

-

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

**PADRÃO DE ATIVAÇÃO DO CÓRTEX FRONTOPIRIETAL INDUZIDO
POR ESTÍMULO NOCICEPTIVO TÉRMICO NA FIBROMIALGIA E
CONTROLES SAUDÁVEIS**

Daniela Gabiatti Donadel

Porto Alegre
2019

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

**PADRÃO DE ATIVAÇÃO DO CÓRTEX FRONTOPARIETAL INDUZIDO
POR ESTÍMULO NOCICEPTIVO TERMICO NA FIBROMIALGIA E
CONTROLES SAUDÁVEIS**

Daniela Gabiatti Donadel

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

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

Porto Alegre

2019

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação.”
Simone Lucie-Ernestine-Marie Bertrand de Beauvoir

Agradecimentos

- Ao meu professor e orientador Wolnei Caumo – Obrigada por ser uma inspiração para a pesquisa no nosso País. Por não fazer reserva de conhecimento. Por desafiar, estimular, acolher. Por ser uma pessoa sincera e justa. Que orgulho poder dizer que fiz parte do seu grupo!

- A minha família, obrigada por terem sempre me incentivado a transpor os desafios e a mirar mais longe.

Meu pai e minha mãe, que me estimularam a voar.

Meu irmão, por me mostrar que existem outros caminhos corretos.

Minha tia, por ser também minha mãe. Luiz, meu último e tão aguardado bebê!

Mariza, por me aceitar como sou e sempre ter estado disponível.

Tati, minha irmã. Por tanto amor genuíno.

Elen, pelas eternas acolhidas. Um exemplo e orgulho!

- Fernando – pela persistência, insistência, dedicação. Por compartilhar dos meus sonhos e enxergar o meu norte! Afinal somos dois lados da mesma moeda – tão diferentes e tão iguais.

- Laura, meu grande amor! A transformação da minha vida! Meu grande motivo para melhorar!

- Aos meus amigos que compartilham comigo os momentos mais felizes e os momentos mais tensos. Que me entendem, mas que principalmente, aceitam.

- Aos meus colegas de especialização e de bloco cirúrgico, por serem a base fundamental de todo o meu trabalho. Porque trabalham comigo e dividem objetivos, caminhos, êxitos e eventuais frustrações.

- Aos meus colegas de laboratório, obrigada por me ensinarem tanto. Cada um foi uma peça fundamental nessa minha trajetória. Não seria possível se eu estivesse sozinha.

- Meus pacientes, que nunca me permitem acreditar que conheço muito, e que dessa forma me impulsionam a continuar.

- Àqueles que sentem dor. Afinal, escondido debaixo de um semblante tranquilo, ao lado da inexistência de sinais, pode estar nosso maior desafio. Continuar buscando o prazer da nossa jornada é uma grande demonstração da grandeza de cada ser humano.

RESUMO

Introdução: A fibromialgia é uma síndrome de dor crônica complexa e debilitante e relacionada a sensibilização central e alterações de conectividade cortical. O desenvolvimento de técnicas de neuroimagem funcional como a ressonância magnética funcional (fMRI) e a espectroscopia por infravermelho próximo funcional (fNIRS) permitem acessar a resposta do córtex cerebral desencadeada por estímulos periféricos, e assim, compreender, através do método *BOLD* (*blood oxygen level dependent*) e medidas indiretas da função neuronal, diferenças de ativação cortical que podem estar presentes em pacientes fibromiálgicas (FM).

Estudos demonstram haver correlação entre a intensidade do estímulo algogênico e a magnitude do recrutamento de áreas corticais envolvidas no processamento da dor, incluindo córtex somatossensorial e pré-frontal (PFC). Entretanto, faltam informações sobre a relação da função do córtex motor primário (M1) e PFC e sua relação com achados clínicos da FM.

Objetivos: Comparar a intensidade e velocidade da ativação de M1 e PFC entre FM e controles saudáveis e correlacionar o padrão de ativação de FM com achados clínicos de sensibilização central (PCSI) e interferência global da dor crônica nas emoções, atividades diárias e relações interpessoais (P:PCP:S).

Métodos: Foram selecionadas 41 mulheres (FM = 19 e Controles = 22) com idade entre 18 e 65 anos. A ativação do córtex pré-frontal e região M1 foi avaliada pelas curvas de oxi-desoxihemoglobina obtidas por fNIRS durante teste com dois estímulos térmicos diferentes (água a 25°C e 5°C). Obtivemos dados do delta (Δ) oxihemoglobina (HbO), Δ -desoxihemoglobina (HHb) e latência de pico. O Δ foi calculado pela diferença do valor de base e após estímulo algogênico (5°C) e a mudança entre dois diferentes estímulos térmicos.

Resultados: Houve diferença na ativação cerebral entre fibromiálgicas e saudáveis. Estímulos mais intensos geraram maior Δ HbO em M1 (durante e após o estímulo) e PFC (após o estímulo). O grupo FM teve menor latência para pico no M1 contralateral (**Wald's chi-square (1)=8.53; p=0.003**) e o grupo controle apresentou maior Δ HHb bilateralmente em M1 (**M1 Esquerdo - Wald's chi-square (1)=8.54; p=0.003. M1 Direito - Wald's chi-square (1)=9.49; p=0.002**). Entre as FM, a ativação

do PFC foi associada a sintomas de sensibilização central ($\rho=0.63$; $p<0.01$) e comprometimento global ($F=4.78$; $\text{power} = 0.53$; $p=0.04$). A resposta de M1, por sua vez, foi relacionada a comprometimento global ($\rho=0.52$; $p<0.05$).

Conclusão: A ativação cortical de FM é diferente de voluntárias saudáveis – nesta amostra, o grupo FM teve uma resposta mais rápida e menos evidente. O maior recrutamento cortical decorrente de estímulo algogênico, entretanto, esteve relacionado a piores sintomas clínicos e sugere maior sensibilização central.

Palavras-chave: fNIRS, dor, fibromialgia, sinal BOLD, ativação cortical.

ABSTRACT

Background: Fibromyalgia is a complex and debilitating chronic pain syndrome related to central sensitization and changes in the connectivity of cortical areas. The development of functional neuroimage techniques such as fMRI and fNIRS enable better access to brain's cortical response triggered by peripheral stimuli, and, thus, to comprehend differences of neuronal function that may be present on fibromyalgia (FM) patients.

Studies demonstrated correlations between the intensity of pain stimulus and the magnitude of recruitment of cortical areas involved in pain processing, including somatosensory and prefrontal cortices. However, there is a lack of data focusing on motor cortex and prefrontal cortex (PFC) activity and their relation with the clinical features of FM patients.

Objectives: To compare the intensity and velocity of M1 and PFC activation between FM patients and healthy controls (HC) and to correlate the pattern of activation among FM and clinical features of central sensitization and global interference of chronic pain in emotions, daily activities and personal relationships.

Methods: We included 41 women (FM = 19 and HC = 22) women, aged between 18 and 65 years. The brain's cortical activation on PFC and M1 was measured by the oxy-deoxyhemoglobin curves by the fNIRS during two different thermal stimuli (water at 25°C, and 5°C). We accessed data of the delta value (Δ)-oxy-hemoglobin (HbO), Δ -deoxy-hemoglobin (HHb) and the peak latency. The value (Δ) was calculated by the difference between the baseline to after painful stimulus (5°C) and the change between two different thermal stimuli.

Results: Stronger stimuli generated higher Δ HbO on M1 (during and post-stimulus) and PFC (post-stimulus). FM group showed shorter peak latency on contralateral M1 (**Wald's chi-square (1)=8.53; p=0.003**), and HC had higher Δ HHb on bilateral M1 (**Left M1 Wald's chi-square (1)=8.54; p=0.003. Right M1 Wald's chi-square (1)=9.49; p=0.002**). Among FM patients, the PFC activation was associated with symptoms of central sensitization (**$\rho=0.63$; p<0.01**) and global commitment (**F=4.78; power = 0.53; p=0.04**). M1 response, in turn, was related to symptoms of global commitment (**$\rho=0.52$; p<0.05**).

Conclusions: Cortical activation of FM is different from HC. In this sample, FM had a faster-stuck response. The increased cortical recruitment due to nociceptive stimuli, however, was related to worse clinical symptoms and highlighted higher central sensitization.

Key Words: BOLD signal, functional near-infrared spectroscopy, pain; Fibromyalgia

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS DA DISSERTAÇÃO

- Figura 1 - Mecanismo proposto de transdução do sinal para o frio.
- Figura 2 - Processamento encefálico do estímulo nociceptivo.
- Figura 3 - Ativação de diferentes regiões encefálicas visualizada por MRI frente a A) estímulo inócuo morno (36-43° C) B) calor (40-50° C) e C) Frio (20-6° C).
- Figura 4 - Sistema Inibitório Descendente.
- Figura 5 - NIRx Help Center - Exemplo do percurso da luz do fNIRS no tecido (*banana shape*) para canais longos (curva amarela) e curtos (curva roxa).
- Figura 6 - Curva de HbO (vermelho) e HHb (azul) do córtex motor esquerdo após estímulo periférico.
- Figura 7 - Imagem topográfica cortical obtida através da transposição dos dados coletados por fNIRS, evidenciando atividade frontal bilateral frente a estímulo periférico.
- Figura 8 - Representação esquemática do Marco Conceitual.
- Figura 9 - Ativação média Controles 25° Celsius.
- Figura 10 - Ativação média FM 25 ° Celsius.
- Figura 11 - Ativação média Controles 15 ° Celsius.
- Figura 12 - Ativação média FM 15 ° Celsius.
- Figura 13 - Ativação média Controles 5 ° Celsius.
- Figura 14 - Ativação média FM 5 ° Celsius.
- Figura 15 - Curva média dos Controles 25 ° Celsius.
- Figura 16 - Curva média dos Controles 15 ° Celsius.
- Figura 17 - Curva média Controles 5 ° Celsius.
- Figura 18 - Curva média FM 15 ° Celsius.
- Figura 19 - Curva média FM 25 ° Celsius.
- Figura 20 - Curva média FM 5 ° Celsius.
- Figura 21 - Curva de HbO após estímulo a 5 ° C - M1 Esquerdo.
- Figura 22 - Curva de HbO após estímulo a 5 ° C - PFC Esquerdo.
- Figura 23- Curva de HbO após estímulo a 5 ° C - M1 Direito.
- Figura 24 - Curva de HbO após estímulo a 5 ° C - PFC Direito.

Figura 25 - Pico de HbO nas diferentes áreas topográficas, nas diferentes temperaturas.

FIGURAS DO ARTIGO

Figure 1 - Cap distribution of sources and detectors .

Figure 2 - Relation of fNIRS channels 1-20 and EEG 10-10 System.

Figure 3 - Testing flow.

LISTA DE TABELAS

TABELAS DA DISSERTAÇÃO

Tabela 1 - Estratégia de busca da informação

Tabela 2 - Principais artigos obtidos após busca na literatura.

TABELAS DO ARTIGO

Table 1 – Demographic characteristics.

Table 2 – Generalized Linear Model of cortical activation – FM and HC.

Table 3 – Correlation between BPCSI and BP:PCP:S – FM.

Table 4 – Generalized Linear Model of cortical activation – BPCSI and FM.

Table 5 – Generalized Linear Model of cortical activation – BP:PCP:S and FM.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ACR – American College of Rheumatology - Colégio Americano de Reumatologia
- ATP – Adenosine triphosphate / trifosfato de adenosina
- BDNF – brain derived neurotrophic factor / fator neurotrófico derivado cerebral
- BOLD – blood oxygenated level dependent / nível dependente de sangue oxigenado
- CDC – Center for Disease Control – Centro de Controle de Doenças
- CGRP – calcitonin gene-related peptide / peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
- CPM – conditioned pain modulation / modulação condicionada da dor
- CPT – cold pressor test – teste pressor frio
- CMP-TASK – conditioned pain modulation task / teste-tarefa de modulação condicionada da dor
- CS - central sensitization / sensibilização central
- DLPFC – dorsolateral prefrontal cortex / córtex pré-frontal dorsolateral
- DRT – dorsal reticular nucleus / núcleo dorsal reticular.
- EEG – eletroencefalograma / eletroencefalografia
- FM – fibromialgia
- GABA – Gamma-aminobutyric acid / ácido gama aminobutírico
- GCA – giro do cíngulo anterior
- HbO – oxihemoglobina
- HHb – desoxi-hemoglobina
- IASP - International Association for the Study of Pain / Associação Internacional para o Estudo da Dor
- LTD- long term depression / depressão de longa duração
- LTP – long term potentiation / potenciação de longa duração
- fMRI – functional magnetic resonance imaging / imageamento por ressonância magnética funcional
- NGF – neural growth factor / fator de crescimento neural
- fNIRS – functional near infrared reflectance spectroscopy / espectroscopia de infravermelho próxima funcional
- NMDA – N-methyl-D-Aspartate / n-metil-d-aspartato
- NO – oxide of nitrogen / óxido de nitrogênio ou óxido nítrico
- NS – nociceptor specific / neurônios nociceptores específicos

NRM – nucleus raphe magnus / núcleo magno da rafe

OVL – orbital ventrolateral

PAG – periaqueductal gray – substância cinzenta periaqueductal

PET – positron emission tomography – tomografia por emissão de pósitrons

RVM – rostral ventromedial medula – bulbo rostral ventromedial.

tDCS – transcranial direct current stimulation – estimulação transcraniana por corrente contínua

TMS – transcranial magnetic stimulation / estimulação magnética transcraniana

TRPM8 – transient receptor potential cation channel subfamily M member 8 – canal de cátion do receptor de potencial transitório, subfamília M (melastina), membro 8.

TrkB- tropomyosin receptor kinase B / receptor tropomiosina quinase B

TRPV2 e 1- transient receptor potential vanilloid 2 e 1/ receptor de potencial transitório vanilóide 2 e 1

STAI – State-Trait Anxiety Inventory / Inventário de ansiedade estado-traço

VIP – vasoactive intestinal peptide / polipeptídeo intestinal vasoativo.

WDR – wide dynamic range – amplo alcance dinâmico

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO SISTEMATIZADA DA LITERATURA.....	20
2.1 FIBROMIALGIA	22
2.2 MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DA DOR	23
2.3 ATIVAÇÃO CORTICAL E TÉCNICAS DE NEUROIMAGEM FUNCIONAL....	31
3. MARCO CONCEITUAL	36
4. JUSTIFICATIVA	37
5. OBJETIVOS.....	38
5.1 OBJETIVO PRIMÁRIO	38
5.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS	38
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA DISSERTAÇÃO.....	39
7. MATERIAIS E MÉTODOS / ARTIGO.....	46

APRESENTAÇÃO

Essa dissertação está estruturada em seis capítulos

Capítulo I – Introdução

Capítulo II – Revisão sistematizada da literatura

Capítulo III – Justificativa, mapa conceitual e objetivos

Capítulo IV – Artigo

*The disengagement on the brain cortical activation during thermal nociceptive stimulus
indicates deteriorated cortical processing in fibromyalgia*

Capítulo V – Considerações finais e perspectivas

Capítulo VI - Anexos

1. INTRODUÇÃO

Segundo a IASP, dor é uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano tecidual real ou potencial, ou descrita em função dessas lesões e é constituída por quatro dimensões – afetivo-motivacional, cognitivo-comportamental, sensorio-discriminativa e mais modernamente, o componente social. Torna-se crônica quando persiste por mais de 3 ou 6 meses. Entre as patologias que cursam com dor crônica, uma das mais prevalentes é a fibromialgia (FM), doença caracterizada por dor crônica generalizada em queimação ou agulhada (Koroschetz et al. 2011), com comprometimento musculoesquelético, fadiga, distúrbios no ritmo circadiano, ansiedade, depressão e catastrofização (Wolfe et al. 2010). Os pacientes possuem alto nível de sofrimento físico e psíquico, além de limitações funcionais, sintomas vesicais e intestinais e sensibilidade excessiva aos estímulos térmicos e pressão. (Häuser et al. 2012). Seu diagnóstico é clínico, com critérios definidos pelo *American College of Rheumatology* (ACR) inicialmente em 1990 e revisados em 2010, 2011 e 2016. É mais prevalente em mulheres a partir dos sessenta anos. Estima-se que afete 5,4% da população mundial (G. T. Jones et al. 2015). O tratamento envolve equipes multidisciplinares porém o controle efetivo dos sintomas é difícil em uma grande parte dos pacientes (Talotta et al. 2017).

A fisiopatologia da fibromialgia é complexa e ainda não está completamente elucidada. Sabe-se que existe envolvimento do sistema nervoso central e periférico, tanto do ponto de vista funcional quanto anatômico (Sluka and Clauw 2016). A sensibilização central, as alterações no processamento de estímulos nociceptivos periféricos e a desregulação dos circuitos de interneurônios inibitórios leva ao comprometimento do funcionamento do sistema modulatório descendente (Botelho et al. 2016) (Deitos et al. 2015). Apesar de não haver marcador específico que caracterize a FM, há evidências da existência de alterações nos processos neuroplásticos dos sistemas neurobiológicos que podem ser avaliados de maneira inespecífica por meio da dosagem do fator neurotrófico derivado de cérebro (do inglês, *brain derived neurotrophic fator* - BDNF). Esta neurotrofina está envolvida no reforço de sinapses excitatórias (por exemplo as glutamatérgicas) e no enfraquecimento de sinapses inibitórias (por exemplo as GABAérgicas) (Binder and Scharfman 2004). Então, o desequilíbrio destes sistemas cria meios facilitatórios que sustentam os mecanismos fisiopatológicos dos sintomas clínicos

e das alterações neurofisiológicas como a diminuição no limiar de dor (Botelho et al. 2016).

