the treatment of fibromyalgia. *Open Rheumatol J.* 2011; 5:45-50. doi:10.2174/1874312901105010045.
8. Goldenberg DL, Burckhardt C, Crofford L. Management of fibromyalgia syndrome. *JAMA.* 2004 Nov 17;292(19):2388-95. Review. PubMed PMID: 15547167.
9. Arnold LM, Clauw DJ. Challenges of implementing fibromyalgia treatment guidelines in current clinical practice. *Postgrad Med.* 2017 Sep;129(7): 709-714. doi: 10.1080/00325481.2017.1336417. Epub 2017 Jun 19. Review. PubMed PMID:28562155.
10. Crofford LJ. Pharmaceutical treatment options for fibromyalgia. *Curr Rheumatol Rep.* 2004;6(4):274-280. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15251075>.
11. Hassett AL, Gevirtz RN. Nonpharmacologic treatment for fibromyalgia: patient education, cognitive-behavioral therapy, relaxation techniques, and complementary and alternative medicine. *Rheum Dis Clin North Am.* 2009;35(2):393-407. doi: 10.1016/j.rdc.2009.05.003.
12. Harris RE, Napadow V, Huggins JP, et al. Pregabalin rectifies aberrant brain chemistry, connectivity, and functional response in chronic pain patients. *Anesthesiology.* 2013;119(6):1453-1464. doi:10.1097/ALN.0000000000000017.
13. Ferrari M, Quaresima V. A brief review on the history of human functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) development and fields of application. *Neuroimage.* 2012;63(2):921-935. doi: 10.1016/j.neuroimage.2012.03.049.
14. Üçeyler N, Zeller J, Kewenig S, Kittel-Schneider S, Fallgatter AJ, Sommer C. Increased cortical activation upon painful stimulation in fibromyalgia syndrome. *BMC Neurol.* 2015;15(1):210. doi:10.1186/s12883-015-0472-4.

15. Latremoliere A, Woolf CJ. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *J Pain*. 2009;10(9):895-926. doi: 10.1016/j.jpain.2009.06.012.
16. Scholkmann F, Kleiser S, Metz AJ, et al. A review on continuous wave functional near-infrared spectroscopy and imaging instrumentation and methodology. *Neuroimage*. 2014;85. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.05.004.
17. Wolfe F, Smythe H a, Yunus MB, et al. The American College of Rheumatology 1990 Criteria for the Classification of Fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee. *Arthritis Rheum*. 1990;33(2):160-172. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2238278>.
18. Wolfe F, Clauw DJ, Fitzcharles M-A, et al. The American College of Rheumatology preliminary diagnostic criteria for fibromyalgia and measurement of symptom severity. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2010;62(5):600-610. doi:10.1002/acr.20140.
19. Sluka KA, Clauw DJ. Neurobiology of fibromyalgia and chronic widespread pain. *Neuroscience*. 2016;338(June):114-129. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.06.006.
20. Foerster BR, Petrou M, Harris RE, et al. Cerebral blood flow alterations in pain-processing regions of patients with fibromyalgia using perfusion MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*. 32(10):1873-1878. doi:10.3174/ajnr. A2614.
21. Shang Y, Gurley K, Symons B, et al. Noninvasive optical characterization of muscle blood flow, oxygenation, and metabolism in women with fibromyalgia. *Arthritis Res Ther*. 2012;14(6): R236. doi:10.1186/ar4079.
22. Srikuera R, Symons TB, Long DE, et al. Association of fibromyalgia with altered skeletal muscle characteristics which may contribute to post exertional fatigue in postmenopausal women. *Arthritis Rheum*. 2013;65(2):519-528. doi:10.1002/art.37763.
23. Üçeyler N, Zeller D, Kahn A-K, et al. Small fiber pathology in patients with fibromyalgia syndrome. *Brain*. 2013;136(Pt 6):1857-1867. doi:10.1093/brain/awt053.
24. Jespersen A, Dreyer L, Kendall S, et al. Computerized cuff pressure algometry: A new method to assess deep-tissue hypersensitivity in fibromyalgia. *Pain*. 2007;131(1-2):57-62. doi: 10.1016/j.jpain.2006.12.012.
25. Graven-Nielsen T, Aspegren Kendall S, Henriksson KG, et al. Ketamine reduces muscle pain, temporal summation, and referred pain in fibromyalgia patients. *Pain*. 2000;85(3):483-491. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10781923>.
26. Dehghan M, Schmidt-Wilcke T, Pfleiderer B, et al. Coordinate-based (ALE) meta-analysis of brain activation in patients with fibromyalgia. *Hum Brain Mapp*. 2016;37(5):1749-1758. doi:10.1002/hbm.23132.
27. Goldenberg DL. Pharmacological treatment of fibromyalgia and other chronic musculoskeletal pain. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2007;21(3):499-511. doi: 10.1016/j.berh.2007.02.012.
28. Lee C-H, Sugiyama T, Kataoka A, et al. Analysis for distinctive activation patterns of pain and itchy in the human brain cortex measured using near infrared spectroscopy (NIRS). *PLoS One*. 2013;8(10): e75360. doi: 10.1371/journal.pone.0075360.
29. Becerra L, Harris W, Grant M, George E, Boas D, Borsook D. Diffuse optical tomography activation in the somatosensory cortex: Specific activation by painful vs. non-painful thermal stimuli. *PLoS One*. 2009;4(11):1-5. doi:

10.1371/journal.pone.0008016.

30. Vidor LP, Torres IL, Medeiros LF, Dussán-Sarria JA, Dall'agnol L, Deitos A, Brietzke A, Laste G, Rozisky JR, Fregni F, Caumo W. Association of anxiety with intracortical inhibition and descending pain modulation in chronic myofascial pain syndrome. *BMC Neurosci* 2014; 19(15): 42. doi: 10.1186/1471-2202-15-42.

31. Maioli C, Falciati L, Marangon M, Perini S, Losio A. Short- and long-term modulation of upper limb motor-evoked potentials induced by acupuncture. *Eur J Neurosci* 2006; 23(7): 1931-8.

32. Winkelstein BA. Mechanisms of central sensitization, neuroimmunology & injury biomechanics in persistent pain: implications for musculoskeletal disorders. *JElectromyogr Kinesiol.* 2004 Feb;14(1):87-93. Review. PubMed PMID: 14759754.

33. DeLeo JA, Winkelstein BA. Physiology of chronic spinal pain syndromes: from animal models to biomechanics. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2002 Nov 15;27(22):2526-37. Review. PubMed PMID: 12435988.

34. Baldry P. Management of myofascial trigger point pain. *Acupunct Med.* 2002 Mar;20(1):2-10. Review. PubMed PMID: 11926600.

35. Cheeran B, Talelli P, Mori F, Koch G, Suppa A, Edwards M, Houlden H, Bhatia K, Greenwood R, Rothwell JC. A common polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene (BDNF) modulates human cortical plasticity and the response to rTMS. *J Physiol.* 2008 Dec 1;586(23):5717-25. doi: 10.1113/jphysiol.2008.159905.

36. Kleim JA, Chan S, Pringle E, Schallert K, Procaccio V, Jimenez R, Cramer SC. BDNF val66met polymorphism is associated with modified experience-dependent plasticity in human motor cortex. *Nat Neurosci.* 2006 Jun;9(6):735-7. Epub 2006 May 7. PubMed PMID: 16680163.

37. Clauw D, Williams D. Fibromyalgia. In: Mayer E, Bushnell M, editors. *Functional pain syndromes: presentation and pathophysiology.* Seattle: IASP Press; 2009. p. 580.

38. Hariri AR, Goldberg TE, Mattay VS, Kolachana BS, Callicott JH, Egan MF, Weinberger DR. 2003. Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance. *J Neurosci.* 23:6690--6694.

39. Antal, A., Chaieb, L., Moliadze, V., Monte-Silva, K., Poreisz, C., Thirugnanasambandam, N., et al. (2010). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene polymorphisms shape cortical plasticity in humans. *Brain Stimul.* 3, 230–237. doi: 10.1016/j.brs.2009.12.003

40. Teo, J. T., Bentley, G., Lawrence, P., Soltesz, F., Miller, S., Wille, D., et al. (2014). Late cortical plasticity in motor and auditory cortex: role of met-allele in BDNF Val66Met polymorphism. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 17, 705–713. doi: 10.1017/S1461145713001636

41. Lee, M., Kim, S. E., Kim, W. S., Lee, J., Yoo, H. K., Park, K. D., et al. (2013). Interaction of motor training and intermittent theta burst stimulation in modulating motor cortical plasticity: influence of BDNF Val66Met polymorphism. *PLoS ONE* 8: e57690. doi: 10.1371/journal.pone.0057690

42. Strube, W., Nitsche, M. A., Wobrock, T., Bunse, T., Rein, B., Herrmann, M., et al. (2015). BDNF-Val66Met-polymorphism impact on cortical plasticity in schizophrenia patients: a proof of concept study. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 18,

1–11. doi: 10.1093/ijnp/pyu040

43. Beltran Serrano, G., Rodrigues, L. P., Schein, B., Souza, A., Torres, I., da Conceição Antunes, L., ... Caumo, W. (2019). Comparison of Hypnotic Suggestion and Transcranial Direct-Current Stimulation Effects on Pain Perception and the Descending Pain Modulating System: A Crossover Randomized Clinical Trial. *Frontiers in neuroscience*, 13, 662. doi:10.3389/fnins.2019.00662.

44. Brietzke AP, Antunes LC, Carvalho F, Elkifury J, Gasparin A, Sanches PRS, da Silva Junior DP, Dussán-Sarria JA, Souza A, da Silva Torres IL, Fregni F, Caumo W. Potency of descending pain modulatory system is linked with peripheral sensory dysfunction in fibromyalgia: An exploratory study. *Medicine (Baltimore)*. 2019 Jan;98(3): e13477. doi: 10.1097/MD.00000000000013477. PubMed PMID: 30653087; PubMed Central PMCID: PMC6370006.

45. Mowla SJ, Farhadi HF, Pareek S, Atwal JK, Morris SJ, Seidah NG, Murphy RA. Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor. *J Biol Chem*. 2001 Apr 20;276(16):12660-6. Epub 2001 Jan 10. PubMed PMID: 11152678.