Além dos critérios clínicos, os métodos de neuroimagem funcional podem ser utilizados para avaliar mudanças no processamento dos estímulos periféricos. Neste sentido, estudos prévios demonstraram a existência de uma complexa rede cortical e subcortical envolvida no processamento da dor entre diferentes áreas cérebro. Os estudos tem demonstrado que esta ativação está relacionada com a modalidade e intensidade do estímulo periférico (Derbyshire et al. 1997). Estudos realizados com ressonância magnética funcional (fMRI) encontraram padrões diferentes de ativação em áreas cerebrais envolvidas no processamento da dor nos pacientes com dor crônica quando comparados a pessoas saudáveis (Mills et al. 2018; Napadow et al. 2010). Na dor neuropática orofacial pode-se observar aumento na conectividade funcional na rede de modulação da dor do tronco cerebral (bulbo rostral ventromedial, substância cinzenta periaquedutal ventrolateral, locus ceruleus) (Mills et al. 2018). Em pacientes com FM parece haver alterações na conectividade do córtex somatossensorial primário (S1) que está envolvido no componente afetivo da resposta a dor e relacionado à dor clínica, catastrofização e disfunção autonômica (Napadow et al. 2010). Estudos com espectroscopia por infravermelho próximo funcional (do inglês, *functional near infrared spectroscopy* - fNIRS), além de evidenciar o efeito da morfina atenuando a resposta cortical de indivíduos saudáveis frente a dor na área 10 de Brodmann e em S1 (Peng et al. 2018), também demonstraram que após expostos a um estímulo pressórico doloroso há um aumento na ativação contralateral do córtex pré-frontal dorsolateral (DLPFC) de pacientes fibromiálgicas quando comparado com pacientes com depressão. Pacientes com dor crônica, quando comparado com pessoas saudáveis, apresentam maior atividade em áreas cerebrais bilateralmente envolvidas no processamento da dor (Üçeyler et al. 2015).

Conforme descrito acima, os estudos de neuroimagem funcional e processamento focaram em áreas corticais classicamente relacionadas às redes neurais de processamento da dor - córtex S1, córtex somatossensorial secundário (S2), córtex insular, córtex cingulado anterior (ACC) e DLPFC (Peyron, Laurent, and García-Larrea 2000). O córtex pré-frontal (PFC) é composto pela região orbitomedial e pelo DLPFC e é classicamente relacionado a funções comportamentais, cognitivas, executiva. No processamento da dor, está envolvido na ativação do sistema modulatório descendente (SMDD) por meio de

conexões com neurônios da substância cinzenta periaquedutal (PAG) e, na dor crônica, parece estabelecer conexões com o núcleo accumbens (Ong, Stohler, and Herr 2018). Estas áreas corticais também têm sido utilizadas para a aplicação de técnicas neuromodulatórias transcranianas com a finalidade terapêutica, tais como estimulação magnética transcraniana repetitiva (do inglês, *repetitive transcranial magnetic stimulation* - rTMS) e a estimulação transcraniana por corrente contínua (do inglês, *transcranial direct current stimulation* - tDCS). Os resultados dos estudos demonstram que em FM os efeitos clínicos são observados em diferentes esferas funcionais como da fadiga, (Fitzgibbon et al. 2018), cognição e dor (Brighina et al. 2019).

Apesar desses estudos terem sido feitos baseando-se principalmente em indivíduos saudáveis, permitem a compreensão de princípios fisiopatológicos da dor bem como da dinâmica transitória da resposta vascular através do sinal dependente da oxigenação sanguínea (*BOLD – blood oxygen level dependente*) produzido pela substância paramagnética deoxihemoglobina (HHb). Os resultados têm demonstrado uma correlação entre a intensidade do estímulo doloroso e a magnitude da ativação de áreas corticais segregadas envolvidas no processamento do estímulo doloroso - S1 contralateral, S2 bilateral (Maihöfner et al. 2005) e PFC (Ong, Stohler, and Herr 2019). Até o momento, entretanto, poucos estudos focaram na velocidade de ativação de áreas específicas da dor e que são alvos da estimulação cerebral não invasiva (TMS, tDCS) como o PFC, DLPFC (Lefaucheur et al. 2017) e córtex motor primário (M1) (Zhu et al. 2017; Lefaucheur et al. 2017; Hou, Wang, and Kang 2016).

Considerando que o fNIRS proporciona dados detalhados da bioquímica cortical através da medida da variação da concentração de HHb e oxihemoglobina (HbO) no espaço microvascular e que possui alta resolução temporal (Firbank et al. 1998), nós utilizamos o fNIRS para avaliar uma presumida hiperatividade da estrutura neural envolvida no processamento da dor em pacientes com FM em comparação com indivíduos saudáveis. Considerando o envolvimento das diferentes regiões corticais no processamento da dor, questiona-se a existência de uma velocidade de ativação de M1 e PFC que diferencie a resposta de processamento das fibromiálgicas comparadas às controles saudáveis frente a estímulos térmicos periféricos padronizados, algogênico e não algogênico, e que possa contribuir para a compreensão das diferenças de percepção da dor além de visar uma maneira de mensurar os efeitos das intervenções no processamento cortical da dor em estudos futuros. Desta forma, este estudo teve como

objetivo comparar a velocidade de ativação do M1 e PFC bilaterais de sujeitos saudáveis (HC) e FM por meio da medida da oxi- deoxihemoglobina mensuradas pelo fNIRS frente dois estímulos térmicos de diferentes intensidades (água a 25°C e 5°C). A hipótese foi que nas FM a velocidade de ativação dessas regiões corticais seria mais rápida, considerando a ideia de que a desinibição das vias de processamento da dor facilitaria e amplificaria o recrutamento neuronal de redes neurais de áreas corticais chaves da neuromatrix da dor. Sobretudo, o estudo teve como objetivo correlacionar estes achados relacionados a velocidade de ativação cortical em M1 a PFC com os escores da *Brazilian Profile of Chronic Pain Screen (B:PCP:S)*.

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 da qual será submetido.

2. 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.

Palavras-Chave - Near Infrared Spectroscopy (1), Pain (2), Fibromyalgia (3)

Para o termo NEAR INFRARED SPECTROSCOPY, foram encontrados: PubMed 20814 artigos. Portal Capes 30003 artigos. Cochrane Reviews 0 e Embase 21144 artigos.

Para PAIN, PubMed 762321 artigos. Portal Capes 665600. Cochrane Reviews 1895 artigos. Embase 1195380 artigos.

Para FIBROMYALGIA, PubMed 10746 artigos. Portal Capes 23865 artigos. Cochrane Reviews 47 artigos. Embase 20140 artigos.

Tabela 1. *Estratégia de busca da informação*

	PubMed	Portal Capes	Cochrane Reviews	Embase
1	20814	30003	0	21144
2	762321	665600	1895	1195380
3	10746	23865	47	20140
1 + 2	371	184	0	602
1 + 3	7	13	0	15
1 + 2 + 3	6	4	0	11

Combinando os termos temos o seguinte fluxograma (Tabela 1). O resultado final para o cruzamento das palavras chave NEAR INFRARED SPECTROSCOPY x PAIN. X FIBROMYALGIA retornou 21 artigos e apenas 5 deles fecharam critérios (envolvendo voluntários com dor crônica e avaliando atividade cortical frente a estímulos, idealmente mas não unicamente através do uso de fNIRS) e foram utilizados como base desta dissertação.

Tabela 2. *Principais artigos obtidos após busca na literatura.*

ARTIGO	AUTOR	PORTAL DE BUSCA
Increased cortical activation upon painful stimulation in fibromyalgia syndrome	Uceyler, N.	Portal Capes Embase PubMed
Hemodynamic and EEG changes in patients with fibromyalgia	Gentile E.	Embase
Bilateral cortical activation in fibromyalgia patients after unilateral painful stimulation measured with near-infrared spectroscopy	Uceyler, N.	Embase
Altered near-infrared spectroscopy response to breath-holding in patients with fibromyalgia	Chen WT.	PubMed
Reduced frontal activity during a verbal fluency test in fibromyalgia: a near-infrared spectroscopy study	Chou PH	PubMed Portal Capes

2.1 FIBROMIALGIA

O primeiro registro de uma doença batizada como fibrosite deu-se em 1904 por William Gowers. Em 1972, Hugh Smythe descreveu a existência de dor difusa com 18 tender points, mas o termo fibromialgia foi cunhado apenas em 1976 por Hensch e recebeu o status de síndrome em 1981 através do primeiro estudo controlado realizado por M. Yunus (Häuser et al. 2017)(Inanici and Yunus 2004). Atualmente o diagnóstico da fibromialgia continua sendo clínico, em uma perspectiva mais abrangente, que envolve o conceito da dor difusa, além de sintomas como fadiga, sintomas depressivos, sono não reparador e alterações cognitivas por um período de pelo menos três meses. A ausência de lesão tecidual franca que justifique os sintomas possibilita, segundo a IASP, classificá-la como uma síndrome disfuncional. Sobretudo, pode ser concomitante a outras doenças como a artrite reumatoide.

Dentre os múltiplos mecanismos subjacentes a sua fisiopatologia, inúmeros estudos de genética e epigenética tem sido realizados com o propósito de encontrar marcadores de susceptibilidade para o desenvolvimento da FM. Vários genes parecem estar relacionados. Suspeita-se do envolvimento de polimorfismos do gene da serotonina 5HT2A (Lee et al. 2012), genes transcritores da mielina e neurexina (Docampo et al. 2014), além de diversos outros genes que estariam relacionados com alteração do limiar da dor, até a sensibilização do sistema nervoso central (S.B. et al. 2012). Apesar de sua fisiopatologia não estar bem elucidada e ser bastante complexa, sabe-se que esses pacientes possuem distúrbios sensoriais, em neurotransmissores e endócrinos tais como redução na resposta ao cortisol e regulação anormal do hormônio do crescimento (K. D. Jones et al. 2007) , bem como a diminuição de serotonina no sistema nervoso central. Além disso, os estudos encontraram níveis séricos aumentados de substância P e de fator de crescimento neural (*nerve growth factor* NGF), possíveis marcadores clínicos relacionados a sensibilização central (CS). A síndrome de CS inclui alterações neuroquímicas em cascata que parecem explicar a desinibição do SMDD (Clauw, Arnold, and McCarberg 2011).

O comprometimento do SMDD tem sido demonstrado por meio do teste da modulação condicionada à dor (CPM) (Yarnitsky 2010). Sabe-se que esta medida neurofisiológica envolve diversos sistemas neurobiológicos, como por exemplo, o sistema noradrenérgico, serotoninérgico e dopaminérgico. Na verdade, são sistemas que

estão envolvidos em inúmeras outras funções vitais dos processos neurobiológicos, tais como por exemplo o ritmo sono-vigília, humor, memória. Outro sistema que tem sido implicado na neurobiologia da FM é o opioidérgico, que parece estar hiperativado (Schrepf et al. 2016) - razão pela qual talvez explique parte da pobre resposta da FM aos opióides. Infere-se que exista uma hiperativação deste sistema pela elevada concentração de encefalina no líquido, que chega ser até três vezes superior em pacientes fibromiálgicos comparados a controles saudáveis (Baraniuk et al. 2004). Sobretudo, um estudo de neuroimagem funcional encontrou maior ocupação de receptores μ -opióides no córtex pré-frontal dorsolateral e córtex cingulado anterior, comparado a controles saudáveis (Schrepf et al. 2016). Embora a hiperativação opioidérgica seja um mecanismo apontado como relevante e apoiado em respostas clínicas, o seu real impacto clínico ainda é objeto de estudo. Ao contrário do verificado com a hiperativação do sistema opioidérgico, os níveis líquidos de serotonina, noradrenalina e dopamina estão diminuídos. Como pode ser observado, trata-se de uma doença complexa e multifacetada, razão que pode justificar a pobre resposta terapêutica e a necessidade de melhor compreensão de mecanismos que possam auxiliar no avanço terapêutico.

2.2 MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DA DOR

2.2.1 MECANISMOS PERIFÉRICOS DA DOR

Os sinais algôgenicos são detectados por meio dos nociceptores, que podem ser de baixo limiar de excitabilidade - mecano-termo-receptores - e de alto limiar de excitabilidade - os receptores poliamidas. Estes nociceptores captam os estímulos que, quando em intensidade suficiente, via processo de transdução, se transformam em potencial de membrana. Estes estímulos são conduzidos por nervos conectados a neurônios pseudounipolares, cujo o corpo celular localiza-se no gânglio da raiz dorsal da medula espinhal e constituem os neurônios de primeira ordem. Eles possuem ramos de conexão com a periferia e também se conectam por meio das raízes ventrais e dorsais aos neurônios de segunda ordem, localizados em nível do corno dorsal da medula espinhal.

As fibras responsáveis pela transmissão desses estímulos são do tipo A δ e C. Fibras A δ mielinizadas finas conduzem estímulos detectados por receptores polimodais e também pelos mecanonociceptores. Transmitem a chamada “primeira dor”, que é

rápida. Os nociceptores C transmitem sinais por meio das fibras C amielínicas finas. A transmissão do estímulo pelas fibras C é mais lenta e está associada ao que denominamos de “segunda dor”. As Fibras A δ podem ser do tipo 1 ou 2. A δ -1 possuem receptores TRPV2 (*transient receptor potential vanilloid 2*), despolarizam com temperaturas altas (52°C) e não despolarizam na presença de capsaicina. As fibras A δ -2 possuem receptores TRPV1 que são muito mais sensíveis, e ativados com temperatura de aproximadamente 43°C e são sensíveis à capsaicina (Rocha et al. 2007). A capsaicina tem ação excitatória e dessensibilizante nos nociceptores polimodais através de sua ação no gânglio da raiz dorsal – há aumento na permeabilidade de cátions Na⁺ e Ca⁺⁺. Uma vez ativados, os receptores TRPV1 abrem canais iônicos não seletivos que permitem o influxo de cátions na célula - dentre eles o cálcio. Esses receptores podem ser sensibilizados por mediadores inflamatórios, tais como a bradicinina, prostaglandinas, glutamato, e NGF, íons hidrogênio, potássio, etc. Entre outros mecanismos celulares que retroalimentam o processo de sensibilização periférica estão o aumento do número de receptores na membrana celular, fosforilação de proteínas quinases e a diminuição do limiar de ativação do TRPV1 (desinibição). Também contribuem para este processo as fibras C, divididas em C1 e C2, sendo que as C1 são sensíveis à capsaicina e prótons. Elas liberam peptídeos (substância P e CGRP -*calcitonin gene-related peptide*) assim como possuem receptores tirosina-quinase A para o NGF. Enquanto as fibras C2 possuem receptores P2X3 para adenosina e carboidratos, que também são sensíveis aos prótons (Rocha et al. 2007).

Todas estas reações em cascata fazem parte da reação inflamatória, que faz a retroalimentação positiva da sensibilização das terminações periféricas por meio de outros mediadores, como bradicinina, histamina, potássio, adenosina, prostaglandinas, leucotrienos e citocinas, substância P e óxido nítrico (NO) (Schaible, Ebersberger, and Natura 2011). Essas substâncias diminuem ainda mais o limiar de ativação dos nociceptores, desencadeando inclusive potenciais de membrana espontâneos. Essa é a gênese da sensibilização periférica, que se caracteriza por amplificar a resposta aos estímulos periféricos consequentes a injúria dos receptores axonais.