46. Stephanie A. McHughen¹, Paul F. Rodriguez², Jeffrey A. Kleim³, Erin D. Kleim³, Laura Marchal Crespo⁴, Vincent Procaccio⁵ and Steven C. Cramer^{1,6}. BDNF Val66Met Polymorphism Influences Motor System Function in the Human Brain. *Cerebral Cortex* May 2010; 20:1254--1262 doi:10.1093/cercor/bhp189.

47. Leite J, Carvalho S, Battistella LR, Caumo W, Fregni F. Editorial: The Role of Primary Motor Cortex as a Marker and Modulator of Pain Control and Emotional-Affective Processing. *Front Hum Neurosci*. 2017 May 23; 11:270. doi: 10.3389/fnhum.2017.00270. PMID: 28588468; PMCID: PMC5440504.

48. da Silveira FP, Basso C, Raupp W, Dalpiaz M, Bertoldi K, Siqueira IR, Lago PD, de Souza MP, Elsner VR. BDNF levels are increased in peripheral blood of middle-aged amateur runners with no changes on histone H4 acetylation levels. *J Physiol Sci*. 2017 Nov;67(6):681-687. doi: 10.1007/s12576-016-0496-6. Epub 2016 Oct 14. PubMed PMID: 27743179.

49. Di Lorenzo C, Di Lorenzo G, Daverio A, Pasqualetti P, Coppola G, Giannoudas I, Barone Y, Grieco GS, Niolu C, Pascale E, Santorelli FM, Nicoletti F, Pierelli F, Siracusano A, Seri S. The Val66Met polymorphism of the BDNF gene influences trigeminal pain-related evoked responses. *J Pain*. 2012 Sep;13(9):866-73. doi: 10.1016/j.jpain.2012.05.014. Epub 2012 Aug 14. PubMed PMID: 22901763.

50. Brooks SJ, Nilsson EK, Jacobsson JA, Stein DJ, Fredriksson R, Lind L, Schiöth HB. BDNF polymorphisms are linked to poorer working memory performance, reduced cerebellar and hippocampal volumes and differences in prefrontal cortex in a Swedish elderly population. *PLoS One*. 2014;9: e82707.

51. Galloway EM, Woo NH, Lu B (2008) Persistent neural activity in the prefrontal cortex: a mechanism by which BDNF regulates working memory? *Prog Brain Res* 169: 251–266.

52. Gong P, Zheng A, Chen D, Ge W, Lv C, Zhang K, Gao X, Zhang F. Effect of BDNF Val66Met polymorphism on digital working memory and spatial localization in a healthy Chinese Han population. *J Mol Neurosci*. 2009 Jul;38(3):250-6. doi: 10.1007/s12031-009-9205-8. Epub 2009 May 8. PubMed PMID: 19424874.

53. Hansell NK, James MR, Duffy DL, Birley AJ, Luciano M, Geffen GM, Wright MJ, Montgomery GW, Martin NG. Effect of the BDNF V166M polymorphism on working memory in healthy adolescents. *Genes Brain Behav*.

2007Apr;6(3):260-8.

54. Zeni, Cristian Patrick, Tramontina, Silzá, Zeni, Thamís Aline, Coelho, Roberta, Pheula, Gabriel, Bernardi, Julio, Maldaner, Ursula, Silva, Talita Lopes, Salatino-Oliveira, Angélica, Hutz, Mara, & Rohde, Luis Augusto. (2013). The Val66Met polymorphism at the BDNF gene does not influence Wisconsin Card Sorting Test results in children and adolescents with bipolar disorder. *Brazilian Journal of Psychiatry*, 35(1), 44-50. <https://dx.doi.org/10.1016/j.rbp.2012.02.007>.

55. Yogeetha BS, Haupt LM, McKenzie K, Sutherland HG, Okolicsyani RK, Lea RA, Maher BH, Chan RC, Shum DH, Griffiths LR. BDNF and TNF- α polymorphisms in memory. *Mol Biol Rep*. 2013 Sep;40(9):5483-90. doi: 10.1007/s11033-013-2648-6.

56. Ursini G, Cavalleri T, Fazio L, Angrisano T, Iacovelli L, Porcelli A, Maddalena G, Punzi G, Mancini M, Gelao B, Romano R, Masellis R, Calabrese F, Rampino A, Taurisano P, Di Giorgio A, Keller S, Tarantini L, Sinibaldi L, Quarto T, Popolizio T, Caforio G, Blasi G, Riva MA, De Blasi A, Chiariotti L, Bollati V, Bertolino A. BDNF rs6265 methylation and genotype interact on risk for schizophrenia. *Epigenetics*. 2016;11(1):11-23. doi:10.1080/15592294.2015.1117736.

57. Huang CC, Liu ME, Chou KH, Yang AC, Hung CC, Hong CJ, Tsai SJ, Lin CP. Effect of BDNF Val66Met polymorphism on regional white matter hyperintensities and cognitive function in elderly males without dementia. *Psychoneuroendocrinology*. 2014 Jan; 39:94-103. doi: 10.1016/j.psyneuen.2013.09.027.

58. Chen ZY, Jing D, Bath KG, Ieraci A, Khan T, Siao CJ, Herrera DG, Toth M, Yang C, McEwen BS, Hempstead BL, Lee FS. Genetic variant BDNF (Val66Met) polymorphism alters anxiety-related behavior. *Science*. 2006 Oct 6;314(5796):140-3. doi: 10.1126/science.1129663. PMID: 17023662; PMCID: PMC1880880.

59. Mylius V, Borckardt JJ., Lefaucheur J-P., Noninvasive cortical modulation of experimental pain. *Pain*, 2012. 153(7): p. 1350-63. doi: 10.1016/j.pain.2012.04.009.

60. Reidler JS, Mendonça ME., Santana MB, Wang X, Lenkinski R, Motta AF, Marchand S, Latif L, Fregni F., Effects of Motor Cortex Modulation and Descending Inhibitory Systems on Pain Thresholds in Healthy Subjects. *J Pain*., 2012. 13(5): p. 450-58. doi: 10.1016/j.jpain.2012.01.005.

61. da Graca-Tarragó M, Lech M, Angoleri LDM, Santos DS, Deitos A, Brietzke AP, Torres IL, Fregni F, Caumo W. Intramuscular electrical stimulus potentiates motor cortex modulation effects on pain and descending inhibitory systems in knee osteoarthritis: a randomized, factorial, sham-controlled study. *J Pain Res*. 2019 Jan 3; 12:209-221. doi: 10.2147/JPR.S181019.

62. Gentile E, Ricci K, Delussi M, Brighina F, de Tommaso M. Motor Cortex Function in Fibromyalgia: A Study by Functional Near-Infrared Spectroscopy. *Pain Res Treat*. 2019 Jan 16; 2019:2623161. doi: 10.1155/2019/2623161.

63. Aykut Eken, Didem Gökçay, Cemre Yılmaz, Bora Baskak, Ayşegül Baltacı & Murat Kara (2017): Association of Fine Motor Loss and Allodynia in Fibromyalgia: An fNIRS Study, *Journal of Motor Behavior*, doi: 10.1080/00222895.2017.1400947.

64. Fox MD, Raichle ME. Spontaneous fluctuations in brain activity

observed with functional magnetic resonance imaging. *Nat Rev Neurosci.* 2007 Sep;8(9):700-11. Review. PubMed PMID: 17704812.

65. Hu X, Racek AJ, Bellile E, Nascimento TD, Bender MC, Toback RL, Burnett D, Khatib L, McMahan R, Kovelman I, Ellwood RP, DaSilva AF. Brain Functional Changes before, during, and after Clinical Pain. *J Dent Res.* 2018 May;97(5):523-529. doi: 10.1177/0022034517750136.

66. Castillo Saavedra, L., Mendonca, M., and Fregni, F. (2014). Role of the primary motor cortex in the maintenance and treatment of pain in fibromyalgia. *Med. Hypotheses* 83, 332–336. doi: 10.1016/j.mehy.2014.06.007.

67. Botelho, L. M., Morales-Quezada, L., Rozisky, J. R., Brietzke, A. P., Torres, I. L. S., Deitos, A., et al. (2016). A framework for understanding the relationship between descending pain modulation, motor corticospinal, and neuroplasticity regulation systems in chronic myofascial pain. *Front. Hum. Neurosci.* 10:308. doi: 10.3389/fnhum.2016.00308.

68. Ferrari, M., and Quaresima, V. (2012). A brief review on the history of human functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) development and fields of application. *Neuroimage* 63, 921–935. doi: 10.1016/j.neuroimage.2012.03.049.

69. Franceschini, M. A., Fantini, S., Thompson, J. H., Culver, J. P., and Boas, D. A. (2003). Hemodynamic evoked response of the sensorimotor cortex measured noninvasively with near-infrared optical imaging. *Psychophysiology* 40, 548–560. doi: 10.1111/1469-8986.00057.

70. Jang, S. H., Jang, W. H., Chang, P. H., Lee, S.-H., Jin, S.-H., Kim, Y. G., et al. (2014). Cortical activation change induced by neuromuscular electrical stimulation during hand movements: a functional NIRS study. *J. Neuroeng. Rehabil.* 11:29. doi: 10.1186/1743-0003-11-29.

71. Naseer, N., and Hong, K.-S. (2015). fNIRS-based brain-computer interfaces: a review. *Front. Hum. Neurosci.* 9:3. doi: 10.3389/fnhum.2015.00003.

72. Niederhauser, B. D., Rosenbaum, B. P., Gore, J. C., and Jarquin-Valdivia, A. A. (2008). A functional near-infrared spectroscopy study to detect activation of somatosensory cortex by peripheral nerve stimulation. *Neurocrit. Care* 9, 31–36. doi: 10.1007/s12028-007-9022-2.

73. O’Connell, N. E., Wand, B. M., Marston, L., Spencer, S., and Desouza, L. H. (2010). Non-invasive brain stimulation techniques for chronic pain. *Cochrane Database Syst. Rev.* 9:CD008208. doi: 10.1002/14651858.CD008208.pub2.

74. Ohara, P. T., Vit, J. P., and Jasmin, L. (2005). Cortical modulation of pain. *Cell. Mol. Life Sci.* 62, 44–52. doi: 10.1007/s00018-004-4283-9.