Enquanto os processos envolvidos na sensibilização inflamatória apresentam um racional com boa sustentação neurobiológica, os processos envolvidos na dor causada por baixa temperatura são ainda pobremente compreendidos, comparados a dor gerada pelo calor. Sabe-se que a intensidade do desconforto aumenta linearmente conforme o decréscimo da temperatura a partir de 20°C; e que o limite para que esse estímulo seja

percebido como dor, costuma ser aproximadamente 15°C. (Davis and Pope 2002). Também, sabe-se que a transmissão dessa sensação está relacionada a receptores TRPM8, TRPA1, TRAAK/TREK-1 e canais de sódio Na1.8 (figura 1). De acordo com dados de estudos em modelos animais, existe a possibilidade dos receptores serem distintos, os que são ativados por baixas temperaturas daqueles ativados por frio extremo (Babes, Zorzon, and Reid 2004). Em estudos realizados em ratos, os receptores sensíveis a mentol TRPM8 (*transient receptor potential cation channel subfamily M member 8*) são responsáveis pela detecção de estímulos desencadeados pelo frio, ainda que sejam inócuos (Bautista et al. 2007). A transmissão desencadeada por estímulos térmicos ainda não dolorosos, parece acontecer por vias diferentes daquelas envolvidas na transmissão de estímulos produzidos por altas temperaturas. Também os canais TRPV1, KNCK 2 e KCNK4 parecem estar envolvidos na captação desses estímulos térmicos (Kwan et al. 2006; Obata et al. 2005)

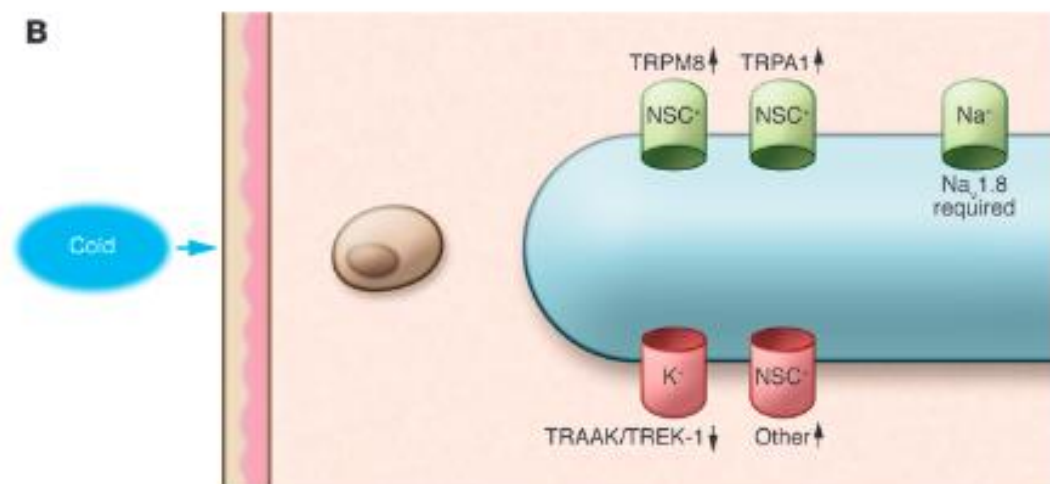


Figura 1. Mecanismo proposto de transdução do sinal para o frio (retirado com autorização de *Nociceptors: The sensors of the pain pathway* (Dubin and Patapoutian 2010). O estímulo externo (frio) chega ao axônio do nociceptor, que é uma terminação neuronal livre. Há estimulação dos receptores TRPM8 e TRPA1 (permitem o influxo de cátions não específicos) bem como de canais de sódio, e inibição de receptores TRAAK/TREK-1 de potássio.

2.2.2 MECANISMOS CENTRAIS DA DOR

O corno dorsal da medula é o local onde terminam as ramificações do neurônio de primeira ordem. Nessa região há a integração de diversas informações provenientes do sistema modulatório descendente com os neurônios de segunda ordem e com os interneurônios. Os aferentes nociceptivos C terminam principalmente nas lâminas I e II de Rexed, onde seus axônios secretam substância P ou polipeptídeo intestinal vasoativo, conforme a sua localização de origem (somática ou visceral) e os aferentes A δ terminam principalmente nas lâminas I, II e V. Os sinais adentrados por meio de fibras A δ são transmitidos para o córtex cerebral principalmente (mas não unicamente) pelo trato neoespinalâmico, que passa pelo tálamo e envia ramificações para o giro pós-central do lobo parietal no córtex somatossensorial. O trato neoespinalâmico ascende no trato anterolateral contralateral, alcançando o núcleo ventrobasal na parte lateral do tálamo, e então se projeta para o córtex somatossensorial. Esse trajeto lateral, topograficamente organizado, auxilia o processo sensorial-discriminativo responsável pela localização e identificação de um estímulo nocivo (Groh et al. 2018; Jin et al. 2018). Enquanto as fibras do tipo C enviam suas informações principalmente pelo trato páleo-espino-retículo-diencefálico, que após passar pelo tálamo nos núcleos intralaminares, envia ramificações para o sistema límbico, córtex frontal e regiões específicas do córtex somatossensorial. A ascensão se faz pelo trato anterolateral contralateral lado a lado com o trato neoespinalâmico (Jin et al. 2018).

O neurônio de segunda ordem, localizado na medula espinhal, pode ser do tipo nociceptor específico (NS) ou *wide dynamic range* (WDR). O WDR é ativado por vários tipos de estímulos sensoriais além da dor. Ambos recebem aferências das fibras A δ e C – o WDR recebe também estímulos não álgicos da fibra A β e faz parte do sistema inibitório da dor. Enquanto o córtex M1 possui neurônios gigantopiramidais que formam os tratos córtico-bulbar e córtico-espinhal. A eferência por meio desses tratos pode modular a ação dos neurônios motores e interneurônios da região anterior da medula espinhal e isso parece ser parte importante do funcionamento do SMDD (Reidler et al. 2012). Estudos recentes realizados com o uso de tDCS mostram que a estimulação anodal de M1 produz analgesia (Da Graca-Tarrago et al. 2016). Um estudo nesta linha aponta que os efeitos da neuromodulação transcraniana parecem envolver a reorganização da atividade cortical em áreas de hiperexcitabilidade (Castillo Saavedra, Mendonca, and

Fregni 2014). A estimulação cortical de M1 tem como alvo modular o sistema sensitivo. Os efeitos neuromodulatórios corticais atingem as vias descendentes da dor e modulam neurônios em nível de medula. Outra área alvo de estimulação transcraniana é o DLPFC. As redes neurais do DLPFC estão implicadas em inúmeros processos relacionados aos aspectos cognitivos, afetivos-motivacionais, sensoriais, assim como a atenção, memória de trabalho, criatividade e tomada de decisões (O'Reilly 2010). A esquerda, o DLPFC parece processar a resposta da sensação desagradável percebida como desconforto. (Lorenz, Minoshima, and Casey 2003) e está relacionado com a inibição da dor e com o efeito placebo (Krummenacher et al. 2010). Esta área é alvo da neuromodulação transcraniana e parece ter maior impacto nos aspectos psicoativos (Silva et al. 2017). Na figura 2 apresentamos de forma esquemática o processamento do estímulo nociceptivo, que ascende através do trato espinotalâmico contralateral para regiões centrais do sistema nervoso, bem como sua relação com o sistema inibitório descendente (Morton, Sandhu, and Jones 2016).

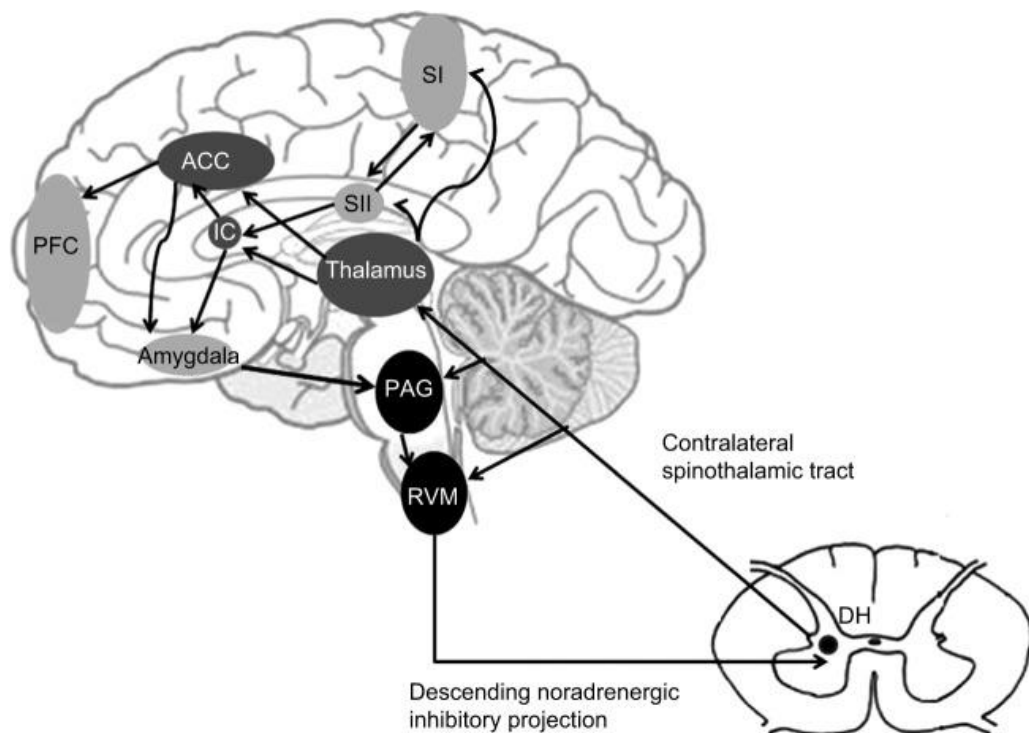


Figura 2. *Processamento encefálico do estímulo nociceptivo (Morton, 2016 - autorizada). O estímulo nociceptivo chega ao corno dorsal da medula (DH) pelo aferente primário, faz sinapse e ascende pelo trato espinotalâmico contralateral até o tálamo. Nesse caminho, emite projeções para a substância cinzenta periaquedutal (PAG) e bulbo*

rostral ventromedial (RVM) que emitem projeções inibitórias noradrenérgicas descendentes. Partindo do tálamo, a informação se distribui para região somatossensorial (S1 e SII), córtex cingulado anterior (ACC) e insular (IC), córtex pré-frontal (PFC) e amígdala.

2.2.3 PROCESSAMENTO DO ESTÍMULO FRIO PELO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

A exposição da superfície corporal a uma temperatura baixa por um longo período gera uma “segunda dor” persistente e com intensa reação emocional - o que faz com que o *cold pressor test* (CPT) seja um instrumento importante na mimetização de condições de dor crônica. Apesar de haver sobreposição de algumas regiões do sistema nervoso central ativadas durante a dor causada por altas e baixas temperaturas, o processamento da dor tônica gerada pelo frio apresenta particularidades, tais como ativação contralateral do lobo frontal, sensório-motor (S1 e M1), córtex pré-motor, córtex cingulado anterior, região da insula anterior e núcleo lenticulado. Na região ipsilateral, há ativação do DLPFC (áreas 10 e 46 de Broadmann), córtex cingulado anterior, região insular, opercular pré-central e tálamo (Casey et al. 1996). Cinco dessas regiões também estão envolvidas no processamento da dor causada pelo calor, porém, ainda assim, aparentemente são recrutadas de forma menos intensa (tálamo, córtex pré-motor, córtex cingulado anterior, núcleo lenticular e insula anterior) (Casey et al. 1996). A figura 3 demonstra a ativação das diferentes áreas cerebrais frente a diferentes temperaturas de estímulos periféricos.

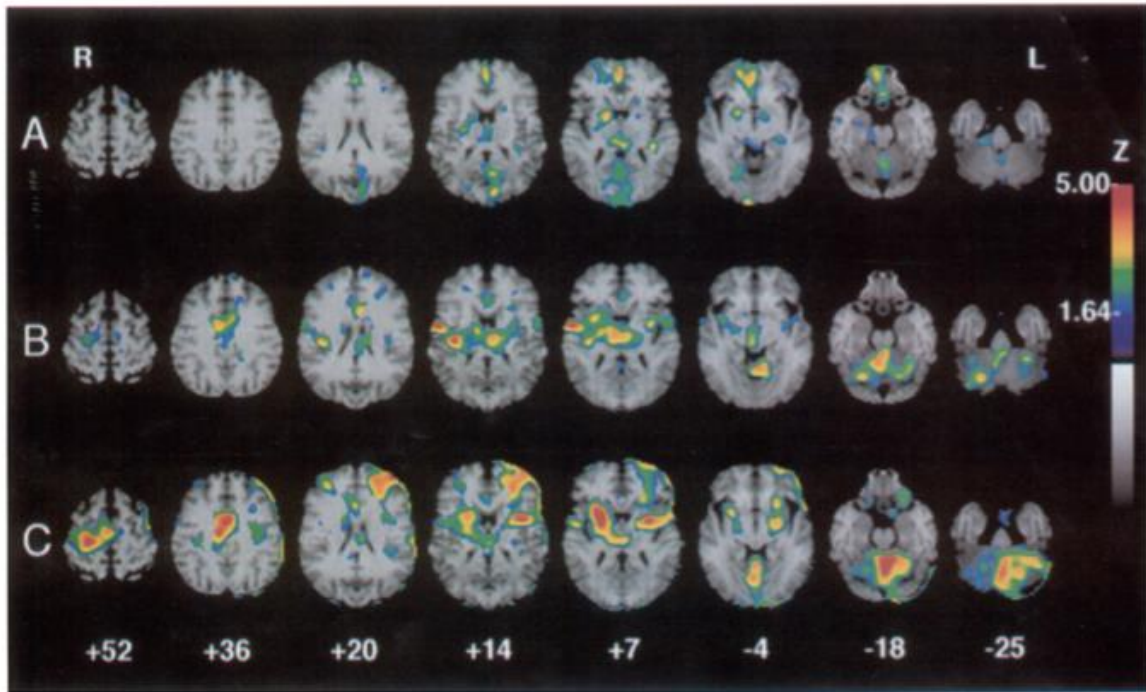


Figura 3. Ativação de diferentes regiões encefálicas visualizada por fMRI frente a A) estímulo inócuo morno (36-43°C), B) calor (40-50°C) e C) frio (20-6°C). Figura copiada com permissão de Casey et al. 1996. Estímulo inócuo morno apresenta ativação das regiões contralaterais do córtex pré-frontal medial, núcleo lenticular e tálamo, além de vermis cerebelar. Estímulo de calor algíco ativa, contralateralmente, córtex pré-motor, M1 e S1, região cingulada anterior, núcleo lenticular e ínsula, S2, região posterior da ínsula e tálamo. Ipsilateralmente há ativação do córtex pré-motor e tálamo, além de vermis cerebelar e mesencéfalo dorsal – ambos linha média. O estímulo frio algíco ativa, contralateralmente, as mesmas regiões que o estímulo decorrente de altas temperaturas exceto pela região S2 e ínsula posterior. Ipsilateralmente ativa córtex pré-frontal lateral, região cingulada anterior, ínsula e opérculo pré-central e tálamo. E em linha média, apenas vermis cerebelar.

2.2.4. SISTEMA MODULATÓRIO DESCENDENTE

O SMDD compreende várias vias de transmissão descendentes que modulam as aferências nociceptivas em níveis de corno dorsal da medula e tronco cerebral. Quando

íntegras essas vias podem ativar interneurônios inibitórios do corno dorsal e bloquear a transmissão do estímulo. Fazem parte desse sistema vias opioidérgicas (Willer, Le Bars, and De Broucker 1990), serotoninérgicas (Chitour, Dickenson, and Le Bars 1982), noradrenérgicas (Sanada et al. 2009) e gabaérgicas (Lau and Vaughan 2014), entre outras. Esse sistema possui vários núcleos modulatórios e é composto principalmente pela substância cinzenta periaquedutal (*periaqueductal gray substance* – PAG), núcleo magno da rafe (*nucleus raphe magnus* – NRM), bulbo rostral ventromedial (*rostral ventromedial medulla* – RVM) e locus coeruleus (localizado na ponte). Eles são conectados e modulados a estruturas corticais como a região orbital ventrolateral do córtex frontal, giro do cíngulo anterior, córtex insular rostral, amígdala e córtex motor primário.

A figura 4, obtida do artigo *Central Modulation of Pain* (Ossipov, Dussor, and Porreca 2010- uso autorizado) demonstra o estímulo chegando ao corno dorsal da medula pelo aferente primário e ascendendo por meio do trato espinotalâmico contralateral em direção ao tálamo com ramificações para áreas mesencefálicas (núcleo dorsal reticular DRt, RVM e PAG). As projeções descendentes que partem do DRt são fundamentais para o sistema inibitório descendente. Após atingir o tálamo, o estímulo é mediado pelas regiões da amígdala e do córtex cerebral. A PAG, por sua vez, recebe informações também do hipotálamo e se comunica com o RVM e outros núcleos que também enviam projeções para o corno dorsal da medula espinhal por meio do funículo dorsolateral. O locus coeruleus recebe informações originárias da PAG e envia projeções inibitórias noradrenérgicas para a medula espinhal. O RVM modula a intensidade dos estímulos nociceptivos de modo a ter ação antinociceptiva ou pró-nociceptiva.