75. Salazar, A. P., Stein, C., Marchese, R. R., Plentz, R. D., and Pagnussat, A. S. (2017). Electric stimulation for pain relief in patients with fibromyalgia: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Pain Physician* 20, 15–25.

76. Scholkmann, F., Kleiser, S., Metz, A. J., Zimmermann, R., Mata Pavia, J., Wolf, U., et al. (2014). A review on continuous wave functional near-infrared spectroscopy and imaging instrumentation and methodology. *Neuroimage* 85, 6–27. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.05.004.

77. Strait, M., and Scheutz, M. (2014). What we can and cannot (yet) do with functional near infrared spectroscopy. *Front. Neurosci.* 8:117. doi: 10.3389/fnins.2014.00117.

78. Yücel, M., Aasted, C., Petkov, M. et al. Specificity of Hemodynamic Brain Responses to Painful Stimuli: A functional near-infrared spectroscopy study.

Sci Rep 5, 9469 (2015) doi:10.1038/srep09469.

79. Delpy DT, Cope M, van der Zee P, Arridge S, Wray S, Wyatt J. Estimation of optical pathlength through tissue from direct time of flight measurement. *Phys Med Biol* 1988; 33:1433 – 42.

80. Steinbrink, J., Villringer, A., Kempf, F., Haux, D., Boden, S., & Obrig, H. (2006). Illuminating the BOLD signal: combined fMRI–fNIRS studies. *Magnetic Resonance Imaging*, 24(4), 495–505. doi: 10.1016/j.mri.2005.12.034.

81. Strangman GE, Zhang Q, Li Z. Scalp and skull influence on near infrared photon propagation in the Colin27 brain template. *Neuroimage* (2014) 85:136–49. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.04.090

82. Boas DA, Dale AM, Franceschini MA. Diffuse optical imaging of brain activation: approaches to optimizing image sensitivity, resolution, and accuracy. *Neuroimage* (2004) 23: S275–88. doi: 10.1016/j.neuroimage.2004.07.011

83. Kirilina E, Jelzow A, Heine A, Niessing M, Wabnitz H, Bruhl R, et al. The physiological origin of task-evoked systemic artefacts in functional near infrared spectroscopy. *Neuroimage* (2012) 61:70–81. doi: 10.1016/j.neuroimage.2012.02.074

84. Okada E, Delpy DT. Near-infrared light propagation in an adult head model. II. Effect of superficial tissue thickness on the sensitivity of the near-infrared spectroscopy signal. *Appl Opt* (2003) 42:2915–22. doi:10.1364/AO.42.002915.

85. Rupawala M, Dehghani H, Lucas SJE, Tino P and Cruse D (2018) Shining a Light on Awareness: A Review of functional Near-Infrared Spectroscopy for Prolonged Disorders of Consciousness. *Front. Neurol.* 9: 350. doi: 10.3389/fneur.2018.00350.

86. Herold, F.; Wiegel, P.; Scholkmann, F.; Müller, N.G. Applications of Functional Near-Infrared Spectroscopy (fNIRS) Neuroimaging in Exercise–Cognition Science: A Systematic, Methodology-Focused Review. *J. Clin. Med.* 2018, 7, 466.

ARTIGO**The BDNF Val66Met polymorphism affects the motor cortex activation map during cold pressure test in patients with fibromyalgia: a preliminary analysis**

Guilherme de Oliveira Venturini, Camila Fernanda da Silveira Alves; Álvaro de Oliveira Franco, Janete Shatkoski Bandeira^{1,2} Iraci Lucena da Silva Torres,³ Felipe Fregni,⁴ Wolnei Caumo, PhD.^{1,2,3}

Affiliations

1 Post-graduation Program in Medicine: Medical Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS)

2 Laboratory of Pain & Neuromodulation, Clinical Hospital of Porto Alegre (HCPA)

3 Pain and Palliative Care Service at Hospital de Clínicas de Porto Alegre

4 Pharmacology of Pain and Neuromodulation: Pre-clinical Investigations, UFRGS

5 Neuromodulation Center, Spaulding Rehabilitation Hospital, Harvard Medical School

*Correspondence: Wolnei Caumo MD, Ph.D., Laboratory of Pain & Neuromodulation, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Ramiro Barcelos Street, Porto Alegre, RS, 90035-003, Brazil. E-mail: wcaumo@hcpa.edu.br

EMAIL ADDRESSES OF CO-AUTHORS:

Camila Fernanda da Silveira Alves (camilaalves.biologia@gmail.com)

Iraci Lucena da Silva Torres (iltorres@hcpa.edu.br)

Felipe Fregni (fregni.felipe@mgh.harvard.edu)

Wolnei Caumo (wcaumo@hcpa.edu.br)

Abstract

Fibromyalgia (FM) is a syndrome characterized by widespread pain, fatigue, sleep disorders and cognitive impairment. Central Sensitization (CS) plays a central role in the disease's mechanism, determining neuroplasticity as a central mechanism in FM. The Primary Motor Cortex acts as a modulator in pain process. The common single nucleotide polymorphism (SNP) of the brain-derived neurotrophic Factor (BDNF) gene is associated with changes in neuroplasticity. In this study we aimed to understand the difference in cortical activation of Primary Motor Cortex (M1) as indexed by Functional near-infrared Spectroscopy (FNIRS), between the two different genotypes for this polymorphism (Val66Val and Val66Met). FNIRS is a functional optical imaging method that through the hemodynamic changes in oxygenated (HbO) and de-oxygenated (HbR) blood hemoglobin concentrations in cortical blood flow assess cortical activation.

Methods

Fourteen subjects with FM diagnosis confirmation were selected, which nine (64.3%) were homozygote (Val66Val) and five (35.7%) were heterozygote (Val66Met). An exploratory study was performed through experimental paradigm to analyze the differences in Cortical Activation at the M1, before and after a standardized pain stimulus between the different genotypes. We hypothesized that Met carriers should be more susceptible to motor cortex activation evoked by a standardized nociceptive stimulus compared to homozygotes subjects.

Results

The mean (SD) of the motor cortex activation map indexed by the β coefficient obtained in the right motor cortex in the Val/Met was 22.09 (38.50), whereas in the Val/Val was 3.71 (24.29), and in the left side -8.65 (50.08) to heterozygote and -1.97 (12.51) to Val/Val group. The groups were different regarding the score in Fibromyalgia Severity (FS) Scale, so we adjusted the mean for this variable, and the interaction showed that in the left hemisphere, the average of motor cortex activation coefficient in the Val/Met genotype increased more than eightfold (-8.65 to 0.37) and in the Val/Val increased almost forty-fold (-1.97 to 38.86). These results showed that the cortical activation is influenced by others factors like severity of symptoms.

Conclusion

Our findings confirm our primary hypothesis that the Met carriers present a higher variation in the cortical activation in the M1 after a standardized nociceptive stimulus than the homozygote subjects. Besides that, the study shows that the cortical activation is modulated by the severity of the symptoms.

Keywords: primary motor cortex; cortical activation; Val66Met polymorphism; fNIRS;

Introduction

Fibromyalgia (FMS) is a syndrome characterized by widespread pain, fatigue, sleep disorders, and cognitive impairment. This disorder affects 0.2 to 6.6% of the general population (Marques et al. 2017; Arnold et al., 2018). Although its physiopathology is not entirely elucidated, the central sensitization comprises a primary mechanism in the development of this disease. The neuroplasticity has a vital role in the physio pathological process and in the treatment (Napadow et al. 2012; Clauw et al. 2009). Notably, the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is a neurotrophin member of the nerve growth factor family that has a critical role in the neuroplasticity mechanisms as well in the treatment's effects (Ribeiro et al., 2017; Bertran et al., 2019; Brietzke et al., 2019). A common and functional single nucleotide polymorphism (SNP) in the BDNF gene (c.196G>A, dbSNP: rs6265), also known as Val66Met, has been associated with abnormal cortical morphology, impaired memory, reduced activity of the middle temporal lobe (Kleim et al., 2006) and decreased brain plasticity (Clauw et al., 2009).

In healthy subjects, a previous study found reduced after-effects of repetitive transcranial magnetic stimulation (TMS) in individuals with Val/Met genotype (Cheeran et al. 2008). In addition, it has been reported that Val/Met carriers showed reduced training-dependent motor map reorganization by using TMS (Kleim JA, 2006). Moreover, Met allele carriers appear to respond more readily to transcranial direct current stimulation (tDCS) applied over the primary motor cortex (M1) than Val/Val homozygotes (Antal et al., 2010; Teo et al., 2014; Strube et al., 2015). However, the opposite appears to be observed following repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) or intermittent theta-burst stimulation (iTBS), i.e., a propensity for Val/Val homozygotes to exhibit more significant cortical change than Met carriers (Antal et al., 2010; Lee et al., 2013). Additionally, to neurophysiological measures, another method used to comprehend the relationship between BDNF genotypes on cortical activation is the functional magnetic resonance imaging (fMRI). This neuroimage method has established value for measuring the plasticity of representational maps throughout a short period of motor activity; which allows to correlate to specific genetic polymorphisms (Bookheimer et al. 2000; Egan et al. 2003; Hariri et al. 2003).

Similarly to fMRI, the functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) grants an insight into the underlying physiological principles and the transient dynamics of the vascular response by blood oxygenation level-dependent (BOLD) signals, which are related to the local changes in blood flow (Bandeira et al. 2019; Scholkmann et al. 2014; Santosa et al. 2018; Uçeyler et al. 2015). Both functional neuroimage exams permit to examine the map of cortex activation. However, the fNIRS is a brain imaging technology that is less expensive, more versatile and amenable to interactive paradigms when compared to fMRI.

The motor cortex (M1) is a target area to transcranial neuromodulation with the aim of reverting abnormal neuroplasticity of chronic pain, such as post-stroke pain, pain related to chemotherapy, fibromyalgia, or neuropathic pain, etc. (Leite et al. 2017). Taking this into account, it is critical to advance in the comprehension of neural substrates at cortical areas involved in pain processing. However, to improve the accuracy of the method, it is necessary to use an experimental paradigm to characterize the etiological components of pain (nature, localization, intensity, frequency, and duration of the trigger to evoke pain). Based on the aforementioned factors, this study was designed to test the hypothesis that carriers of the SNP Val66Met on the BDNF gene show a more substantial activation in the motor cortex compared to Val66Val after a standardized nociceptive stimulus. For that, the motor cortex activation map was measured by the oxy-deoxyhemoglobin curves produced by a cold pressure test in FM patients adjusting for the fibromyalgia severity symptoms.