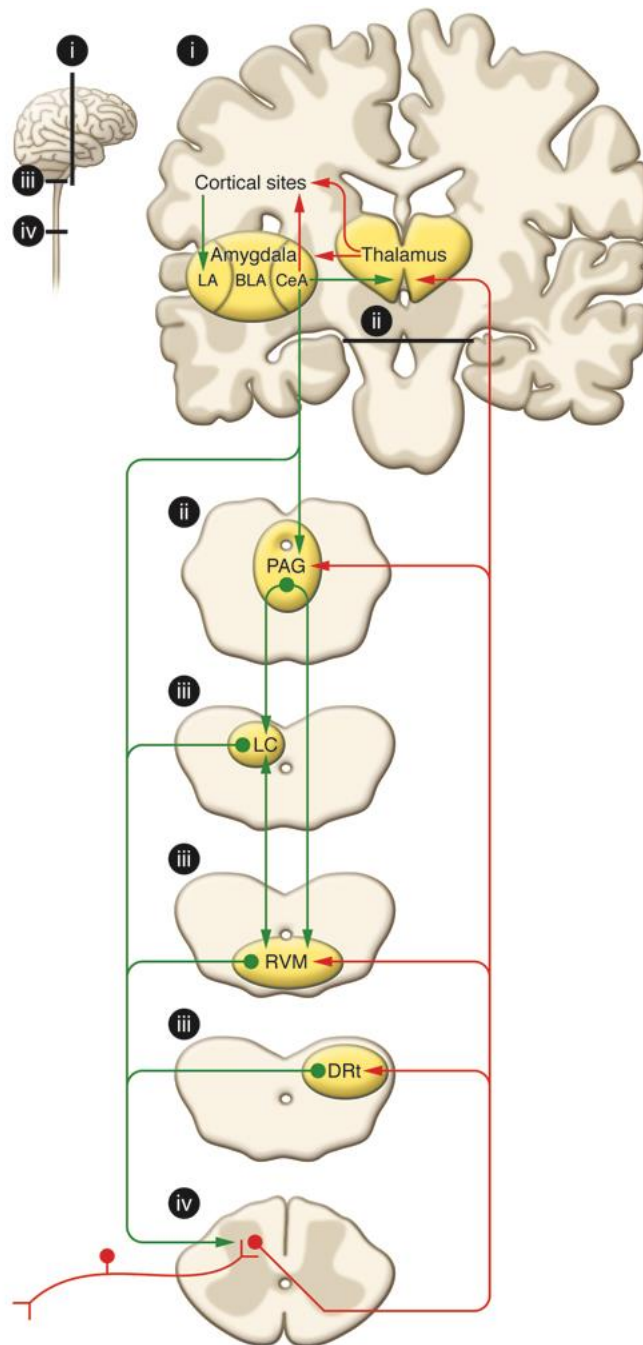


Figura 4. Sistema Inibitório Descendente – Cópia autorizada de *Central Modulation of Pain*. (Ossipov, Dussor, and Porreca 2010)

2.3 ATIVAÇÃO CORTICAL E TÉCNICAS DE NEUROIMAGEM FUNCIONAL

A aplicação de métodos de neuroimagem funcional tem se tornado uma ferramenta importante na pesquisa no campo das neurociências. Entre as técnicas mais

utilizadas estão a fMRI, tomografia por emissão de pósitrons (PET-CT), eletroencefalograma (EEG), a TMS e o fNIRS. Cada método avalia parâmetros relacionados à atividade neuronal com alguma especificidade. O EEG é uma das técnicas mais conhecidas e avalia a modificação da atividade elétrica; a PET-CT mede diferenças do metabolismo através do uso de marcadores que emitem pósitrons. A atividade neuronal pode ser avaliada de forma indireta pela modificação do fluxo sanguíneo da área estudada, como é o caso do fNIRS e da fMRI (Crosson et al. 2010). Os dados de imagem pelos métodos funcionais podem ser trabalhados por meio de ferramentas estatísticas para fornecer informações de conectividade funcional cerebral entre diferentes áreas alvo cerebrais. O fNIRS oferece boa resolução temporal e pode ser usado por meio de um equipamento prático e não invasivo que possibilita sua aplicação inclusive para avaliação da atividade cortical durante atividades diárias. O fNIRS apresenta algumas vantagens sobre outros métodos de avaliação funcional. Além de ter custo menor do que os outros métodos como a fMRI, é um aparelho portátil, não invasivo, não expõe o voluntário a radiação ou outras formas de contraste. Seu funcionamento é praticamente inaudível, seu uso é confortável e o equipamento sofre pouca interferência de outros dispositivos e materiais, além de ser um produto que causa pouco impacto ambiental. Apesar disso e mesmo considerando a rápida evolução tecnológica do método nos últimos anos, ainda apresenta algumas dificuldades no manejo físico e de calibragem junto ao escalpo, fragilidade dos inúmeros cabos que compõem o equipamento e capacidade de obtenção de dados apenas da região superficial dos tecidos.

2.3.1 ESPECTROSCOPIA POR INFRAVERMELHO PRÓXIMO FUNCIONAL - fNIRS

O desenvolvimento da técnica de fNIRS foi possível após o advento do oxímetro, na década de 40, por Glenn Milikan. Sabendo que a atividade cerebral esta associada a diversas mudanças fisiológicas e que elas podem ser acessadas por técnicas ópticas, Frans Jöbsis desenvolveu as primeiras bases técnicas do fNIRS em 1977. Em 1985, um estudo brasileiro foi o primeiro a usar NIRS avaliando o tecido cerebral. Em 1991 começaram os estudos funcionais e a seguir, técnicas de avaliação de função cortical utilizando mais de um método aumentaram rapidamente (Ferrari and Quaresima 2012). Vale salientar que o uso dessa técnica não se restringe à neurociência podendo ser utilizado em diversas

situações na medicina e também em outras áreas do conhecimento como ciências agrárias e botânicas (Stockl and Lichti 2018; Ercioglu, Velioglu, and Boyaci 2018).

O fNIRS baseia-se na medida indireta e não invasiva da concentração de oxihemoglobina (HbO) e deoxihemoglobina (HHb) nos tecidos através de diferenças na absorção da luz próxima ao infravermelho com comprimento de onda de 700 a 1000 nm. A medida da concentração de hemoglobina é feita baseando-se no modelo da lei de Lambert-Beer modificada, que é a base do estudo da espectrofotometria adaptada ao meio composto como são os tecidos biológicos. A atividade cerebral faz com que exista um aumento no fluxo sanguíneo tissular e dessa forma, o aumento na concentração de hemoglobina decorrente do consumo de oxigênio das células recrutadas – primeiramente há aumento de HbO e secundariamente, de HHb. A possibilidade de avaliar respostas hemodinâmicas é o que confere a capacidade de utilizar esse equipamento como monitor da atividade cerebral funcional.

O aparelho de fNIRS possui fontes (emissores) e detectores (receptores). Cada receptor pode captar sinais de mais de um emissor, fornecendo um número grande de canais e dados. A luz emitida atravessa os tecidos e após sofrer difração é captada pelos receptores. A distância entre a fonte e o receptor define a que profundidade de tecido os dados estarão relacionados – quanto mais próximos estiverem fonte e receptor, mais superficiais serão os tecidos avaliados. Essa característica se dá porque a luz infravermelho percorre um formato elíptico (*banana shape*) e atinge até 2 cm de profundidade quando fonte e receptor distam aproximadamente 3 cm. A tecnologia mais recente possibilitou o desenvolvimento de aparelhos com optodos “*Dual Tip*” que facilitam a coleta e aumentam a sensibilidade dos sensores. A figura 5 (“NIRx Help Center – FNIRS and NIRx Help Center for Our Users” n.d.) demonstra um aparelho de *fNIRS Dual Tip* com canais curtos com 8 mm de distância (roxo) e longos com 3 cm de distância (amarelos) e a profundidade percorrida pela luz. Canais curtos podem ser utilizados para avaliar alterações em tecidos mais superficiais - pele e meninges - frente aos estímulos e dessa forma, quantificar a influência desses dados nas informações geradas pelos canais longos. A resposta aferida pelos canais longos é, dessa forma, o somatório da ativação hemodinâmica da região cortical e áreas mais superficiais.

O posicionamento dos optodos sobre o escalpo se faz baseada em métodos de resolução espacial cerebral ou as áreas pré-definidas do EEG e o sistema internacional 10x10 ou 10x20.



Figura 5. NIRx Help Center - Exemplo do percurso da luz do fNIRS no tecido (banana shape) para canais longos (curva amarela) e curtos (curva roxa). Canais curtos avaliam a resposta hemodinâmica superficial – pele e meninges – enquanto canais longos avaliam a resposta hemodinâmica da região cortical e tecidos superficiais.

Os dados gerados pelo fNIRS passam por softwares que aplicam diversos cálculos sobre os valores obtidos e fornecem dados que são analisados e, em última instância, permitem avaliar a atividade metabólica dos tecidos avaliados. A figura 6 (arquivo próprio) demonstra a visualização dos dados coletados pelo fNIRS na região motora esquerda após estímulo nociceptivo. A curva vermelha refere-se a HbO e a curva azul, a HHb. A figura 7 (arquivo próprio) demonstra ativação na região frontal do córtex (área em vermelho) após estímulo periférico.

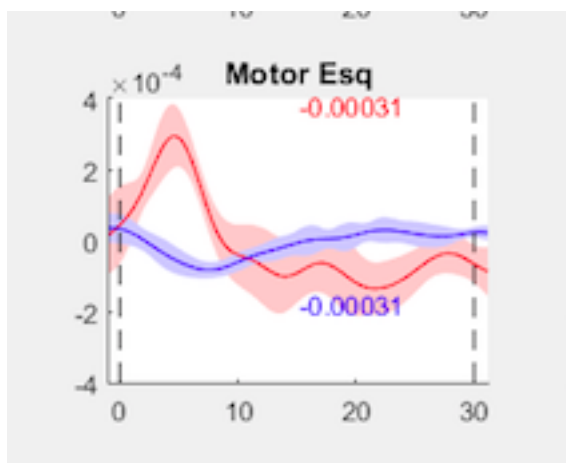


Figura 6. Curva de HbO (vermelho) e HHb (azul) do córtex motor esquerdo após estímulo periférico.

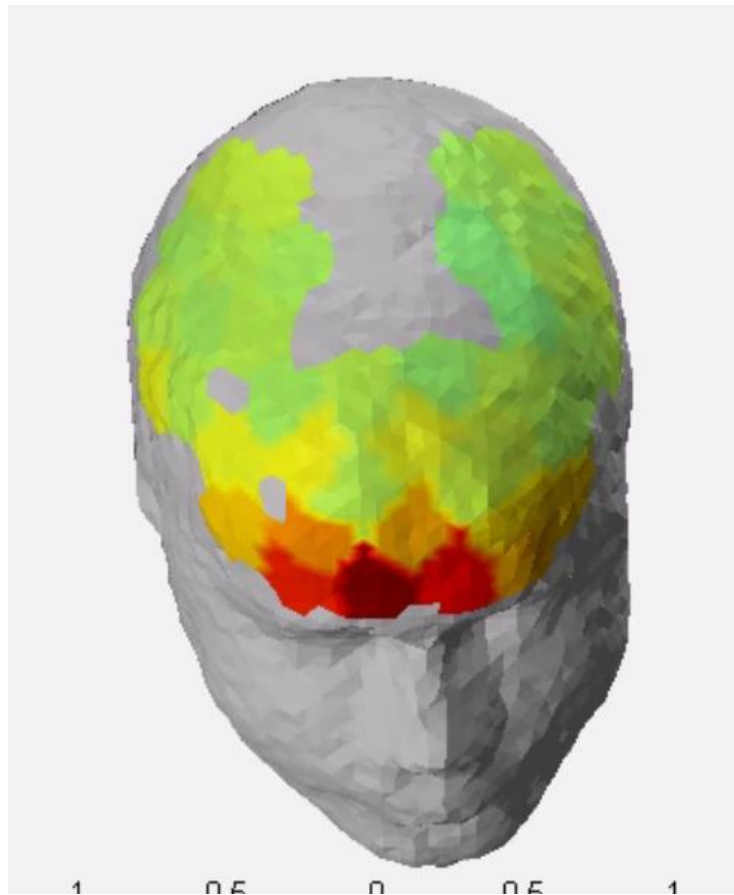


Figura 7. Imagem topográfica cortical obtida através da transposição dos dados coletados por fNIRS, evidenciando atividade frontal bilateral frente a estímulo periférico.

2.3.2 fNIRS E AVALIAÇÃO CORTICAL APÓS ESTÍMULO DOLOROSO

Existem diversos estudos avaliando a ativação cortical frente aos diferentes tipos de estímulos algíco e inócuos. Um deles demonstrou que, em indivíduos saudáveis o estímulo inócuo causou ativação do córtex somatossensorial contralateral e o estímulo doloroso elétrico ativou também o córtex ipsilateral. A resposta da HbO foi mais intensa no estímulo doloroso do que no inócuo. O córtex frontal, entretanto, apresentou uma tendência de desativação (Yücel et al. 2015). Em outro estudo, voluntários saudáveis submetidos a estímulo térmico – calor - apresentaram ativação sutil do córtex ipsilateral. A resposta ao estímulo doloroso foi bifásica, mais intensa e bilateral (Becerra et al. 2009).

Outro estudo avaliando a resposta também frente a estímulo térmico, porém com baixas temperaturas (através do CPT), encontrou correlação entre a sensação de dor e

ativação do córtex ipsilateral na região pré-frontal. O limiar para dor durante esse teste também esteve relacionado a intensidade de variação da HbO (Barati, Zakeri, and Pourrezaei 2017). A avaliação do padrão de ativação em portadores de dor crônica através do uso do fNIRS não está bem definido porém aponta para a ativação mais ampla, intensa e bilateral do córtex (Üçeyler et al. 2015) incluindo região pré-frontal (Hazra et al. 2018).

Estudos de habituação durante o estímulo elétrico mostraram diminuição da atividade de áreas corticais após 45 minutos de manutenção do estímulo. Entre essas áreas estão o córtex cingulado anterior, ínsula e córtex somatossensorial primário e secundário (Nickel et al. 2014). Os mecanismos da habituação ainda não estão bem esclarecidos. Supõe-se haver relação com os mecanismos de controle algico do sistema modulador descendente e a ausência da habituação pode estar relacionada com a persistência da dor crônica (Valeriani et al. 2003) como acontece na dor lombar crônica (Flor, Diers, and Birbaumer 2004) e FM (De Tommaso et al. 2011).

3. MARCO CONCEITUAL

Processos maladaptativos do sistema nervoso podem resultar no surgimento de dor crônica. Nem sempre esses processos são resultantes da persistência de um estímulo periférico, mas sempre há o desenvolvimento de sensibilização do sistema nervoso central que é a base fisiopatológica da fibromialgia e se caracteriza principalmente (mas não apenas) pelo aumento da resposta neuronal desencadeada por um estímulo periférico. A FM, além de dor crônica difusa, cursa ainda com outros sintomas, quase sempre também relacionados a sensibilização central (sintomas psico-afetivos como depressão, ansiedade, catastrofização; e sintomas clínicos como dor abdominal e pélvica crônicas). O funcionamento cortical cerebral de pacientes com FM parece ser diferente de pessoas saudáveis, apresentando maior intensidade de ativação frente ao mesmo estímulo periférico. Isso pode ser visualizado através de métodos de neuroimagem como o fNIRS, que demonstrou haver maior ativação de regiões corticais envolvidas no processamento da dor em pacientes fibromiálgicas quando comparado a pessoas saudáveis. Considerando a neuromatrix da dor e a função das diferentes áreas do córtex cerebral nos sintomas clínicos da fibromialgia, questiona-se a possibilidade de haver uma correlação

entre as diferentes respostas corticais e a existência de dor crônica, bem como a chance de que exista, entre as portadoras de fibromialgia, um padrão de ativação que seja representativo da sensibilização central e do comprometimento clínico decorrente da dor. O mapa conceitual está representado na figura 8.

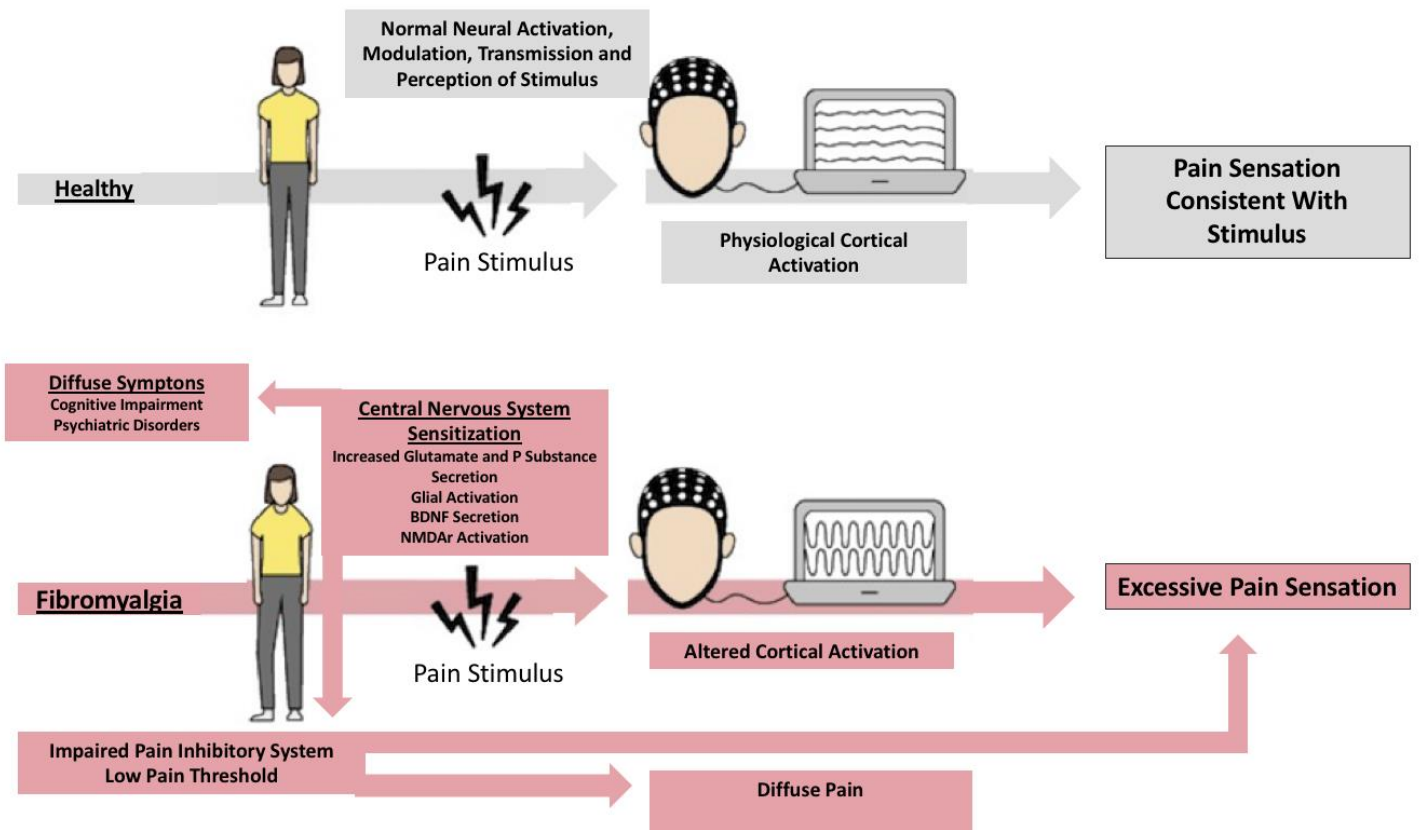


Figura 8. Representação esquemática do Marco Conceitual - O estímulo periférico é processado de forma diferente no FM quando comparado com o organismo saudável, apresentando ativação cortical de padrão distinto e normalmente mais intenso.