Methods

This study was approved by the Hospital de Clínicas de Porto Alegre Ethics Committee Board (Institutional Review Board IRB 2017-0329), according to the Declaration of Helsinki. The protocol was developed in accordance to the Strengthening Reporting of Observational Studies in Epidemiology Checklist (STROBE). All participants provided oral and written informed consent.

Recruitment, Inclusion and Exclusion Criteria

Fibromyalgia's patients were recruited according to "American College of Rheumatology - 2016 Revisions to the 2010/2011" (Wolfe et al., 2016), applied by trained

physicians with more than ten years of experience in pain care. The ACR criteria include Widespread pain index (WPI) and symptom severity score (SSS) as diagnosis tool. Criteria (1) $WPI \geq 7$ and $SSS \geq 5$ or $WPI 4-6$ and $SSS \geq 9$. (2) Generalized pain: pain in 4/5 regions. (3) Symptoms present \geq three months. The fibromyalgia diagnosis does not need to rule out all other conditions that could explain the symptoms if criteria 1-3 are all met. The total score in the WPI (range 0 to 19) and the SSS (range 0-12). The fibromyalgia Severity Scale (FS) score range from zero to 31 (Wolfe et al., 2013). The subjects should also present daily disability for the routine activities due to FM during the three months preceding the enrolment, and they need to report a score of at least 50 mm on the 0-100 mm visual analog scale (VAS 0-100mm). Exclusion criteria: subjects were excluded if they had a positive history of rheumatoid arthritis, lupus, autoimmune disease, neurological or oncology disease, clinical disease uncompensated (i.e., ischemic heart disease, renal disease, hepatic disease, etc.). The use of illicit drugs in the last six months was also used as an exclusion factor.

Instruments and Assessment Outcomes

1. Dependent Variables

The main outcome was the motor cortex activation map assessed by the Δ -value of beta (β) coefficient, which is an index of brain cortex activation measured by relative variation in the oxy-hemoglobin (HbO) concentration, obtained through fNIRS device.

2. Data Acquisition

Cortical activation was evaluated by fNIRS, with a NIRx® continuous waveform, NirScout® 16x24 near infrared spectroscopy device, scan rate 3,91 Hz, dual-wavelengths LEDs sources (760 and 850 nm) with 2 sources and 10 detectors spaced about 3 cm apart and placed over the scalp using the caps provided by EASYCAP®. The montage intended to create 10 channels, 2 of which called Short Channels (distance to source < 1 cm) created in order to reduce the noise from physiological variability in nearby tissues. The projected cap covers bilateral motor cortical areas. Probe localization was established using the international 10-10 EEG system (table 1). Software equipment was NirsStar® 14.2, NirsLab® 2017 and MatLab®. The acquisition consisted in a one session of admeasurement and fNIRS acquisition, starting with seven minutes of resting state,

followed by a cold pain stimulus (dominant hand immerses in water at 0°C) and, when patients no longer tolerate pain, another seven minutes of resting state.

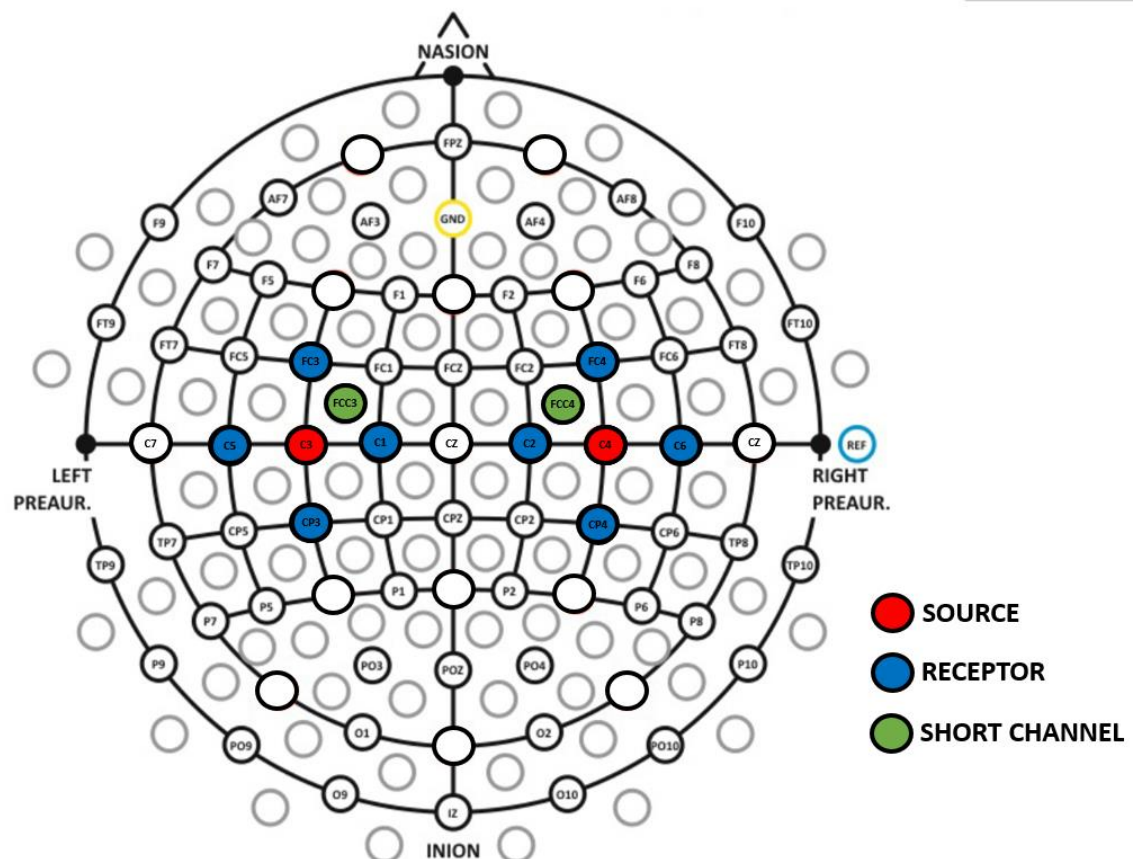


Figure 1. fNIRS cap montage.

3. Data Screening and Preprocessing

Raw data was analyzed through the Brain AnalyzIR® toolbox in the MatLab® platform (Santosa et al., 2018). The end result of this toolbox is a General Linear Model (GLM) that leads to the hemodynamic signal, resulting in a beta (β) value that represents cortical activation. T test was used to analyze if the B value was significantly different from tested conditions. $Y = \beta x + \text{error}$ (demonstrate the parameters used to generate the coefficient by GLM utilized to analyze the hemodynamic signal acquired from fNIRS).

In this equation Y is the measured signal, X is the expected signal, β is the resulting variable. The optical density data were transformed into relative variations of oxyhemoglobin concentrations through modified Beer-Lambert Law (Holmes et al. 1998; Bandeira et al. 2019). In this study, the oxyhemoglobin signal was used in the analysis based on previous reports that indicate that this is the most sensitive variable to evaluate cortical metabolism (Gentile et al. 2019; Bandeira et al. 2019). The Toolbox also modifies the linear model to clean the signal from noise (instrumental noise, experimental errors, and systemic physiological artifacts), dispensing data preprocessing (Barker et al., 2013; Barker et al., 2016).

4. Experimental Paradigm

Subjects were sitting in a comfortable armrest chair and lights were turned off during data acquisition to minimize contamination from other light sources. After explaining, demonstrating and solving doubts about each evoking test, subjects were asked to remain with their eyes open looking at a fixed point, and to reduce any kind of motor activity not related to the experiment. After verifying correct positioning and adequate signal capture data gathering was initiated. The signal was recorded for seven minutes in resting state. The cold pressor test (CPT) was performed while recording the cortical activation for posterior offline analysis. Evoking Tests were produced on dominant hand immersed on ice-saturated water at zero Celsius degree at the maximum pain level the subjects could tolerate. Cortical activation was measured during the seven minutes of resting stating, before they inserted their hands in cold water and right after they removed their hands of the cold water. The temperature of the ice water was measured, and across all tests, it ranged from zero to 1°C (Beltran et al., 2019; Koltzenburg et al., 2006). The cortical activation recorded during the first 120 seconds immediately before immersion of dominant hand and the first 120 seconds after removal of the hand from ice water were used as the outcome. This standardized protocol of stimuli was used to assess the individual cortical activation measured by peak latency and velocity of activation. The total time of each trial before the cold pressure test and after the cold pressor test (CPT) was seven minutes.

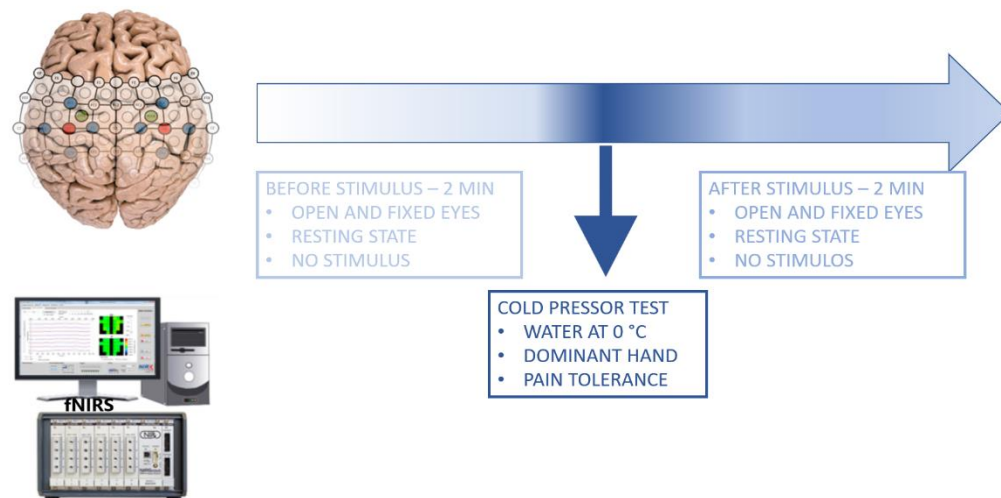


Figure 2. Experimental Paradigm

5. Other Instruments and Assessments

The Central Sensitization Inventory modified and validated for a Brazilian population (CSI-BP) was used to assess symptoms of central sensitization syndrome (Caumo et al., 2017). Catastrophizing was evaluated through Brazilian Portuguese version of the Pain Catastrophizing Scale (Sehn et al., 2012). The pain intensity was assessed with a 10-cm VAS. The VAS scores ranged from no pain (zero) to worst possible pain (10 cm). They were asked to answer the following question using the pain VAS: considering your pain, how intense was your worst pain during the last 24 hours. Demographic data and medical comorbidities were evaluated using a standardized questionnaire.