4. JUSTIFICATIVA

Considerando que a prevalência de dor crônica aumenta com o envelhecimento da população e que isso demanda adequado arsenal diagnóstico e terapêutico bem como aposentadorias precoces e redução da qualidade de vida global acarretando consequências

em cascata tanto na vida pessoal quanto familiar, demandas econômicas e limitações laborais, há a necessidade de aumentar a compreensão da neurofisiologia e fisiopatogênese envolvida nesses processos.

Há alguns estudos que utilizam fNIRS para avaliar os padrões de ativação cortical frente a diferentes intensidades de estímulos, porém são poucos os que avaliam as respostas em pacientes com fibromiálgicas e sua correlação com medidas clínicas que quantificam a intensidade de comprometimento global decorrente da dor e a intensidade da sensibilização central. Por isso, justifica-se este estudo sobre a resposta hemodinâmica cortical frente a estímulo térmico algico em pacientes fibromiálgicas.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO PRIMÁRIO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o padrão de ativação cortical através do fNIRS em pacientes com FM e controles saudáveis frente dois estímulos térmicos – não algogênico (25°C) e algogênico (5°C).

5.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

Comparar o padrão de ativação cortical entre as regiões pré-frontal e do córtex motor primário em pacientes e controles conforme a intensidade do estímulo periférico (25°C e 5°C).

Testar a correlação entre medidas clínicas de sensibilização central (PCSI) e comprometimento funcional e emocional global (B:PCS:S) com dados de ativação cortical em M1 e PFC como a velocidade e intensidade para ativação frente ao estímulo não algogênico e algogênico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA DISSERTAÇÃO

- Babes, Alexandru, Daniel Zorzon, and Gordon Reid. 2004. "Two Populations of Cold-Sensitive Neurons in Rat Dorsal Root Ganglia and Their Modulation by Nerve Growth Factor." *European Journal of Neuroscience*. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03695.x>.
- Baraniuk, James N, Gail Whalen, Jill Cunningham, and Daniel J Clauw. 2004. "Cerebrospinal Fluid Levels of Opioid Peptides in Fibromyalgia and Chronic Low Back Pain." *BMC Musculoskeletal Disorders* 5 (1): 48. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-5-48>.
- Barati, Zeinab, Issa Zakeri, and Kambiz Pourrezaei. 2017. "Functional Near-Infrared Spectroscopy Study on Tonic Pain Activation by Cold Pressor Test." *Neurophotonics*. <https://doi.org/10.1117/1.NPh.4.1.015004>.
- Bautista, Diana M., Jan Siemens, Joshua M. Glazer, Pamela R. Tsuruda, Allan I. Basbaum, Cheryl L. Stucky, Sven Eric Jordt, and David Julius. 2007. "The Menthol Receptor TRPM8 Is the Principal Detector of Environmental Cold." *Nature*. <https://doi.org/10.1038/nature05910>.
- Becerra, Lino, Will Harris, Margaret Grant, Edward George, David Boas, and David Borsook. 2009. "Diffuse Optical Tomography Activation in the Somatosensory Cortex: Specific Activation by Painful vs. Non-Painful Thermal Stimuli." *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008016>.
- Binder, Devin K, and Helen E Scharfman. 2004. "Brain-Derived Neurotrophic Factor." *Growth Factors (Chur, Switzerland)* 22 (3): 123–31. <https://doi.org/10.1080/08977190410001723308>.
- Botelho, Leonardo M., Leon Morales-Quezada, Joanna R. Rozisky, Aline P. Brietzke, Iraci L. S. Torres, Alicia Deitos, Felipe Fregni, and Wolnei Caumo. 2016. "A Framework for Understanding the Relationship between Descending Pain Modulation, Motor Corticospinal, and Neuroplasticity Regulation Systems in Chronic Myofascial Pain." *Frontiers in Human Neuroscience*. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2016.00308>.
- Brighina, Filippo, Massimiliano Curatolo, Giuseppe Cosentino, Marina De Tommaso, Giuseppe Battaglia, Pier Carlo Sarzi-Puttini, Giuliana Guggino, and Brigida Fierro. 2019. "Brain Modulation by Electric Currents in Fibromyalgia: A Structured Review on Non-Invasive Approach With Transcranial Electrical Stimulation." *Frontiers in Human Neuroscience* 13 (February): 40. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2019.00040>.
- Casey, K. L., S. Minoshima, T. J. Morrow, and R. A. Koeppe. 1996. "Comparison of Human Cerebral Activation Pattern during Cutaneous Warmth, Heat Pain, and Deep Cold Pain." *Journal of Neurophysiology*. <https://doi.org/10.1152/jn.1996.76.1.571>.
- Castillo Saavedra, Laura, Mariana Mendonca, and Felipe Fregni. 2014. "Role of the Primary Motor Cortex in the Maintenance and Treatment of Pain in Fibromyalgia." *Medical Hypotheses*. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2014.06.007>.
- Chitour, Djamel, Anthony H. Dickenson, and Daniel Le Bars. 1982. "Pharmacological Evidence for the Involvement of Serotonergic Mechanisms in Diffuse Noxious Inhibitory Controls (DNIC)." *Brain Research*. <https://doi.org/10.1016/0006->

8993(82)90718-1.

- Clauw, Daniel J, Lesley M Arnold, and Bill H McCarberg. 2011. "The Science of Fibromyalgia." *Mayo Clinic Proceedings* 86 (9): 907–11. <https://doi.org/10.4065/mcp.2011.0206>.
- Crosson, Bruce, Anastasia Ford, Keith M McGregor, Marcus Meinzer, Sergey Cheshkov, Xiufeng Li, Delaina Walker-Batson, and Richard W Briggs. 2010. "Functional Imaging and Related Techniques: An Introduction for Rehabilitation Researchers." *Journal of Rehabilitation Research and Development* 47 (2): vii–xxxiv. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20593321>.
- Davis, Karen D., and Geoffrey E. Pope. 2002. "Noxious Cold Evokes Multiple Sensations with Distinct Time Courses." *Pain*. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(02\)00043-X](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(02)00043-X).
- Deitos, Alícia, Jairo A Dussán-Sarria, Andressa de Souza, Liciane Medeiros, Maria da Graça Tarragô, Francislea Sehn, Mônica Chassot, et al. 2015. "Clinical Value of Serum Neuroplasticity Mediators in Identifying the Central Sensitivity Syndrome in Patients With Chronic Pain With and Without Structural Pathology." *The Clinical Journal of Pain* 31 (11): 959–67. <https://doi.org/10.1097/AJP.000000000000194>.
- Derbyshire, Stuart W.G., Anthony K.P. Jones, Ferenc Gyulai, Stuart Clark, David Townsend, and Leonard L. Firestone. 1997. "Pain Processing during Three Levels of Noxious Stimulation Produces Differential Patterns of Central Activity." *Pain*. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(97\)00138-3](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(97)00138-3).
- Docampo, Elisa, Georgia Escaramís, Mònica Gratacòs, Sergi Villatoro, Anna Puig, Manolis Kogevinas, Antonio Collado, et al. 2014. "Genome-Wide Analysis of Single Nucleotide Polymorphisms and Copy Number Variants in Fibromyalgia Suggest a Role for the Central Nervous System." *Pain*. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2014.02.016>.
- Dubin, Adrienne E, and Ardem Patapoutian. 2010. "Nociceptors: The Sensors of the Pain Pathway." *The Journal of Clinical Investigation* 120 (11): 3760–72. <https://doi.org/10.1172/JCI42843>.
- Ercioglu, Elif, Hasan Murat Velioglu, and Ismail Hakki Boyaci. 2018. "Determination of Terpenoid Contents of Aromatic Plants Using NIRS." *Talanta* 178 (February): 716–21. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.10.017>.
- Ferrari, Marco, and Valentina Quaresima. 2012. "A Brief Review on the History of Human Functional Near-Infrared Spectroscopy (fNIRS) Development and Fields of Application." *NeuroImage*. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.03.049>.
- Firbank, M, C E Elwell, C E Cooper, and D T Delpy. 1998. "Experimental and Theoretical Comparison of NIR Spectroscopy Measurements of Cerebral Hemoglobin Changes." *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)* 85 (5): 1915–21. <https://doi.org/10.1152/jappl.1998.85.5.1915>.
- Fitzgibbon, B.M., K.E. Hoy, L.A. Knox, E.K. Guymer, G. Littlejohn, D. Elliot, L.E. Wambeek, et al. 2018. "Evidence for the Improvement of Fatigue in Fibromyalgia: A 4-Week Left Dorsolateral Prefrontal Cortex Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation Randomized-Controlled Trial." *European Journal of Pain* 22 (7): 1255–67. <https://doi.org/10.1002/ejp.1213>.
- Flor, Herta, Martin Diers, and Niels Birbaumer. 2004. "Peripheral and Electrocortical

- Responses to Painful and Non-Painful Stimulation in Chronic Pain Patients, Tension Headache Patients and Healthy Controls.” *Neuroscience Letters*. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2003.12.064>.
- Graca-Tarrag??, Maria Da, Al??cia Deitos, Aline Patr??cia Brietzke, Iraci L S Torres, Luciana Cadore Stefani, Felipe Fregni, and Wolnei Caumo. 2016. “Electrical Intramuscular Stimulation in Osteoarthritis Enhances the Inhibitory Systems in Pain Processing at Cortical and Cortical Spinal System.” *Pain Medicine (United States)* 17 (5): 877–91. <https://doi.org/10.1111/pme.12930>.
- Groh, Alexander, Patrik Krieger, Rebecca A. Mease, and Luke Henderson. 2018. “Acute and Chronic Pain Processing in the Thalamocortical System of Humans and Animal Models.” *Neuroscience* 387 (September): 58–71. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.09.042>.
- Häuser, Winfried, Jacob Ablin, Serge Perrot, and Mary Ann Fitzcharles. 2017. “Management of Fibromyalgia: Key Messages from Recent Evidence-Based Guidelines.” *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej* 127 (1): 47–56. <https://doi.org/10.20452/pamw.3877>.
- Häuser, Winfried, Frederick Wolfe, Thomas Tölle, Nurcan Üçeyler, and Claudia Sommer. 2012. “The Role of Antidepressants in the Management of Fibromyalgia Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis.” *CNS Drugs*. <https://doi.org/10.2165/11598970-000000000-00000>.
- Hazra, S., V. Srikumar, G. Handa, S.L. Yadav, S. Wadhwa, K.P. Kochhar, K.K. Deepak, K. Sarkar, and U. Singh. 2018. “fNIRS a New Tool for Assessment of Central Sensitization in Fibromyalgia.” *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine* 61 (July): e106–7. <https://doi.org/10.1016/J.REHAB.2018.05.229>.
- Hou, Wen-Hsuan, Tzu-Ya Wang, and Jiunn-Horng Kang. 2016. “The Effects of Add-on Non-Invasive Brain Stimulation in Fibromyalgia: A Meta-Analysis and Meta-Regression of Randomized Controlled Trials.” *Rheumatology (Oxford, England)* 55 (8): 1507–17. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kew205>.
- Inanici, F. Fatma, and Muhammad B. Yunus. 2004. “History of Fibromyalgia: Past to Present.” *Current Pain and Headache Reports* 8 (5): 369–78. <https://doi.org/10.1007/s11916-996-0010-6>.
- Jin, Q.Q., G.Q. Wu, W.W. Peng, X.L. Xia, L. Hu, and G.D. Iannetti. 2018. “Somatotopic Representation of Second Pain in the Primary Somatosensory Cortex of Humans and Rodents.” *The Journal of Neuroscience* 38 (24): 5538–50. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3654-17.2018>.
- Jones, Gareth T., Fabiola Atzeni, Marcus Beasley, Elisa Flüß, Piercarlo Sarzi-Puttini, and Gary J. Macfarlane. 2015. “The Prevalence of Fibromyalgia in the General Population: A Comparison of the American College of Rheumatology 1990, 2010, and Modified 2010 Classification Criteria.” *Arthritis and Rheumatology*. <https://doi.org/10.1002/art.38905>.
- Jones, Kim D., Parimal Deodhar, Ashley Lorentzen, Robert M. Bennett, and Atul A. Deodhar. 2007. “Growth Hormone Perturbations in Fibromyalgia: A Review.” *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2006.09.006>.
- Koroschetz, Jana, Stefanie E. Rehm, Ulrich Gockel, Mathias Brosz, Rainer Freynhagen,

- Thomas R. Tölle, and Ralf Baron. 2011. "Fibromyalgia and Neuropathic Pain - Differences and Similarities. A Comparison of 3057 Patients with Diabetic Painful Neuropathy and Fibromyalgia." *BMC Neurology*. <https://doi.org/10.1186/1471-2377-11-55>.
- Krummenacher, Peter, Victor Candia, Gerd Folkers, Manfred Schedlowski, and Georg Schönbachler. 2010. "Prefrontal Cortex Modulates Placebo Analgesia." *Pain*. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2009.09.033>.
- Kwan, Kelvin Y., Andrew J. Allchorne, Melissa A. Vollrath, Adam P. Christensen, Duan Sun Zhang, Clifford J. Woolf, and David P. Corey. 2006. "TRPA1 Contributes to Cold, Mechanical, and Chemical Nociception but Is Not Essential for Hair-Cell Transduction." *Neuron*. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.03.042>.
- Lau, Benjamin K., and Christopher W. Vaughan. 2014. "Descending Modulation of Pain: The GABA Disinhibition Hypothesis of Analgesia." *Current Opinion in Neurobiology*. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.07.010>.
- Lee, Young Ho, Sung Jae Choi, Jong Dae Ji, and Gwan Gyu Song. 2012. "Candidate Gene Studies of Fibromyalgia: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Rheumatology International*. <https://doi.org/10.1007/s00296-010-1678-9>.
- Lefaucheur, Jean-Pascal, Andrea Antal, Samar S. Ayache, David H. Benninger, Jérôme Brunelin, Filippo Cogiamanian, Maria Cotelli, et al. 2017. "Evidence-Based Guidelines on the Therapeutic Use of Transcranial Direct Current Stimulation (TDCS)." *Clinical Neurophysiology* 128 (1): 56–92. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2016.10.087>.
- Lorenz, Jürgen, S. Minoshima, and K. L. Casey. 2003. "Keeping Pain out of Mind: The Role of the Dorsolateral Prefrontal Cortex in Pain Modulation." *Brain*. <https://doi.org/10.1093/brain/awg102>.
- Maihöfner, Christian, Clemens Forster, Frank Birklein, Bernhard Neundörfer, and Hermann O. Handwerker. 2005. "Brain Processing during Mechanical Hyperalgesia in Complex Regional Pain Syndrome: A Functional MRI Study." *Pain* 114 (1): 93–103. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2004.12.001>.
- Mills, Emily P., Flavia Di Pietro, Zeynab Alshelh, Chris C. Peck, Greg M. Murray, E. Russell Vickers, and Luke A. Henderson. 2018. "Brainstem Pain-Control Circuitry Connectivity in Chronic Neuropathic Pain." *The Journal of Neuroscience* 38 (2): 465–73. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1647-17.2017>.
- Morton, Debbie L, Javin S Sandhu, and Anthony Kp Jones. 2016. "Brain Imaging of Pain: State of the Art." *Journal of Pain Research* 9: 613–24. <https://doi.org/10.2147/JPR.S60433>.
- Napadow, Vitaly, Lauren LaCount, Kyungmo Park, Sawsan As-Sanie, Daniel J. Clauw, and Richard E. Harris. 2010. "Intrinsic Brain Connectivity in Fibromyalgia Is Associated with Chronic Pain Intensity." *Arthritis & Rheumatism* 62 (8): 2545–55. <https://doi.org/10.1002/art.27497>.
- Nickel, F. T., S. Ott, S. Möhringer, M. Saake, A. Dörfler, F. Seifert, and C. Maihöfner. 2014. "Brain Correlates of Short-Term Habituation to Repetitive Electrical Noxious Stimulation." *European Journal of Pain (United Kingdom)*. <https://doi.org/10.1002/j.1532-2149.2013.00339.x>.
- "NIRx Help Center – FNIRS and NIRx Help Center for Our Users." n.d. Accessed