6. Genetic analyses

Blood samples were collected by venipuncture in 4 ml tubes containing EDTA and centrifuged for plasma and cell separation. Total DNA was purified using the method described by Lahiri and Nurnberger (1991). The genotyping of Val66Met BDNF (rs6265) polymorphism was performed on a StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems Inc, Foster City, USA) using a predesigned TaqMan™ SNP genotyping assay (Thermo Fisher Scientific; catalog 4351379, assay ID: C1159275810).

7. Efforts to Address Potential Sources of Bias

In order to reduce assessment bias, two researchers with the vast clinical expertise in treating outpatients in pain clinic were responsible for confirming the diagnostics according to American College of Rheumatology (ACR) published in 2016 (Wolfe et al., 2016). Two evaluators with specific training were responsible for all assessments and for applying the standardized protocol to assess the CPT-test. To reduce the variability, the same team of researchers performed all NIRS assessments.

Statistical Analysis

To assess if the data presented a normal distribution the Shapiro-Wilk test was used. Descriptive statistics were used to summarize the main characteristics of the sample. T-test for independent samples were used to compare continuously measurements between groups. Descriptive statistics were used to summarize the main socio-demographic features of the sample. For the comparisons between groups for categorical variables, the chi-squared and Fisher's exact tests were used. A linear mixed model (LMM) was used to compare the outcomes defined by the motor cortex brain activation extent mapping generated by statistic β according to described above between Val/Met genotypes, followed by Bonferroni's Multiple Comparison Test. The motor cortex brain activation extent mapping was adjusted for FS score. For all analyses, it was considered an error Type I two-sided (bicaudal) $\alpha=0.05$. For the post hoc sample size calculation, the power of this study's analysis is based on the difference in average scores on the right brain motor cortex activation mapping between the Val /Val and Val/Met genotypes equal to 48 (adjusted mean for Val /Val and Val/Met equal 6.69 and 55.35, respectively) for a pool of variance equal to 30, the statistical power of 100% (with a 2-tailed α level of 0.05). We accepted a type I error of 5%. To perform the analyses outside of the NIRS toolbox we used the software SPSS version 22.0 (SPSS, Chicago, IL, United States). For any tests done using NIRS toolbox was used as a threshold for significance a false discovery rate (FDR) corrected p-value, $p < 0.05$.

Results

Fourteen FM subjects completed the entire protocol, out of which nine (64.29%) of them had Val/Val genotype (homozygous) and five (35.71%) the Val/Met genotype (heterozygous). The clinical and demographic characteristics are presented in Table 1. The groups were significantly different regarding scores in Fibromyalgia Severity (FS) scale, in which the Val/Val variant had higher scores.

| | Val-Val (n=9) | Val-Met (n=5) | P |
|--|---------------|---------------|------|
| Body Mass Index (kg/m ²) | 30.29 (3.73) | 24.38 (2.05) | 0.02 |
| Age (years) | 49.11 (8.2) | 45.6 (2.15) | 0.42 |
| School (years) | 10.89 (4.54) | 17.00 (3.00) | 0.02 |
| Employed (yes/no) | 6 (66.7%) | 5 (100%) | 0.26 |
| Smoking (yes/no) | 1 (11.1%) | 1 (20%) | 1.00 |
| Alcohol use (yes/no) | 4 (44.4%) | 2 (40%) | 1.00 |
| Analgesic medication in use (yes/no) | | | |
| Opioids (yes/no) | 3 (33.3%) | 0 (0%) | 0.26 |
| Non-opioids (yes/no) | 8 (88.9%) | 3 (60%) | 0.51 |
| History of chronic disease (yes/no) | | | |
| Hypertension (yes/no) | 3 (33.3%) | 2 (40%) | 1.00 |
| Type 2 Diabetes Mellitus (yes/no) | 0 (0%) | 0 (0%) | |
| Asthma (yes/no) | 0 (0%) | 2 (40%) | 0.11 |
| History of depression disorders use (yes/no) | 8 (88.9%) | 4 (80%) | 1.00 |
| Use drug active on the nervous system (yes/no)** | | | |
| Selective Serotonin Reuptake Inhibitor in use (yes/no) | 3 (33.3%) | 2 (40%) | 1.00 |
| Tricyclic antidepressant (yes/no) | 2 (22.2%) | 2 (40%) | 0.58 |
| Serotonin/Norepinephrine Reuptake inhibitor (yes/no) | 3 (33.3%) | 1 (20%) | 1.00 |
| Anticonvulsant/GABA Analog (yes/no) | 2 (22.2%) | 3 (60%) | 0.27 |
| Benzodiazepine | 2 (22.2%) | 1 (20%) | 1.00 |
| Visual Analogue Scale (10 cm) | 7.98 (1.89) | 7.66 (0.91) | 0.73 |
| Brazilian Portuguese Pain Catastrophizing Scale | 32.67 (14.10) | 24.00 (13.47) | 0.28 |
| Central Sensitization Inventory | 64.00 (13.63) | 52.60 (16.76) | 0.19 |

| | | | |
|---|--------------|--------------|------|
| Fibromyalgia Severity Scale (FS) | 23.22 (3.83) | 19.00 (2.74) | 0.03 |
| (1) Widespread pain index (WPI) | 13.11 (1.90) | 10.00 (2.00) | 0.01 |
| (2) Generalized pain: pain in 4/5 regions | 10.11 (1.97) | 9.00 (1.87) | 0.32 |

Table 1. Demographic and characteristics according to the genotype. Data are presented as mean and standard deviation (SD) or frequency (n=14).

Motor cortex activation mapping indexed by the beta (β) coefficient evoked by a cold pressure test

To compare the cortex activation mapping the beta (β) coefficient of fNIRS data was used. It is a regressed coefficient to explain the timeline BOLD signal. The Δ -of this β coefficient is a measure of the peak latency average. It is an average of index of HbO acquired during 120 seconds before the CPT, and the average of HbO acquired 120 seconds after the CPT. This β values were used as an index to compare the motor cortex activation map according to Val/Val and Val/Met genotypes.

The mean (SD) of the motor cortex activation map indexed by the β coefficient obtained in the right motor cortex in the Val/Met patients was 22.09 (38.50), whereas in the Val/Val patients was 3.71 (24.29). These averages indicate that the peak latency after upon a standardized nociceptive stimulus increased the motor cortex activation in the right hemisphere almost six-fold in the heterozygote compared to Val homozygote. In the left hemisphere, the motor cortex activation coefficient in the Val/Met group was -8.65 (50.08) whereas in the Val/Val group was -1.97 (12.51). These non-adjusted averages for the severity of symptoms indicate that the peak latency after upon a standardized nociceptive stimulus reduced the cortical activation of the left hemisphere. The mean difference suggests that the Δ -peak latency decreases more than fourfold in the Val/Met compared to Val/Val carries. However, we found that patients with Val/Val genotype showed higher scores in the Fibromyalgia Severity Scale compared to Val/Met patients. To control for this imbalance, this score was included as a covariate in the GLM model used to compare the motor cortex activation coefficient according to genotype. The analyses demonstrated that fibromyalgia severity positively correlates with the Δ -coefficient of motor cortex activation in both the brain hemisphere. However, the interaction between genotypes and FSS score revealed that the severity of symptoms of FM could change the motor cortex activation during the CPT. On other words, motor cortex activation can increase despite the genotype (Table 2). The interaction showed that in the left hemisphere, the average of motor cortex activation coefficient in the Val/Met

genotype increased more than twenty-three times after the adjustment for the FSS score effect [-8.65 to 0.37) and in the Val/Val genotype it increased almost forty-fold (-1.97 to 38.86). These results revealed that the impact of the Val66Met polymorphism on the motor cortex activation is modulated by other factors such as the severity of symptoms.

| Parameter | B | SEM | CI 95% | Wald χ^2 | Df | Sig. | Effect size |
|---|--------------------------|--------|--------------------|---------------|----|------|-------------|
| Δ-value of β coefficient of left motor cortex activation map | | | | | | | |
| <i>(Intercept)</i> | -341.34 | 40.43 | -420.58 to -262.10 | 71.28 | 1 | .000 | |
| BDNF gene Val66Val | 375.38 | 49.36 | 278.64 to 472.13 | 57.83 | 1 | .000 | |
| BDNF gene Val66Met | 0 ^a reference | | | | | | |
| Fibromyalgia Severity Scale (FS) | 17.51 | 2.11 | 13.37 to 21.65 | 68.83 | 1 | .000 | |
| BDNF gene Val66Val * Fibromyalgia Severity Scale | -19.06 | 2.43 | -23.83 to -14.29 | 61.44 | 1 | .000 | |
| BDNF gene Val66Met* Fibromyalgia Severity Scale | 0 ^a reference | | | | | | |
| <i>(Scale)</i> | 133.62b | 50.50 | 63.70 to 280.28 | | 1 | .000 | |
| Δ-value of β coefficient of right motor cortex activation map | | | | | | | |
| <i>(Intercept)</i> | -209.20 | 71.50 | -349.34 to -69.06 | 8.56 | 1 | .003 | |
| BDNF gene Val66Val | 258.83 | 87.30 | 87.73 to 429.92 | 8.79 | 1 | .003 | |
| BDNF gene Val66Met | 0 ^a reference | | | | | | |
| Fibromyalgia Severity Scale (FS) | 12.17 | 3.73 | 4.86 to 19.49 | 10.64 | 1 | .001 | |
| BDNF gene Val66Val * Fibromyalgia Severity Scale | -14.15 | 4.30 | -22.58 to -5.72 | 10.83 | 1 | .001 | |
| BDNF gene Val66Met* Fibromyalgia Severity Scale | 0 ^a reference | | | | | | |
| <i>(Scale)</i> | 417.92b | 157.96 | 199.23 to 876.63 | | | | |

Df = degrees of freedom; *P < 0.05 indicates significant differences between treatment in the estimated marginal means adjusted for multiple comparisons by Bonferroni test. χ^2 , Wald Chi-Square, CI, confidence interval; B, regression coefficient; SE, standard error. The Cramer's V was used as a measure of effect size for qui-square tests. The size effect was interpreted as follows: Standards for interpreting Cramer's V as proposed by Cohen (1988) are the following: DF (degrees of freedom) = 1 (0.10 = small effect) (0.30 = medium effect) (0.50 = large effect). <https://www.campbellcollaboration.org/escalc/html/EffectSizeCalculator-R5.php>.

Table 2. Primary outcome – generalized linear model analyses to compare the Δ -value of β coefficient of motor cortex activation map according to genotypes groups Val/Val and Val/Met. Data are presented as mean (SD) (n=14).

A difference between the genotypes in the motor cortex activation area was observed in this study. The Val/Met genotype presented a greater change as measured by the β coefficient of motor cortex activation bilaterally, even though this difference was more significant in the left motor cortex. These adjusted results are summarized in Figure 3.

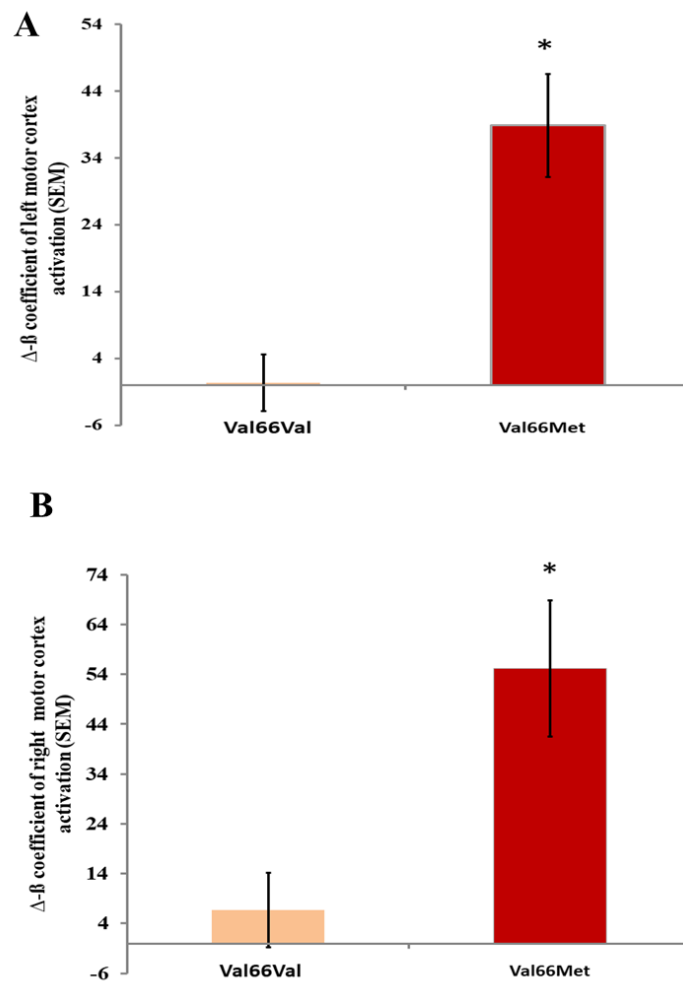


Figure 3. Average of the Δ -value of β coefficient of brain motor cortex activation (A left hemisphere) and B (right hemisphere) according to genotypes groups Val/Val and Val/Met compared by a GLM. Error bars indicate the mean standard error (SEM). Data are presented as mean and SEM. Asterisks show a significant difference after the adjustment for the Bonferroni Test for multiple comparisons.

Discussion

The current results confirmed the hypothesis that there are distinct patterns in the brain motor activation according to BDNF polymorphism. More substantial change in the Δ -value of the β coefficient after upon to cold pressure test was observed in the Val/Met genotype. They showed that the β coefficient of brain motor cortex activation is positively correlated with the fibromyalgia severity scale, revealing an interaction between the genotypes and the severity of FM symptoms. Besides, the severity of clinical symptoms, independently of genotypes polymorphism, increased the motor cortex activation. The higher motor cortex activation in the Val/Met carries, indicates that Met allele plays a central role in the motor cortex activation map.

Although the primary motor cortex is related to antinociception, through the activation of opioids and cannabinoid systems, and medullar anti-inflammatory effect (Silva et al. 2015), the influence of different BDNF gene on the neural network configuration of the human brain remains unclear. Thus, with the perspective to improve the comprehension of the genetic factors influence in motor cortex activation our findings give insights about the possible importance of the Val66Met polymorphism as a factor involved in a differentiated cortical activation pattern. Likewise, it can be a factor to explain the influence of BDNF on the impact of therapeutic interventions' effects, such as tDCS and electroacupuncture, in different chronic pain conditions (Brietzky et al., 2019; Santos et al., 2018). This hypothesis is plausible since the transition from Valine to Methionine at codon 66 of the BDNF gene leads to a decreased activity-dependent secretion of BDNF (Egan et al., 2003) and influences cortical pain processing (Di Lorenzo et al., 2012; Vossen et al., 2010). Given that the BDNF plays an essential role in the synaptic transmission involving glutamate N-methyl-D-aspartate receptors (Lu and Figurov, 1997; Woo et al., 2005), the BDNF Val66Met polymorphism has been suggested as a modulator of neural plasticity (Egan et al., 2003; Kleim et al., 2006; Cheeran et al., 2008). Likewise, changes in neural plasticity in terms of altered long-term potentiation or long-term depression have been observed concerning the Val66Met polymorphism in the human brain (Cheeran et al., 2008; Antal et al., 2010).

These findings suggest that the severity of clinical symptoms modulates the impact of genotypes on the activation of the motor cortex. These results provide possible connections to previous observations regarding the effects of the Val66Met BDNF polymorphisms on brain cortex neuroplasticity. This suggests that the variations of the

potential for neuroplasticity may vary according to the genotypes of this polymorphism, giving insights regarding the brain's susceptibility to brain disorders. We are aware that the influence of multiple genetic variants on brain configuration needs to be further explored. Additionally, it should be delineated if genetic variant-dependent differences in brain configuration could be settled throughout a continuous modulation of experience-dependent neuroplasticity (Kleim et al., 2006) or if they may be observed since birth.

Although this is a preliminary analysis with a few participants compared to other neuroimaging genetics surveys, it is noteworthy that differences in motor cortex activation were found when comparing different genotypes even after employing a Bonferroni-correction for multiple comparisons. It is important to note that the Val66Met subjects presented in the study were heterozygous. The differences observed in this population, even with the presence of 50% fully functional BDNF, reinforce the importance of this polymorphism during motor cortex activation. The FM is a syndrome with complex pathophysiology involving a neurochemical imbalance in the excitatory mechanism. We are aware that a healthy control would be necessary to investigate if the effect of Val66Met polymorphism on cortical activation is mainly determined by the dysfunction related to FM. Further, although our results are likely to help to advance in the comprehension of changes in measures related to neuroplasticity, future studies with larger sample sizes and with healthy control are needed.

In conclusion, these findings support the hypothesis that in FM Met allele is a factor that makes the subjects prone to present higher brain motor cortex activation as indexed by the β coefficient after upon a standardized nociceptive stimulus. However, they revealed that the severity of clinical symptoms could change the effect of genotype.

References

- Antal, A., Chaieb, L., Moliadze, V., Monte-Silva, K., Poreisz, C., Thirugnanasambandam, N., et al. (2010). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene polymorphisms shape cortical plasticity in humans. *Brain Stimul.* 3, 230–237. doi: 10.1016/j.brs.2009.12.003.
- Arnold LM, Bennett RM, Crofford LJ, Dean LE, Clauw DJ, Goldenberg DL, Fitzcharles MA, Paiva ES, Staud R, Sarzi-Puttini P, Buskila D, Macfarlane GJ. AAPT Diagnostic Criteria for Fibromyalgia. *J Pain.* 2019 Jun;20(6):611-628. doi: 10.1016/j.jpain.2018.10.008.
- Bandeira, J. S., Antunes, L., Soldatelli, M. D., Sato, J. R., Fregni, F., & Caumo, W. (2019). Functional Spectroscopy Mapping of Pain Processing Cortical Areas During Non-Painful Peripheral Electrical Stimulation of the Accessory Spinal Nerve. *Frontiers in human neuroscience*, 13, 200. doi:10.3389/fnhum.2019.00200.
- Barker, J.W.; Aarabi, A.; Huppert, T.J. Autoregressive model-based algorithm for correcting motion and serially correlated errors in fnirs. *Biomed. Opt. Express* 2013, 4, 1366–1379.
- Barker, J.W.; Rosso, A.L.; Sparto, P.J.; Huppert, T.J. Correction of motion artifacts and serial correlations for real-time functional near-infrared spectroscopy. *Neurophotonics* 2016, 3, 031410.
- Beltran Serrano, G., Rodrigues, L. P., Schein, B., Souza, A., Torres, I., da Conceição Antunes, L., ... Caumo, W. (2019). Comparison of Hypnotic Suggestion and Transcranial Direct-Current Stimulation Effects on Pain Perception and the Descending Pain Modulating System: A Crossover Randomized Clinical Trial. *Frontiers in neuroscience*, 13, 662. doi:10.3389/fnins.2019.00662.
- Bookheimer, S. Y., Strojwas, M. H., Cohen, M. S., Saunders, A. M., Pericak-Vance, M. A., Mazziotta, J. C., & Small, G. W. (2000). Patterns of brain activation in people at risk for Alzheimer's disease. *The New England journal of medicine*, 343(7), 450–456. doi:10.1056/NEJM200008173430701.
- Botelho, L., Angoleri, L., Zortea, M., Deitos, A., Brietzke, A., Torres, I. L. S., et al. (2018). Insights about the neuroplasticity state on the effect of intramuscular electrical stimulation in pain and disability associated with chronic myofascial pain syndrome (MPS): a double-blind, randomized, sham-controlled trial. *Front. Hum. Neurosci.* 12:388. doi: 10.3389/fnhum.2018.00388.
- Brietzke AP, Zortea M, Carvalho F, Sanches PRS, Silva DPJ, Torres ILDS, Fregni F, Caumo W. Large Treatment Effect with Extended Home-Based Transcranial Direct Current Stimulation Over Dorsolateral Prefrontal Cortex in Fibromyalgia: A Proof of Concept Sham-Randomized Clinical Study. *J Pain.* 2019 Jul 26. pii: S1526-5900(19)30770-9. doi: 10.1016/j.jpain.2019.06.013.
- Caumo, W., Antunes, L. C., Elkfury, J. L., Herbstrith, E. G., Busanello Sipmann, R., Souza, A., ... Neblett, R. (2017). The Central Sensitization Inventory validated and adapted for a Brazilian population: psychometric properties and its relationship with brain-derived neurotrophic factor. *Journal of pain research*, 10, 2109–2122. doi:10.2147/JPR.S131479.
- Clauw DJ. Fibromyalgia: an overview. *Am J Med.* 2009 Dec;122(12 Suppl):S3-S13. doi: 10.1016/j.amjmed.2009.09.006. Review. PubMed PMID: 19962494.
- Clauw DJ. Fibromyalgia: a clinical review. *JAMA.* 2014 Apr 16;311(15):1547-55. doi: 10.1001/jama.2014.3266. Review. PubMed PMID: 24737367.