- January 26, 2019. <http://support.nirx.de/>.
- O'Reilly, Randall C. 2010. "The What and How of Prefrontal Cortical Organization." *Trends in Neurosciences*. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2010.05.002>.
- Obata, Koichi, Hirokazu Katsura, Toshiyuki Mizushima, Hiroki Yamanaka, Kimiko Kobayashi, Yi Dai, Tetsuo Fukuoka, Atsushi Tokunaga, Makoto Tominaga, and Koichi Noguchi. 2005. "TRPA1 Induced in Sensory Neurons Contributes to Cold Hyperalgesia after Inflammation and Nerve Injury." *Journal of Clinical Investigation*. <https://doi.org/10.1172/JCI25437>.
- Ong, Wei-Yi, Christian S. Stohler, and Deron R. Herr. 2018. "Role of the Prefrontal Cortex in Pain Processing." *Molecular Neurobiology*, June. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1130-9>.
- Ossipov, Michael H., Gregory O. Dussor, and Frank Porreca. 2010. "Central Modulation of Pain." *Journal of Clinical Investigation*. <https://doi.org/10.1172/JCI43766>.
- Peng, Ke, Meryem A. Yücel, Sarah C. Steele, Edward A. Bittner, Christopher M. Aasted, Mark A. Hoeft, Arielle Lee, et al. 2018. "Morphine Attenuates fNIRS Signal Associated With Painful Stimuli in the Medial Frontopolar Cortex (Medial BA 10)." *Frontiers in Human Neuroscience* 12 (October): 394. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2018.00394>.
- Peyron, R., B. Laurent, and L. García-Larrea. 2000. "Functional Imaging of Brain Responses to Pain. A Review and Meta-Analysis (2000)." *Neurophysiologie Clinique*. [https://doi.org/10.1016/S0987-7053\(00\)00227-6](https://doi.org/10.1016/S0987-7053(00)00227-6).
- Reidler, Jay S., Mariana E. Mendonca, Marcus B. Santana, Xiaoen Wang, Robert Lenkinski, Andrea F. Motta, Serge Marchand, Lydia Latif, and Felipe Fregni. 2012. "Effects of Motor Cortex Modulation and Descending Inhibitory Systems on Pain Thresholds in Healthy Subjects." *Journal of Pain*. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2012.01.005>.
- Rocha, Anita Perpétua Carvalho, Durval Campos Kraychete, Lino Lemonica, Lídia Raquel de Carvalho, Guilherme Antônio Moreira de Barros, João Batista dos Santos Garcia, and Rioko Kimiko Sakata. 2007. "Dor: Aspectos Atuais Da Sensibilização Periférica e Central." *Revista Brasileira de Anestesiologia* 57 (1): 94–105. <https://doi.org/10.1590/S0034-70942007000100011>.
- S.B., Smith, Maixner D.W., Fillingim R.B., Slade G., Gracely R.H., Ambrose K., Zaykin D.V., et al. 2012. "Large Candidate Gene Association Study Reveals Genetic Risk Factors and Therapeutic Targets for Fibromyalgia." *Arthritis and Rheumatism*. <https://doi.org/10.1002/art.33338>.
- Sanada, Tatsuo, Hikaru Kohase, Kenzo Makino, and Masahiro Umino. 2009. "Effects of Alpha-Adrenergic Agonists on Pain Modulation in Diffuse Noxious Inhibitory Control." *Journal of Medical and Dental Sciences*.
- Schaible, Hans Georg, Andrea Ebersberger, and Gabriel Natura. 2011. "Update on Peripheral Mechanisms of Pain: Beyond Prostaglandins and Cytokines." *Arthritis Research and Therapy*. <https://doi.org/10.1186/ar3305>.
- Schrepf, Andrew, Daniel E. Harper, Steven E. Harte, Heng Wang, Eric Ichescio, Johnson P. Hampson, Jon Kar Zubieta, Daniel J. Clauw, and Richard E. Harris. 2016. "Endogenous Opioidergic Dysregulation of Pain in Fibromyalgia: A PET and fMRI Study." *Pain*. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000633>.

- Silva, Adriana Ferreira, Maxciel Zortea, Sandra Carvalho, Jorge Leite, Iraci Lucena da Silva Torres, Felipe Fregni, and Wolnei Caumo. 2017. "Anodal Transcranial Direct Current Stimulation over the Left Dorsolateral Prefrontal Cortex Modulates Attention and Pain in Fibromyalgia: Randomized Clinical Trial." *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00185-w>.
- Sluka, Kathleen A., and Daniel J. Clauw. 2016. "Neurobiology of Fibromyalgia and Chronic Widespread Pain." *Neuroscience*. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.06.006>.
- Stockl, Andrea, and Fabian Lichti. 2018. "Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) for a Real Time Monitoring of the Biogas Process." *Bioresource Technology* 247 (January): 1249–52. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.173>.
- Talotta, Rossella, Laura Bazzichi, Manuela Di Franco, Roberto Casale, Alberto Batticciotto, Maria Chiara Gerardi, and Piercarlo Sarzi-Puttini. 2017. "One Year in Review 2017: Fibromyalgia." *Clinical and Experimental Rheumatology*. <https://doi.org/10.1080/00914037.2013.769164>.
- Tommaso, Marina De, Antonio Federici, Roberto Santostasi, Rita Calabrese, Eleonora Vecchio, Giovanni Lapadula, Fiorenzo Iannone, Paolo Lamberti, and Paolo Livrea. 2011. "Laser-Evoked Potentials Habituation in Fibromyalgia." *Journal of Pain*. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2010.06.004>.
- Üçeyler, Nurcan, Julia Zeller, Susanne Kewenig, Sarah Kittel-Schneider, Andreas J. Fallgatter, and Claudia Sommer. 2015. "Increased Cortical Activation upon Painful Stimulation in Fibromyalgia Syndrome." *BMC Neurology*. <https://doi.org/10.1186/s12883-015-0472-4>.
- Valeriani, M., M. De Tommaso, D. Restuccia, D. Le Pera, M. Guido, G. D. Iannetti, G. Libro, et al. 2003. "Reduced Habituation to Experimental Pain in Migraine Patients: A CO₂ Laser Evoked Potential Study." *Pain*. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(03\)00137-4](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(03)00137-4).
- Willer, Jean Claude, Daniel Le Bars, and Thomas De Broucker. 1990. "Diffuse Noxious Inhibitory Controls in Man: Involvement of an Opioidergic Link." *European Journal of Pharmacology*. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(90\)90293-F](https://doi.org/10.1016/0014-2999(90)90293-F).
- Wolfe, Frederick, Daniel J. Clauw, Mary Ann Fitzcharles, Don L. Goldenberg, Robert S. Katz, Philip Mease, Anthony S. Russell, I. Jon Russell, John B. Winfield, and Muhammad B. Yunus. 2010. "The American College of Rheumatology Preliminary Diagnostic Criteria for Fibromyalgia and Measurement of Symptom Severity." *Arthritis Care and Research*. <https://doi.org/10.1002/acr.20140>.
- Yarnitsky, David. 2010. "Conditioned Pain Modulation (the Diffuse Noxious Inhibitory Control-like Effect): Its Relevance for Acute and Chronic Pain States." *Current Opinion in Anaesthesiology*. <https://doi.org/10.1097/ACO.0b013e32833c348b>.
- Yücel, Meryem A., Christopher M. Aasted, Mihayl P. Petkov, David Borsook, David A. Boas, and Lino Becerra. 2015. "Specificity of Hemodynamic Brain Responses to Painful Stimuli: A Functional near-Infrared Spectroscopy Study." *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/srep09469>.
- Zhu, C, B Yu, W Zhang, W Chen, Q Qi, and Y Miao. 2017. "Effectiveness and Safety of Transcranial Direct Current Stimulation in Fibromyalgia: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Journal of Rehabilitation Medicine* 49 (1): 2–9.

<https://doi.org/10.2340/16501977-2179>.

The disengagement on the brain cortical activation during thermal nociceptive stimulus indicates deteriorated cortical processing in fibromyalgia

Daniela Gabiatti Donadel^{1,2}, Maxciel Zortea^{1,2}, Janete Shatkoski Bandeira^{1,2},
Iraci Lucena da Silva Torres, Felipe Fregni⁴, Wolnei Caumo^{1,2,4,5,6}

¹Post-Graduate Program in Medical Sciences, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); ²Laboratory of Pain and Neuromodulation at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil; ³Laboratory of Biomedical Engineer at HCPA; ⁴Laboratory of Neuromodulation and Center for Clinical Research Learning, Physics and Rehabilitation Department, Spaulding Rehabilitation Hospital, Boston, MA, USA; ⁵Pain and Palliative Care Service at HCPA and ⁶Department of Surgery, School of Medicine, UFRGS.

CORRESPONDING AUTHOR: Wolnei Caumo MD, PhD; Department: Laboratory of Pain and Neuromodulation; Institution: Hospital de Clínicas de Porto Alegre at UFRGS. Address: Ramiro Barcelos, 2350 - CEP 90035-003 Bairro Rio Branco - Porto Alegre – RS. Phone: (55) 51- 3359.8083. Fax: (55) 51- 3359.8083

EMAIL ADDRESSES OF CO-AUTHORS:

Daniela Gabiatti Donadel (dgdonadel@gmail.com)

Maxciel Zortea (max.zortea@gmail.com)

Janete Shatkoski Bandeira (janete@acuneuro.com.br)

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

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

Wolnei Caumo (wcaumo@hcpa.edu.br)

ABSTRACT

Background: Fibromyalgia is a complex and debilitating chronic pain syndrome related to central sensitization and changes in connectivity of cortical areas. The development of functional neuroimage techniques as fMRI and fNIRS enables a better access brain cortical response triggered by peripheral stimuli and thus to comprehend differences of neuronal function that may be present on fibromyalgia (FM) patients.

Studies demonstrated correlations between the intensity of pain stimulus and the magnitude of recruitment of cortical areas involved in pain processing, including somatosensory and prefrontal cortices. However, there's a lack of data focusing on motor cortex and PFC activity and its relation with clinical features of FM patients.

Objectives: To compare the intensity and velocity of M1 and PFC activation between FM patients and healthy control (HC) and to correlate the pattern of activation among FM and clinical features of central sensitization and global interference of chronic pain on emotions, daily activities and personal relationships.

Methods: We included 41 women (FM = 19 and HC = 22) women, age between 18 and 65 years. The brain cortical activation on PFC and M1 was measured by the oxy-deoxyhemoglobin curves by the fNIRS during two different thermal stimuli (water at 25°C, and 50°C). We accessed data of delta value (Δ)-oxy-hemoglobin (HbO), Δ -deoxy-hemoglobin (HHb) and peak latency. The value (Δ) was calculated by the difference from baseline to after painful stimulus (50°C) and the change between two different thermal stimuli.

Results: Stronger stimuli generated higher Δ HbO on M1 (during and post stimulus) and PFC (post stimulus). FM group showed shorter peak latency on contralateral M1 (**Wald's chi-square (1)=8.53; p=0.003**) and HC had higher Δ HHb on bilateral M1 (**Left M1 Wald's chi-square (1)=8.54; p=0.003. Right M1 Wald's chi-square (1)=9.49; p=0.002**). Among FM patients, the PFC activation was associated with symptoms of central sensitization (**$\rho=0.63$; $p<0.01$**) and global commitment (**$F=4.78$; $\text{power} = 0.53$; $p=0.04$**). M1 response, in turn, was related to symptoms of global commitment (**$\rho=0.52$; $p<0.05$**).

Conclusions: Cortical activation of FM is different from HC – in this sample, FM had a faster stuck response. An increased cortical recruitment due to nociceptive stimuli,

however, was related to worse clinical symptoms and highlighted higher central sensitization.

Key Words: BOLD signal, functional near-infrared spectroscopy, pain; fibromyalgia

INTRODUCTION

Fibromyalgia is a complex syndrome that comprises symptoms of the central sensitization syndrome (CSS), such as widespread pain, sleep disturbance, joint stiffness, headache, abdominal discomfort, cognitive impairment, and psychiatric comorbidities. According to an early study, a higher score in the Central Sensitization Inventory (CSI) was correlated positively with both, serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and dysfunction of the descending pain inhibitory system (Caumo W 2017).

Also, previous studies with functional magnetic resonance imaging (fMRI) in resting-state found different activation in brain areas involved in pain processing in patients with chronic pain (e.g., neuropathic pain, FM, etc.) compared to healthy subjects (Emily P. Mills, 2018, Napadow V, 2010). In cases of orofacial neuropathic pain, the results point to increased functional connectivity within the brainstem pain-modulation network (e.g., rostral ventromedial medulla (RVM), ventrolateral periaqueductal gray (vlPAG) and locus ceruleus (LC) (Mills 2018). In FM subjects another study observed changes in the connectivity of the primary somatosensory (S1) cortex with clinical pain, catastrophizing pain and autonomic dysfunction (Napadow 2010). Likewise, in healthy subjects, morphine's effect attenuated the fNIRS-measured pain signal in the medial Brodmann Area 10 and S1 (Ke Peng, 2018). FM showed a pattern of activation of dorsolateral prefrontal cortex upon painful stimulation distinct from healthy controls. While healthy subjects displayed unilateral cortical response, FM patients expressed bilateral activation of prefrontal and somatosensorial cortex (Nurcan Üçeyler, 2015).

Although some of the studies mentioned above were conducted mainly in healthy subjects, they give us an insight into the underlying physiological principles and the transient dynamics of the vascular response in terms of blood oxygenation level-dependent (BOLD) signals related to the local paramagnetic deoxy-hemoglobin (reduced hemoglobin, HbR). The results of the previous studies demonstrated correlations among the intensity of pain stimulus, the magnitude of activation of spatial segregated cortical areas involved in pain processing (e.g., contralateral SI and bilateral second (SII) somatosensory cortices) and PFC (Wei-Yi Ong, 2019). However, up to the present, a limited number of studies have focused on the cortical activation speed on specific areas associated with emotion and pain processing, nominally PFC (J. -P. Lefaucheur et al. 2017) and primary motor cortex (M1) (Zhu et al. 2017; J. -P. Lefaucheur 2016; Hou,

Wang and Kang 2016). These areas also are targets to apply non-invasive brain-stimulation [e.g., transcranial magnetic stimulation, transcranial direct current stimulation, etc.]. Thus, considering that the fNIRS provides detailed biochemical specificity in the form of HbR and HbO concentration changes within a microvascular space with high temporal resolution (Firbank et al. 1998; Liu et al. 1995), we use the fNIRS measures to assess an assumed hyperactive neural framework in areas involved in pain processing in FM, nominally PFC and M1. We hypothesized that FM compared to healthy subjects could present a reduced time of cortical activation on PFC and M1 as measured by the oxy-deoxyhemoglobin curves by the fNIRS during two different thermal stimuli (water at 25°C, and 5°C). Later, in the FM group, we examined the relationship between time of cortical activation based in the peak of the curve of oxy-deoxy-hemoglobin with the disability due to pain and the level of central sensitization in FM group.

2. PATIENTS AND METHODS

2.1 Design Overview, Settings, and Participants

The protocol of this cross-sectional study was approved by Hospital de Clinicas de Porto Alegre Ethics Committee Board (Institutional Review Board IRB 0000921), according to the Declaration of Helsinki. The protocol was developed in accordance with the Strengthening Reporting of Observational Studies in Epidemiology Checklist (STROBE). All participants provided their oral and written informed consent.

2.2 Recruitment, Inclusion and Exclusion Criteria

We included right-handed women aged between 18 and 65 years recruited from the Hospital de Clínicas Chronic Pain Clinic and Basic Health Unit, and referrals from other clinic units. We also placed advertisement posters in public places in Porto Alegre and on the internet. After that, volunteers were contacted by phone and screened for eligibility. Those who met the criteria were invited to respond to questionnaire,, and testing.

Fibromyalgia Group (FM): In addition to the age bracket, it was necessary that the women should be able to read and write and diagnosed for FM according to the ACR 2010–2016 criteria. A skilled physician with experience in pain clinic re-examined

patients and confirmed the diagnosis. Queries in the questionnaire evaluated the interference of pain with work, leisure, home life, relationships, life goals, and cognition. We excluded pregnant patients and women with a history of malignancy or uncompensated chronic diseases.

Healthy Controls Group (HC): Pain-free women, should be literate to answer the questionnaire that inquired into the presence of acute or chronic pain, use of medication including psychiatric and analgesic drugs, medical conditions including clinical and psychiatric diseases, lifestyle habits, tobacco, and alcohol consumption. Volunteers found to be non-pain free, pregnant, having unstable clinical conditions or auto-referred as suffering of neuropsychiatric comorbidities were excluded. We also excluded women that were using benzodiazepines or antidepressant drugs.

On the day before the test, both groups of volunteers were given the detailed information about the experimental protocol and were advised to refrain from consuming stimulating drinks and alcohol at least six hours before the intervention. Initially, we recruited 46 volunteers. However, five were excluded—one of FM group due to problems with the measurement with fNIRS; four from the control group due to acute illnesses; and three as they were using antidepressants.

2.3 Instruments and Assessments

2.3.1 Outcomes and Measurements

The main outcome was the activation of the PFC and primary motor cortex (M1) assessed by the time taken to reach the peak of ΔHbO and ΔHHb and the velocity of activation.

2.3.2. Data Acquisition

Cortical activation was evaluated by fNIRS using a NirX NirScout 16x24 near-infrared spectroscopy device, scan rate 3,91 Hz, dual-wavelengths LEDs sources (760 and 850 nm) with 16 sources and 16 detectors spaced about 3 cm apart and placed over the scalp using the caps provided by EASYCAP®. The montage intended to create 40 channels and cover bilateral prefrontal and cortical motor areas. Probe localization was established using the international 10-10 system (EEG) (Figure 2). Software used was NirsStar 14.2, NirsLab 2017, and MATLAB.