Cheeran, B., Talelli, P., Mori, F., Koch, G., Suppa, A., Edwards, M., ... Rothwell, J. C. (2008). A common polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene (BDNF) modulates human cortical plasticity and the response to rTMS. *The Journal of physiology*, 586(23), 5717–5725. doi:10.1113/jphysiol.2008.159905.

da Silva, N. R. J., Laste, G., Stefani, L. C., Cambraia-Canto, G., Torres, I. L. S., Brunoni, A. R., et al. (2015). Combined neuromodulatory interventions in acute experimental pain: assessment of melatonin and non-invasive brain stimulation. *Front. Behav. Neurosci.* 9:77. doi: 10.3389/fnbeh.2015.00077

Di Lorenzo C, Di Lorenzo G, Daverio A, Pasqualetti P, Coppola G, Giannoudas I, Barone Y, Grieco GS, Niolu C, Pascale E, Santorelli FM, Nicoletti F, Pierelli F, Siracusano A, Seri S. The Val66Met polymorphism of the BDNF gene influences trigeminal pain-related evoked responses. *J Pain.* 2012 Sep;13(9):866-73. doi: 10.1016/j.jpain.2012.05.014.

Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, Zaitsev E, Gold B, Goldman D, Dean M, Lu B, Weinberger DR. The BDNF Val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell.* 2003 Jan 24;112(2):257-69. PubMed PMID: 12553913.

Gentile, E., Ricci, K., Delussi, M., Brighina, F., & de Tommaso, M. (2019). Motor Cortex Function in Fibromyalgia: A Study by Functional Near-Infrared Spectroscopy. *Pain research and treatment*, 2019, 2623161. doi:10.1155/2019/2623161.

Hariri AR, Goldberg TE, Mattay VS, Kolachana BS, Callicott JH, Egan MF, Weinberger DR. Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance. *J Neurosci.* 2003 Jul 30;23(17):6690-4. PubMed PMID: 12890761; PubMed Central PMCID: PMC6740735.

Holmes CJ, Hoge R, Collins L, Woods R, Toga AW, Evans AC. Enhancement of MR images using registration for signal averaging. *J Comput Assist Tomogr.* 1998 Mar-Apr;22(2):324-33. PubMed PMID: 9530404.

Kleim, J. A., Chan, S., Pringle, E., Schallert, K., Procaccio, V., Jimenez, R., et al. (2006). BDNF val66met polymorphism is associated with modified experience-dependent plasticity in human motor cortex. *Nat. Neurosci.* 9, 735–737. doi: 10.1038/nn1699.

Koltzenburg M., Pokorny R., Gasser U. E., Richarz U. (2006). Differential sensitivity of three experimental pain models in detecting the analgesic effects of transdermal fentanyl and buprenorphine. *Pain* 126 165–174. 10.1016/j.pain.2006.06.028.

Lee, C. H., Sugiyama, T., Kataoka, A., Kudo, A., Fujino, F., Chen, Y. W., ... Yoshioka, T. (2013). Analysis for distinctive activation patterns of pain and itchy in the human brain cortex measured using near infrared spectroscopy (NIRS). *PloS one*, 8(10), e75360. doi:10.1371/journal.pone.0075360.

Leite, J., Carvalho, S., Battistella, L. R., Caumo, W., & Fregni, F. (2017). Editorial: The Role of Primary Motor Cortex as a Marker and Modulator of Pain Control and Emotional-Affective Processing. *Frontiers in human neuroscience*, 11, 270. doi:10.3389/fnhum.2017.00270.

Lu B, Figurov A. Role of neurotrophins in synapse development and plasticity. *Rev Neurosci.* 1997 Jan-Mar;8(1):1-12. Review. PubMed PMID: 9402641.

Marques, Amelia Pasqual, Santo, Adriana de Sousa do Espírito, Berssaneti, Ana Assumpção, Matsutani, Luciana Akemi, & Yuan, Susan Lee King. (2017). A prevalência

de fibromialgia: atualização da revisão de literatura. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 57(4), 356-363. <https://dx.doi.org/10.1016/j.rbre.2017.01.005>.

Napadow, V., Kim, J., Clauw, D. J., & Harris, R. E. (2012). Decreased intrinsic brain connectivity is associated with reduced clinical pain in fibromyalgia. *Arthritis and rheumatism*, 64(7), 2398–2403. doi:10.1002/art.34412.

Ribeiro, H., Sesterhenn, R. B., Souza, A., Souza, A. C., Alves, M., Machado, J. C., ... Caumo, W. (2017). Preoperative transcranial direct current stimulation: Exploration of a novel strategy to enhance neuroplasticity before surgery to control postoperative pain. A randomized sham-controlled study. *PloS one*, 12(11), e0187013. doi: 10.1371/journal.pone.0187013.

Santosa, H., Zhai, X., Fishburn, F., & Huppert, T. (2018). The NIRS Brain AnalyzIR Toolbox. *Algorithms*, 11(5), 73. doi:10.3390/a11050073.

Scholkmann, F., Kleiser, S., Metz, A. J., Zimmermann, R., Mata Pavia, J., Wolf, U., et al. (2014). A review on continuous wave functional near-infrared spectroscopy and imaging instrumentation and methodology. *Neuroimage* 85, 6–27. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.05.004.

Sehn F, Chachamovich E, Vidor LP, Dall-Agnol L, de Souza IC, Torres IL, Fregni F, Caumo W. Cross-cultural adaptation and validation of the Brazilian Portuguese version of the pain catastrophizing scale. *Pain Med*. 2012 Nov;13(11): 1425-35. doi: 10.1111/j.1526-4637.2012.01492. x. Epub 2012 Oct 4. PubMed PMID: 23036076.

Strube, W., Nitsche, M. A., Wobrock, T., Bunse, T., Rein, B., Herrmann, M., et al. (2015). BDNF-Val66Met-polymorphism impact on cortical plasticity in schizophrenia patients: a proof of concept study. *Int. J. Neuropsychopharmacol*. 18, 1–11. doi: 10.1093/ijnp/pyu040.

Teo, J. T. H., Bentley, G., Lawrence, P., Soltesz, F., Miller, S., Wille, D., McHugh, S., Dodds, C., Lu, B., Croft, R. J., Bullmore, E. T. & Nathan, P. J. (2014). Late cortical plasticity in motor and auditory cortex: role of metallele in BDNF Val66Met polymorphism. *International Journal Of Neuropsychopharmacology*, 17 (5),705-713.

Üçeyler, N., Zeller, J., Kewenig, S., Kittel-Schneider, S., Fallgatter, A. J., & Sommer, C. (2015). Increased cortical activation upon painful stimulation in fibromyalgia syndrome. *BMC neurology*, 15, 210. doi:10.1186/s12883-015-0472-4

Vossen, H., Kenis, G., Rutten, B., van Os, J., Hermens, H., & Lousberg, R. (2010). The genetic influence on the cortical processing of experimental pain and the moderating effect of pain status. *PloS one*, 5(10), e13641. doi: 10.1371/journal.pone.0013641.

Wolfe F, Brähler E, Hinz A, Häuser W. Fibromyalgia prevalence, somatic symptom reporting, and the dimensionality of polysymptomatic distress: results from a survey of the general population. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013 May;65(5):777-85. doi: 10.1002/acr.21931.

Wolfe F, Clauw DJ, Fitzcharles MA, Goldenberg DL, Häuser W, Katz RL, Mease PJ, Russell AS, Russell IJ, Walitt B. 2016 Revisions to the 2010/2011 fibromyalgia diagnostic criteria. *Semin Arthritis Rheum*. 2016 Dec;46(3):319-329. doi: 10.1016/j.semarthrit.2016.08.012.

Woo, N. H., Teng, H. K., Siao, C. J., Chiaruttini, C., Pang, P. T., Milner, T. A., et al. (2005). Activation of p75NTR by proBDNF facilitates hippocampal long-term depression. *Nat. Neurosci*. 8, 1069–1077. doi: 10.1038/nn1510.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta análise preliminar dos dados demonstrou que há diferença na variação da ativação do córtex motor primário pré e pós- estímulo algico padrão entre os diferentes genótipos para o polimorfismo do BDNF (rs6265). Além disso sugere que a gravidade dos sintomas da doença, medidos através da Escala de Gravidade da Fibromialgia (*Fibromyalgia Severity Scale*), pode influenciar nessa variação de ativação cortical.

Devido ao diminuto tamanho da amostra, justificado pelo exíguo tempo para coleta e processamento dos dados da amostra original (n=90), este estudo apenas nos indica uma direção. Realizaremos a finalização da coleta e processamento dos dados da amostra por completo, esperamos assim aumentar o poder do nosso estudo e dirimir possíveis vieses.

PERSPECTIVAS

A Fibromialgia é uma síndrome de dor generalizada associada a drástica redução na qualidade de vida, novos tratamentos direcionados à neuromodulação por métodos não invasivos como o ETCC tem-se demonstrado promissores no alívio da dor e melhora da qualidade de vida dessas pacientes. Esperamos auxiliar na compreensão dos mecanismos envolvidos na fisiopatologia desta síndrome e quem sabe assim colaborar para a criação de terapias mais efetivas e eficazes.

ANEXOS E/OU APÊNDICES

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)****Grupo Clínico**

Você está sendo convidada a participar do estudo: “**Associação entre a conectividade cortical intrínseca com medidas neuro-psico-fisiológicas e polimorfismo genético na Fibromialgia**”.

JUSTIFICATIVA

Os estudos sobre dor crônica são temas relevantes e instigantes para os pesquisadores da área da saúde. A fibromialgia é uma síndrome que acomete predominantemente o sexo feminino e pode ter uma associação com o funcionamento do cérebro. Dessa forma, vamos procurar avaliar a condição do seu cérebro, bem como do seu organismo quanto aos aspectos clínicos, comportamentais e genéticos. Assim, o estudo visa contribuir significativamente para o enriquecimento dos conhecimentos científicos envolvidos na área de desenvolvimento humano e no processo saúde-doença.

OBJETIVOS DO ESTUDO

Avaliar os parâmetros de conectividade funcional (CF) cortical em pacientes com Fibromialgia e relacioná-la a mecanismos inibitórios da dor, polimorfismo genético do BDNF, excitabilidade cortical, viés atencional e capacidade funcional.

PARTICIPANTES

O estudo será composto de dois grupos. Grupo clínico: mulheres, com idade entre 18 e 65 anos, com mais de 4 anos de estudo, com diagnóstico confirmado de fibromialgia e com dor significativa nos últimos 3 meses. Grupo controle: Mulheres com idade entre 18 e 65 anos, com mais de 4 anos de estudo, sem diagnóstico de dor crônica.

EXPLICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

A coleta de dados ocorrerá, após contato de triagem (por telefone ou presencial), em duas sessões, no Centro de Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS. Na primeira sessão, você responderá ao Questionário Sociodemográfico. Imediatamente depois, fornecerão uma amostra de sangue por acesso venoso no braço (realizado por técnico de enfermagem ou enfermeiro) e será feita a avaliação da conectividade funcional. Esta avaliação é feita usando a Espectroscopia por Infravermelho Próximo, em que uma touca é colocada na sua cabeça e cabos que emitem luz infravermelha são colocados em contato com o escalpo. É uma técnica não invasiva, portanto, não envolve cortes ou uso de outros materiais. Junto com isto, estímulos elétricos que geram certo nível de dor e desconforto serão aplicados no dorso da sua mão, sendo que são estímulos completamente controlados e não geram lesão na pele. Ao final desta sessão, você responderá a questionários sobre dor, depressão, ansiedade, qualidade do sono e questões clínicas gerais. Na segunda sessão, serão realizadas as medidas de excitabilidade cortical. Um equipamento chamado Estimulação Magnética Transcraniana será usado, em que são dados pulsos magnéticos através de uma bobina que fica em contato com sua cabeça e que avalia o estado do seu cérebro. É uma técnica não invasiva, que não envolve cortes ou qualquer produto nocivo e não produz efeitos a longo prazo. Também será feita uma tarefa no computador em que serão apresentados estímulos visuais relacionados à dor. Por fim, será medida a percepção de dor ao calor e ao frio, através de um equipamento que produz um estímulo de calor que será colocado no seu antebraço (gerará um desconforto, porém em níveis completamente suportáveis e sem lesão na pele), bem como a colocação da mão em um balde de gelo com temperaturas próximas a 0 graus Célcius (gerando certo desconforto, sem lesão na pele). Cada sessão durará em média 3 horas e

você será instruído de todas as tarefas pela equipe de profissionais da saúde treinados, que o acompanhará.

RISCOS E CUSTOS

Você não terá custos ou despesas pela participação neste estudo, bem como não será remunerada por ela. Os riscos não são conhecidos, mas poderá haver desconforto e dor em função das medidas que tem como objetivo gerar certo nível de dor instantâneo e rápido. Também poderá sentir-se desconfortável ao responder alguns questionários, considerando que há perguntas sobre problemas pessoais e sobre seu estado de saúde. As técnicas para avaliar conectividade funcional e excitabilidade cortical são não-invasivas, o que significa que não será feito qualquer tipo de corte ou furo ou uso de produtos que atentem a sua saúde. Uma equipe estará todo o tempo à sua disposição para auxiliá-lo.

BENEFÍCIOS

Os dados sobre este estudo podem auxiliar no avanço do conhecimento na área da Neuromodulação e das neurociências. Desse modo, os benefícios são indiretos para você, uma vez que se os resultados forem positivos, poderão servir para melhorar o diagnóstico e o tratamento de pacientes com fibromialgia no futuro. Além disso, você receberá um retorno dos resultados da pesquisa de forma não individual, ou seja, em termos de grupos clínicos e controles.

DIVULGAÇÃO DOS RESULTADOS

Se nas respostas apresentadas no preenchimento dos questionários forem detectados problemas graves que atentem à sua saúde, será sugerido que você procure um atendimento de saúde. Em relação aos parâmetros de conectividade funcional e excitabilidade cortical, as mensurações utilizadas neste estudo não possuem finalidade de diagnóstico, somente de pesquisa, por este motivo as análises do estudo retornarão a você como resultado geral em forma de resumo, por e-mail ou correspondência.

DIREITO DE DESISTÊNCIA

Sua participação no estudo é totalmente voluntária, e você poderá desistir de participar a qualquer momento da pesquisa, sem qualquer prejuízo.

CONFIDENCIALIDADE

Todas as informações pessoais (dados de identificação) serão mantidas em sigilo. Os resultados deste estudo poderão ser publicados com finalidade científica de forma a manter o anonimato dos participantes. Os questionários e achados obtidos com este estudo serão armazenados por um período de cinco anos e posteriormente serão incinerados.

CONTATO DOS PESQUISADORES

Caso tenha alguma dúvida, poderá entrar em contato com os pesquisadores através dos telefones: Dr. Wolnei Caumo (6º andar do Centro de Pesquisa Clínica do HCPA - Laboratório de Dor & Neuromodulação – telefone 3359-6377) ou ainda com o Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas - 2o andar do HCPA, sala 2227, ou através do telefone^[L]_[SEP]33597640, das 8h às 17h, de segunda à sexta.

CONSENTIMENTO

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) será fornecido uma via para a você e outra via será arquivada pelo pesquisador.

Declaro ter lido – ou me foi lido – as informações acima antes de assinar este formulário. Foi-me dada ampla oportunidade de fazer perguntas, esclarecendo minhas dúvidas. Por este instrumento, torno-me parte voluntariamente, do presente estudo.

Telefones para contato: _____

Nome do participante do estudo: _____

Assinatura da participante do estudo: _____

Nome do pesquisador: _____

Assinatura do pesquisador: _____

_____, ____ de _____ de 201__.

STROBE

STROBE Statement—checklist of items that should be included in reports of observational studies

| | Item No | Recommendation | Page |
|------------------------------|---------|--|-----------|
| Title and abstract | 1 | (a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract | 50 |
| | | (b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found | 51 |
| Introduction | | | |
| Background/rationale | 2 | Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported | 52 |
| Objectives | 3 | State specific objectives, including any prespecified hypotheses | 53 |
| Methods | | | |
| Study design | 4 | Present key elements of study design early in the paper | 53 |
| Setting | 5 | Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection | 54 |
| Participants | 6 | (a) <i>Cohort study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants. Describe methods of follow-up | NA |
| | | <i>Case-control study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of case ascertainment and control selection. Give the rationale for the choice of cases and controls | NA |
| | | <i>Cross-sectional study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants | 54 |
| | | (b) <i>Cohort study</i> —For matched studies, give matching criteria and number of exposed and unexposed | NA |
| Variables | 7 | <i>Case-control study</i> —For matched studies, give matching criteria and the number of controls per case | NA |
| | | Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable | 54 |
| Data sources/ measurement | 8* | For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group | 55- 57 |
| Bias | 9 | Describe any efforts to address potential sources of bias | 58 |
| Study size | 10 | Explain how the study size was arrived at | NA |

| | | | |
|------------------------|----|--|----|
| Quantitative variables | 11 | Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why | 58 |
| Statistical methods | 12 | (a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding | 58 |
| | | (b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions | 58 |
| | | (c) Explain how missing data were addressed | 58 |
| | | (d) <i>Cohort study</i> —If applicable, explain how loss to follow-up was addressed | NA |
| | | <i>Case-control study</i> —If applicable, explain how matching of cases and controls was addressed | NA |
| | | <i>Cross-sectional study</i> —If applicable, describe analytical methods taking account of sampling strategy | 58 |
| | | (e) Describe any sensitivity analyses | 58 |

Continued on next page

| Results | | | Page |
|--------------------------|-----|--|-------|
| Participants | 13* | (a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed | 59 |
| | | (b) Give reasons for non-participation at each stage | NA |
| | | (c) Consider use of a flow diagram | NA |
| Descriptive data | 14* | (a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders | 59 |
| | | (b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest | 59 |
| | | (c) <i>Cohort study</i> —Summarise follow-up time (eg, average and total amount) | NA |
| Outcome data | 15* | <i>Cohort study</i> —Report numbers of outcome events or summary measures over time | NA |
| | | <i>Case-control study</i> —Report numbers in each exposure category, or summary measures of exposure | NA |
| | | <i>Cross-sectional study</i> —Report numbers of outcome events or summary measures | 59-61 |
| Main results | 16 | (a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included | 61 |
| | | (b) Report category boundaries when continuous variables were categorized | NA |
| | | (c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period | NA |
| Other analyses | 17 | Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses | 61 |
| Discussion | | | |
| Key results | 18 | Summarise key results with reference to study objectives | 63 |
| Limitations | 19 | Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias | 65 |
| Interpretation | 20 | Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence | 65 |
| Generalisability | 21 | Discuss the generalisability (external validity) of the study results | 65 |
| Other information | | | |
| Funding | 22 | Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based | NA |

*Give information separately for cases and controls in case-control studies and, if applicable, for exposed and unexposed groups in cohort and cross-sectional studies.

Note: An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at <http://www.plosmedicine.org/>, Annals of Internal Medicine at <http://www.annals.org/>, and Epidemiology at <http://www.epidem.com/>). Information on the STROBE Initiative is available at www.strobe-statement.org.