-----Insert Figure 1-----

-----Insert Figure 2-----

3. Data Screening and Preprocessing

The raw data of each subject was individually inspected with NirsLab and all channels with coefficient variation (CV) higher than 7.5% were removed. Subsequently, data were band-passed from 0.01Hz to 0.2Hz and then, working with an inter-optode distance of 3 cm and the differential pathlength of 7.25 and 6.38, the data was finally converted to HbO and HHb using the modified Beer-Lambert law and exported to MATLAB. Based on previous studies (Barati, Zakeri, and Pourrezaei, 2017), we calculated the mean concentration of HbO and HHb at the 30 seconds baseline and defined two main measures: A) the range of HbO and HHb in comparison to the 30 second baseline calculated during 15 seconds before the stimulus; and B) the time required to reach the highest HbO value. HbO hemodynamic is more sensitive for evaluating cortical response than HHb or even total hemoglobin (Strangman et al. 2002). We grouped channels in four cortical areas, based on 10/10 system (EEG) parameters and Broadmann's area (Table 1)— left / right frontal area and left / right motor areas.

4. Experimental Paradigm

Each subject was seated in a comfortable chair with ergonomic armrests and lights in the room were turned off during data acquisition to minimize contamination from the extraneous light sources. After explaining and demonstrating the procedure and solving the doubts concerning each evoking test, subjects were requested to remain with their eyes closed and were instructed to reduce every motor activity not related to the experiment. After verifying the correct positioning of the sources and the detectors and adequate signal capture, we proceeded with data gathering. The cortical signal was recorded for 60 seconds in the resting state. The evoking tests were performed while recording the subject's cortical activation for posterior offline analysis. The evoking tests were applied while the right hand of the subject was immersed in water at three different temperatures settings: 25°C (innocuous), 15°C (described as close to pain threshold (Wolf and Hardy 2008) and 5°C (noxious). The water temperature during the experiment was measured by a digital thermometer, and the interval between each change of temperature was 2 minutes. The cortical activation was recorded during the first 30 seconds of immersion or until the subject reported pain. We used this standardized protocol of stimuli

created by the researcher team and based on literature, to assess the individual cortical activation measured by peak latency and velocity of activation. The total time for each intervention was 8 minutes.

----- Insert Figure 3 -----

5. Assessment of demographic and clinical variables

Demographic data were assessed via standard questionnaire. Depressive symptoms were evaluated using the Beck II Depression Inventory (BDI-II) and anxiety with Strait-Trait Anxiety Inventory (STAI), respectively; central sensitization was accessed by the Brazilian Portuguese Central Sensitization Inventory (BP-CSI). Catastrophizing was evaluated through the Pain Catastrophizing Scale (PCS) and the level of disability caused by pain was accessed via the Portuguese Profile of Chronic Pain Screen (P:PCP:S).

6. Data Analysis

All outcomes were tested for normality using the Shapiro-Wilk's test. For sample characterization purposes, we used Mann-Whitney U tests for continuous variables and Fisher's Exact Tests for categorical variables. In order to test for group and temperature differences in the cortical activation, we applied Generalized Linear Models (GLMs) for all cortical activation outcomes (dependent variables) considering Group (FM and HC) and Temperature (25° and 5°C) as factors. Spearman's ρ correlations were used to test the relations between cortical activation and clinical measures (total scores on BP:CSI and B:PCP:S scales) in FM patients. Following this, we also used GLMs for considering dependent variables, the variation of peak latency, and ΔHbO between 5 and 25°C for FM patients, and scores of BP-SCI and B:PCP:S scales as independent variables. All analyses considered a significance level of $\alpha=0.05$ for two-tailed tests and were implemented in IBM® SPSS® Statistics Version 21.

7. RESULTS

7.1 Sample Characterization

We enrolled 46 volunteers (2 groups with 80% power, 5% significance and effect of 0,2 + 10%) . For reasons stated earlier; we excluded five volunteers—one of FM group and four of the control group. The comparisons between groups related to socio-demographic the clinical characteristics, as presented in Table 1. Subjects of the FM group were older, with a lower level of formal education, and a higher body mass index. Also, as expected they showed higher levels of depression symptoms, pain catastrophizing, and state and trait anxiety. Also, they reported higher pain scores and the impact of pain on daily activities, a higher rate of use of antidepressants, anticonvulsants, and analgesic medication ($p < 0.05$). We found a significantly higher mean of oxy-hemoglobin concentration in the right M1 in FM compared to HC ($p = 0.038$).

-----Insert Table 1-----

7.2. Bi-hemispheric cortical activation on M1 and PFC provoked by thermal stimulus— ΔHbO and ΔHHb

7.2.1 Peak Latency of HbO—recorded on M1

As shown in Table 2, the GLM revealed a significant main effect for the group in the peak latency on the left M1 region [Wald's chi-square (1)=8.53; $p = 0.003$]—pairwise comparisons indicate FM patients had a shorter peak latency. The Δ -peak latency in the mean of HbO upon the thermal stimuli from 25°C to 5°C on left M1 indicates that in FM the latency increased 15.71% [mean (SD) pre 5.6 (0.65) vs. 6.48 (0.65) post-stimulus], while in HC this change was 1.12% [pre 8.09 (0.71) vs. 8.0 (0.71) post-stimulus]. The increment in the peak latency indicated that upon receiving a painful stimulus, the cortical processing on left M1 slowed if compared to non-painful stimulus. The group effect for peak latency on the left PFC region was marginally non-significant [Wald's chi-square (1)=3.61; $p = 0.057$]. We did not find a significant effect of group, temperature or interactions between group and temperature in right PFC and M1.

7.2.2 Post stimulus onset ΔHbO and ΔHHb —recorded on M1

A GLM revealed the main effect of temperature in the left M1 region (Wald's chi-square (1)=7.07; $p = 0.008$), considering both FM and HC groups showed a larger change in the oxyhemoglobin in M1 after immersing the hand in cold water at 5°C compared to

25°C (Table 2). The ΔHbO related to thermal stimuli (25°C to 5°C) on left M1 indicates that in FM the $\Delta\text{-HbO}$ increased 50% [mean (SD) pre 0.38 (0.08) vs. post-stimuli 0.57 (0.08)]. While in HC this change was 57.14% [pre 0.44 (0.09) vs. post-stimuli 0.71 (0.09)]. The increment in the ΔHbO indicated that post-nociceptive stimuli, the cortical processing on left M1 increased in both groups, but in FM is slowed down. On M1 no effects of the group or interactions were found, and no effects were found on PFC and right M1 area.

We also observed a significant relation of ΔHHb and Groups on bilateral M1 regions—HC had a higher variation in deoxyhemoglobin than FM patients independently of the temperature. The left M1 also revealed the effect of temperature— ΔHHb at 5°C is higher than from 25°C (Wald's chi-square (1)=4.27; $p=0.039$), (Table 2). No effect was found on left or right PFC deoxyhemoglobin.

7.3 Bi-hemispheric cortical activation on M1 and PFC- ΔHbO^* (post-stimulus ending minus pre) recorded on PFC and M1

The analysis of the ΔHbO for the 15s after the end of the 5 °C stimulus revealed effects of temperature for the left (Wald's chi-square (1)= 4.80; $p=0.028$) and the right (Wald's chi-square (1)=4.49; $p=0.034$) PFC regions, indicating a larger variation for 5°C when compared to 25°C, independent of Group (Table 2).

The ΔHbO^* was dependent of Group (Wald's chi-square (1)=4.01; $p=0.045$) and temperature (Wald's chi-square (1)=10.88; $p=0.001$), in the left M1 region, where HC had higher ΔHbO^* than FM, and both groups had a higher variation with 5°C than with 25°C. In the right M1 region, ΔHbO^* was also dependent on group (Wald's chi-square (1)=4.55; $p=0.033$). The ΔHbO^* after thermal stimuli from 25°C to 5°C on left M1 indicates that in FM the ΔHbO^* increased 125% [mean (SD) pre 0.16 (0.06) vs. post-stimulus 0.36 (0.06)]. While in HC this change was 96.29% [pre 0.27 (0.06) vs. post-stimulus 0.53 (0.07)]. When referring to the right M1 area, FM group demonstrated 60% of increment on ΔHbO triggered by 5°C compared to ΔHbO at 25°C [mean (SD) pre 0.15 (0.04) vs. post stimuli 0.24 (0.04)] and HC group showed 40% increment [mean (SD) pre 0.25 (0.05) vs. post stimuli 0.35 (0.05)]. The increment in the ΔHbO^* indicates that after nociceptive stimuli the cortical processing on left M1 increased in both groups, but in FM this increment was higher.

-----Insert Table 2-----

7.4 Relations between cortical activation and the disability due to pain and the level of central sensitization in FM group

We correlated the results from the BPCSI and B:PCP:S with measures of cortical activation (Table 3, 4 and 5). We chose those two questionnaires as they may demonstrate the presence of symptoms and diseases of central sensitization (BPCSI) and how the chronic pain patient deals with disease in the three dimensions of pain (B:PCP:S)—the severity of pain; how it interferes on leisure, personal relationships, cognition and self-care; and the emotional burden due to pain. To evaluate a pattern of personal response triggered by peripheral stimuli, we use at this point the variation in ΔHbO of FM (ΔHbO at 5°C minus ΔHbO at 25°C — $\Delta'\text{HbO}$) and also, the variation in peak latency (time to reach peak of HbO at 5°C minus time to reach peak of HbO at 25°C — Δ Peak Latency). We understand that this can show the presence of magnification of cortical response due to nociceptive stimuli. The data of BP-CSI showed a direct correlation with Δ Peak Latency and $\Delta'\text{HbO}$ on left PFC, in the sense that the bigger the peak latency and $\Delta'\text{HbO}$ of the stronger stimulus, more symptoms of central sensitization the patient had (Table 4). Data from B:PCP:S also evidenced a direct correlation of $\Delta'\text{HbO}$ over the left PFC (Table 5).

-----Insert Table 3 -----

-----Insert Table 4 -----

-----Insert Table 5 -----

DISCUSSION

These results extend the previous data on the relation between FM and brain cortical activation patterns. Specifically, in FM the peak latency for HbO concentrations after thermal stimuli (25°C to 5°C) on contralateral M1 seems to be shorter than on HC, while the increment in the $\Delta\text{-HbO}$ was lower compared to HC. Also, in FM the severity of central sensitization symptoms and disability due to pain are correlated with a larger Δ -peak latency of the curve of HBO on the left PFC. Although all outcomes were analyzed based on Δ -value to adjust for individual physiological variability, these results contrast with our initial hypothesis that an increase in the cortical activation as measured indirectly—by Δ -oxy-deoxy-hemoglobin—would be more substantial in FM than in HC.

Our results revealed that FM showed shorter latency for cortical activation on M1 in response to two standardized thermal stimuli, either to be nociceptive or non-nociceptive. This result indicates that, in FM, the afferent stimulus in the pain pathways is facilitated. This finding is supported by earlier studies, which found an association between lower pain threshold with the rate of neuronal response at the cortical level (Barati, Zakeri, and Pourrezaei 2017). The authors of the mentioned study inferred that a more substantial cortical activation in the ipsilateral frontal region was related to pain. Although this is plausible, it is hard to assume that findings related to the change in Δ -oxy-deoxy-hemoglobin on M1 could be specific of nociceptive stimuli. We interpreted this result as a cortical activation evoked by both stimuli—thermal and motor—related to hand movement. We assume that changes in cortical activation cannot be interpreted as a direct response of nociceptive stimuli since the hemodynamic response is an alternative marker of neuronal activity. Accordingly, the increase in the cortical activation, in consonance to thermal tests, reinforces the hypothesis that at some level the changes found in the M1 may be related to cortical pain processing. Even though we could not interpret them as a cause-effect response, their contextualized interpretation on a defined paradigm can assist us in investigating the cortical function in targeting areas involved in pain processing and targeting the areas of therapeutic approaches, such as M1 and dorsolateral prefrontal cortex.

In the current study, we observed a larger variability of Δ HbO produced by thermal stimuli on M1 contralateral. Some studies investigating BOLD signals with fNIRS for painful and non-painful stimuli indicated a greater activation in the primary motor cortex, while no critical changes in PFC (Yucel et al. 2015). It should be noted that Yucel et al. (2015) studied healthy subjects. Therefore, FM patients may have a different hemodynamic response. In chronic pain syndromes, such as chronic lower back pain, one study has not found alterations in cortical activation in supplementary motor area and primary somatosensory cortex (Vrana et al. 2016).

On the other hand, a study with FM patients revealed a decrease in oxyhemoglobin levels in motor areas during a motor task compared to HCs (Gentile et al. 2018). In the light of the current data from literature and results from the present study, it is possible to conclude that the results based on the BOLD response show considerable variability, possibly due methodological characteristics and low specificity of the method. Despite

these considerations, the set of data indicates a deteriorated cortical processing in fibromyalgia.

Even though we do not have a clear explanation for these results that seem to indicate in the opposite direction, it is plausible to hypothesize that they show two faces of the same phenomenon, which is linked to a deteriorated function of cortical processing. This assumption finds some support on the results of a recent study with FM patients, where we observed an increase in the short intracortical inhibition measured by transcranial magnetic stimulation (Tiago and Caumo 2019), which suggests a hypoactivation in the M1 area. Thereby, it is plausible that these changes indicate deterioration in the motor cortex neurons functions induced by persistent cortical hyperexcitability in chronic pain. At the same time, it can suggest that this can be a neurophysiological process involved in the dysfunction of descending pain inhibitory system. This hypothesis finds support in the type of stimuli used in the transcranial neuromodulation that aim to increase excitability, such as anodic stimulation on M1 as well the repetitive-TMS with high frequency (equal or higher than 5 Hz). Thus, the hypothesis that a slowed down processing may be a physiological protective reaction is aligned with the idea that a continued effort of adaptation results in the exhaustion of the physiologic capacity to maintain the balance in the mechanisms of excitability and inhibition. In short, we understand that the disengagement of the brain cortical activation during thermal nociceptive stimulus observed in our study indicates deteriorated cortical processing in fibromyalgia.

The hypothesis that the metabolic changes observed in FM are indicating a dysfunctional process is supported by the results that correlate those changes with clinical measures, such as symptoms of central sensitization and disability due to pain. Although these results indicate changes by indirect means of metabolic and vascular coupling, they give us new insights to study in real time the effect of different paradigms of evaluating cortical dysfunctions related to chronic pain. Additionally, they may be an entry port to assess the complex pain-related neural network and also to understand the roles of M1 and PFC in pain signal-processing. However, we need to be cautious in the interpretation of these results since the study design does not permit cause-effect analysis.

This study has certain limitations. First, although we identified the differences related to age, formal education years, psychiatric disorders, and medication intake between the groups, those differences are expected. Despite the possibility that some

confounding effect may have been present, the results that indicate the differences between groups have biological plausibility. Second, it is a challenge to maintain FM patients quite in the same position for a long time or even for them to tolerate the pain in the scalp when their hair has to be handled. These are the reasons why we removed some channels, which sometimes caused the signal to be of poor quality. However, we know these difficulties are intrinsic to these types of measurements. Third, variables such as tiredness, stress, muscular tension, anxiety, expectancy, fear of pain, discomfort due to sitting still or even the pressure of the various sensors placed on the scalp can change mental status, which can activate unexpected areas of the brain. However, we cannot measure the impact of these potential confounding variables in the analysis end. Fourth, we used a thermal stimuli cold test based on two different temperatures that permitted us to test dose-response effect to evaluate the cortical activation. Fifth, this is a physiology-based study involving cortical pain processing and, as the difference between the genders in pain processing is known, we were justified in including only female subjects although we acknowledge that this restricts external validity. However, it permitted us to reduce the potential confounding effect of gender on our measurements. This is plausible since women are more susceptible to negative emotional responses such as fear of pain, stress, and anxiety (Seo et al. 2017). Finally, further research is needed to assess the cortical brain activation in chronic pain under different experimental paradigms, such as behavioral tests, to determine cognitive and emotional response, motor tasks and changes related to effects of different therapeutic approaches (e.g., tDCS, TMS, etc.).

In conclusion, these results indicate faster and attenuated BOLD signal at M1 region for FM patients independently of the thermal stimuli applied, as well as a possible positive association of latency and levels of HbO concentration at PFC after colder/nociceptive stimulus with the disability due to pain and also with the score in the central sensitization inventory. Overall, the results can provide assistance in further investigations for comprehending the cortical function on the pain pathophysiology as well as changes in the brain cortical function related to therapeutic approaches.

Acknowledgment

This study was supported by the following Brazilian agencies: Committee for the Development of Higher Education Personnel. Postgraduate Research Group at the

Hospital de Clínicas de Porto Alegre – FIPE HCPA (material support). Number: 0000921
Brazilian Innovation Agency (FINEP) process number – 1245/13 (Dr. I.L.S. Torres, Dr.
W. Caumo). Research grant: National Council for Scientific and Technological
Development-CNPq (Torres, I.L.S. 302345/2011-6 and Caumo, W. WC-301256/2013-6)

Declaration of conflict of interests

The authors declare that there are no financial or other relationships that might lead to conflict of interests.

REFERENCES

- Barati, Zeinab, Issa Zakeri, and Kambiz Pourrezaei. 2017. “Functional Near-Infrared Spectroscopy Study on Tonic Pain Activation by Cold Pressor Test.” *Neurophotronics*. <https://doi.org/10.1117/1.NPh.4.1.015004>.
- Botelho, Leonardo M., Leon Morales-Quezada, Joanna R. Rozisky, Aline P. Brietzke, Iraci L. S. Torres, Alicia Deitos, Felipe Fregni, and Wolnei Caumo. 2016. “A Framework for Understanding the Relationship between Descending Pain Modulation, Motor Corticospinal, and Neuroplasticity Regulation Systems in Chronic Myofascial Pain.” *Frontiers in Human Neuroscience*. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2016.00308>.
- Castel, Antoni, Ramon Fontova, Salvador Montull, Rocío Perriñán, María José Poveda, Iris Miralles, Rosalia Cascón-Pereira, et al. 2013. “Efficacy of a Multidisciplinary Fibromyalgia Treatment Adapted for Women with Low Educational Levels: A Randomized Controlled Trial.” *Arthritis Care & Research* 65 (3): 421–31. <https://doi.org/10.1002/acr.21818>.
- Castillo Saavedra, Laura, Mariana Mendonca, and Felipe Fregni. 2014. “Role of the Primary Motor Cortex in the Maintenance and Treatment of Pain in Fibromyalgia.” *Medical Hypotheses*. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2014.06.007>.
- Caumo, Wolnei, Alícia Deitos, Sandra Carvalho, Jorge Leite, Fabiana Carvalho, Jairo

- Alberto Dussán-Sarria, Maria da Graça Lopes Tarragó, Andressa Souza, Iraci Lucena da Silva Torres, and Felipe Fregni. 2016. “Motor Cortex Excitability and BDNF Levels in Chronic Musculoskeletal Pain According to Structural Pathology.” *Frontiers in Human Neuroscience* 10 (July): 357. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2016.00357>.
- Deitos, Alícia, Matheus Dorigatti Soldatelli, Jairo Alberto Dussán-Sarria, Andressa Souza, Iraci Lucena da Silva Torres, Felipe Fregni, and Wolnei Caumo. 2018. “Novel Insights of Effects of Pregabalin on Neural Mechanisms of Intracortical Disinhibition in Physiopathology of Fibromyalgia: An Explanatory, Randomized, Double-Blind Crossover Study.” *Frontiers in Human Neuroscience* 12: 406. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2018.00406>.
- Demirbag, Birsal Canan, and Aliye Bulut. 2018. “Demographic Characteristics, Clinical Findings and Functional Status in Patients with Fibromyalgia Syndrome.” *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association* 68 (7): 1043–47. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30317299>.
- Firbank, M, C E Elwell, C E Cooper, and D T Delpy. 1998. “Experimental and Theoretical Comparison of NIR Spectroscopy Measurements of Cerebral Hemoglobin Changes.” *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)* 85 (5): 1915–21. <https://doi.org/10.1152/jappl.1998.85.5.1915>.
- Gentile, Eleonora, Katia Ricci, Marianna Delussi, Filippo Brighina, and Marina de Tommaso. 2019. “Motor Cortex Function in Fibromyalgia: A Study by Functional Near-Infrared Spectroscopy.” *Pain Research and Treatment* 2019 (January): 1–7. <https://doi.org/10.1155/2019/2623161>.
- Goossens, M E, M P Rutten-van Mólken, R M Leidl, S G Bos, J W Vlaeyen, and N J Teeken-Gruben. 1996. “Cognitive-Educational Treatment of Fibromyalgia: A Randomized Clinical Trial. II. Economic Evaluation.” *The Journal of Rheumatology* 23 (7): 1246–54. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8823700>.
- Groh, Alexander, Patrik Krieger, Rebecca A. Mease, and Luke Henderson. 2018. “Acute and Chronic Pain Processing in the Thalamocortical System of Humans and Animal Models.” *Neuroscience* 387 (September): 58–71. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.09.042>.
- Hoshi, Y, N Kobayashi, and M Tamura. 2001. “Interpretation of Near-Infrared

- Spectroscopy Signals: A Study with a Newly Developed Perfused Rat Brain Model.” *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*.
<https://doi.org/10.1152/jappl.2001.90.5.1657>.
- Hou, Wen-Hsuan, Tzu-Ya Wang, and Jiunn-Horng Kang. 2016. “The Effects of Add-on Non-Invasive Brain Stimulation in Fibromyalgia: A Meta-Analysis and Meta-Regression of Randomized Controlled Trials.” *Rheumatology (Oxford, England)* 55 (8): 1507–17. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kew205>.
- Hu, X., A.J. Racek, E. Bellile, T.D. Nascimento, M.C. Bender, R.L. Toback, D. Burnett, et al. 2018. “Brain Functional Changes before, during, and after Clinical Pain.” *Journal of Dental Research* 97 (5): 523–29.
<https://doi.org/10.1177/0022034517750136>.
- Lefaucheur, Jean-Pascal, Andrea Antal, Samar S. Ayache, David H. Benninger, Jérôme Brunelin, Filippo Cogiamanian, Maria Cotelli, et al. 2017. “Evidence-Based Guidelines on the Therapeutic Use of Transcranial Direct Current Stimulation (TDCS).” *Clinical Neurophysiology* 128 (1): 56–92.
<https://doi.org/10.1016/j.clinph.2016.10.087>.
- Mills, Emily P., Flavia Di Pietro, Zeynab Alshelh, Chris C. Peck, Greg M. Murray, E. Russell Vickers, and Luke A. Henderson. 2018. “Brainstem Pain-Control Circuitry Connectivity in Chronic Neuropathic Pain.” *The Journal of Neuroscience* 38 (2): 465–73. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1647-17.2017>.
- Napadow, Vitaly, Lauren LaCount, Kyungmo Park, Sawsan As-Sanie, Daniel J. Clauw, and Richard E. Harris. 2010. “Intrinsic Brain Connectivity in Fibromyalgia Is Associated with Chronic Pain Intensity.” *Arthritis & Rheumatism* 62 (8): 2545–55.
<https://doi.org/10.1002/art.27497>.
- Ong, Wei-Yi, Christian S. Stohler, and Deron R. Herr. 2019. “Role of the Prefrontal Cortex in Pain Processing.” *Molecular Neurobiology* 56 (2): 1137–66.
<https://doi.org/10.1007/s12035-018-1130-9>.
- Peng, Ke, Meryem A. Yücel, Sarah C. Steele, Edward A. Bittner, Christopher M. Aasted, Mark A. Hoeft, Arielle Lee, et al. 2018. “Morphine Attenuates fNIRS Signal Associated With Painful Stimuli in the Medial Frontopolar Cortex (Medial BA 10).” *Frontiers in Human Neuroscience* 12 (October): 394.
<https://doi.org/10.3389/fnhum.2018.00394>.

- Peters, R. 2006. "Ageing and the Brain." *Postgraduate Medical Journal* 82 (964): 84–88. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2005.036665>.
- Seo, Dongju, Aneesha Ahluwalia, Marc N. Potenza, and Rajita Sinha. 2017. "Gender Differences in Neural Correlates of Stress-Induced Anxiety." *Journal of Neuroscience Research* 95 (1–2): 115–25. <https://doi.org/10.1002/jnr.23926>.
- Strangman, Gary, Joseph P. Culver, John H. Thompson, and David A. Boas. 2002. "A Quantitative Comparison of Simultaneous BOLD fMRI and NIRS Recordings during Functional Brain Activation." *NeuroImage*. [https://doi.org/10.1016/S1053-8119\(02\)91227-9](https://doi.org/10.1016/S1053-8119(02)91227-9).
- Tiago Madeira Cardinal M.D.†, Luciana C. Antunes, PhD‡#, Aline Patrícia Brietzke PhD†, Cristiane Schultz Parizotti†, Fabiana Carvalho PhD†, Andressa Souza PhDπ, Iraci Lucena da Silva Torres PhD†¥, Felipe Fregn M.D. PhD, Wolnei Caumo M.D. PhD*. Differential neuroplastic changes in fibromyalgia and depression indexed by up-regulation of motor cortex inhibition and disinhibition of the descending pain system: an exploratory study. *Frontiers Neuroscience*, 2019 – in press
- Tracey, Irene, Lino Becerra, Iwen Chang, Hans Breiter, Liane Jenkins, David Borsook, and R. Gilberto González. 2000. "Noxious Hot and Cold Stimulation Produce Common Patterns of Brain Activation in Humans: A Functional Magnetic Resonance Imaging Study." *Neuroscience Letters*. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(00\)01224-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(00)01224-6).
- Üçeyler, Nurcan, Julia Zeller, Susanne Kewenig, Sarah Kittel-Schneider, Andreas J. Fallgatter, and Claudia Sommer. 2015. "Increased Cortical Activation upon Painful Stimulation in Fibromyalgia Syndrome." *BMC Neurology*. <https://doi.org/10.1186/s12883-015-0472-4>.
- Wolf, Stewart, and James D. Hardy. 2008. "STUDIES ON PAIN. OBSERVATIONS ON PAIN DUE TO LOCAL COOLING AND ON FACTORS INVOLVED IN THE 'COLD PRESSOR' EFFECT." *Journal of Clinical Investigation*. <https://doi.org/10.1172/jci101245>.
- Yennu, Amarnath, Fenghua Tian, Robert J. Gatchel, and Hanli Liu. 2016. "Prefrontal Hemodynamic Mapping by Functional Near-Infrared Spectroscopy in Response to

Thermal Stimulations over Three Body Sites.” *Neurophotonics*.

<https://doi.org/10.1117/1.nph.3.4.045008>.

Yücel, Meryem A., Christopher M. Aasted, Mihayl P. Petkov, David Borsook, David A. Boas, and Lino Becerra. 2015. “Specificity of Hemodynamic Brain Responses to Painful Stimuli: A Functional near-Infrared Spectroscopy Study.” *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/srep09469>.

Zhu, C, B Yu, W Zhang, W Chen, Q Qi, and Y Miao. 2017. “Effectiveness and Safety of Transcranial Direct Current Stimulation in Fibromyalgia: A Systematic Review and Meta-Analysis.” *Journal of Rehabilitation Medicine* 49 (1): 2–9.
<https://doi.org/10.2340/16501977-2179>.

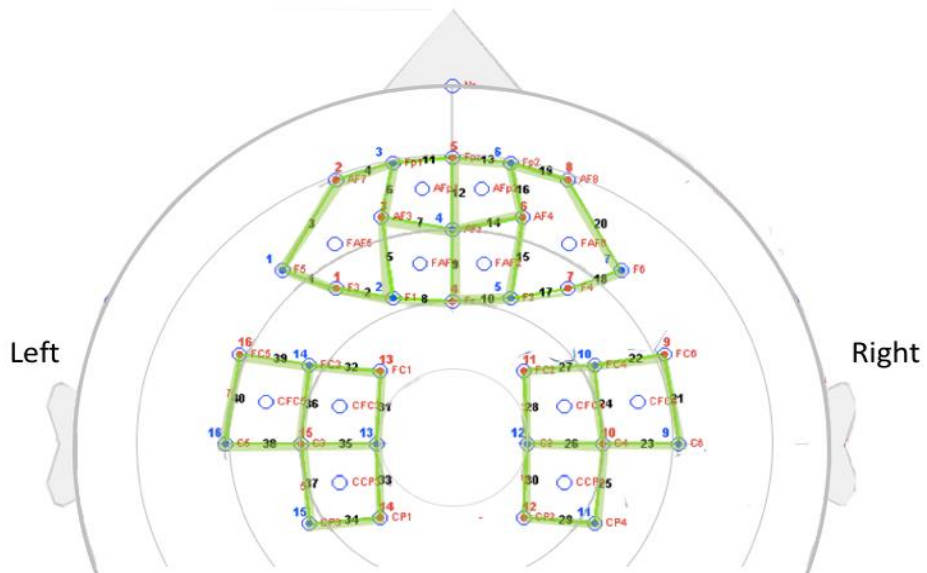


Figure 1. LEFT PREFRONTAL CORTEX = Channel 1-9 plus 11 and 12. RIGHT PREFRONTAL CORTEX– Channel 12 – 20 plus Channel 9 and 10. RIGHT MOTOR CORTEX – Channel 21-30. LEFT MOTOR CORTEX – Channel 31-40.

	From	10-10 System		To	Side		From	10-10 system		To	Side
C1	Middle Frontal G	F3	F5	Middle Frontal G	E	C21	Precentral G	FC6	C6	Postcentral G	D
C2	Middle Frontal G	F3	F1	Superior Frontal G	E	C22	Precentral G	FC6	FC4	Middle Frontal G	D
C3	Middle Frontal G	AF3	F5	Middle Frontal G	E	C23	Postcentral G	C4	C6	Postcentral G	D
C4	Middle Frontal G	AF7	Fp1	Superior Frontal G	E	C24	Postcentral G	C4	FC4	Middle Frontal G	D
C5	Superior Frontal G	AF3	F1	Superior Frontal G	E	C25	Postcentral G	C4	CP4	Inferior Parietal G	D
C6	Superior Frontal G	AF3	Fp1	Superior Frontal G	E	C26	Postcentral G	C4	C2	Precentral G	
C7	Superior Frontal G	AF3	AFz	Bilateral Medial	E	C27	Superior Frontal G	FC2	FC4	Middle Frontal G	D
C8	Bilateral Medial	Fz	F1	Superior Frontal G	E	C28	Postcentral G	FC2	C2	Precentral G	
C9	Bilateral Medial	Fz	AFz	Bilateral Medial	C	C29	Postcentral G	CP2	C6	Inferior Parietal G	D
C10	Bilateral Medial	Fz	F2	Superior Frontal G	D	C30	Postcentral G	CP2	C2	Precentral G	
C11	Bilateral Medial	Fpz	Fp1	Superior Frontal G	E	C31	Superior Frontal G	FC1	C1	Precentral G	
C12	Bilateral Medial	Fpz	AFz	Bilateral Medial	C	C32	Superior Frontal G	FC1	FC3	Middle Frontal G	E
C13	Bilateral Medial	Fpz	FP2	Superior Frontal G	D	C33	Postcentral G	CP1	C1	Precentral G	
C14	Superior Frontal G	AF4	AFz	Bilateral Medial	D	C34	Postcentral G	CP1	CP3	Inferior Parietal G	E
C15	Superior Frontal G	AF4	F2	Superior Frontal G	D	C35	Postcentral G	C3	C1	Precentral G	
C16	Superior Frontal G	AF4	Fp2	Superior Frontal G	D	C36	Postcentral G	C3	FC3	Middle Frontal G	E
C17	Middle Frontal G	F4	F2	Superior Frontal G	D	C37	Postcentral G	C3	CP3	Inferior Parietal G	E
C18	Middle Frontal G	F4	F6	Middle Frontal G	D	C38	Postcentral G	C3	C5	Postcentral G	E
C19	Middle Frontal G	AF8	Fp2	Superior Frontal G	D	C39	Precentral G	FC5	FC3	Middle Frontal G	E
C20	Middle Frontal G	AF8	F6	Middle Frontal G	D	C40	Precentral G	FC5	C5	Postcentral G	E

Figure 2. Relation of fNIRS channels 1-20 and EEG 10-10 System

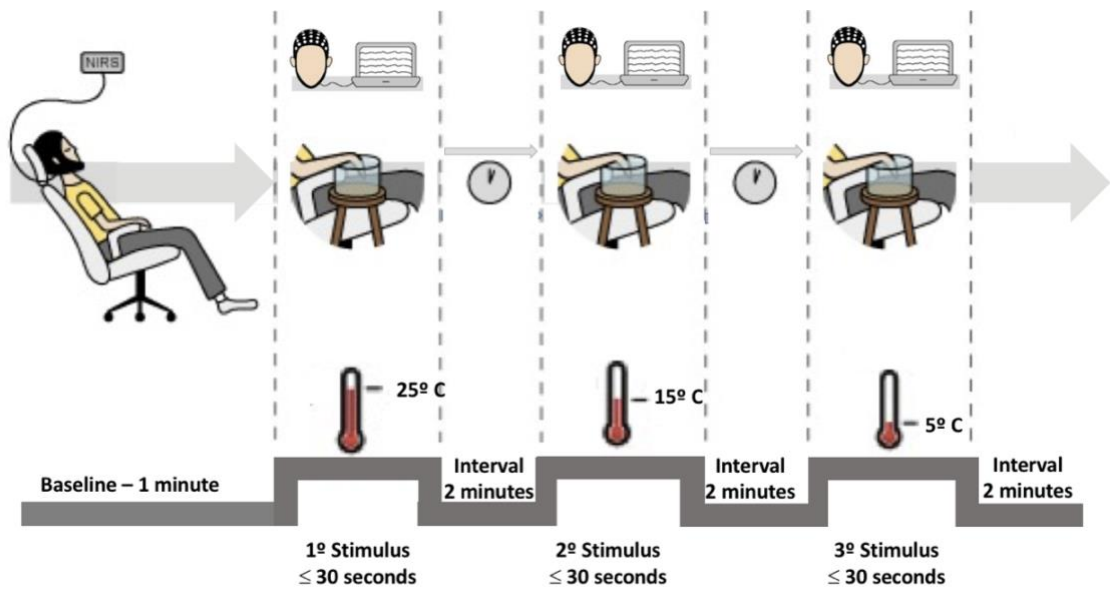


Figure 3. Testing flow. Timeline of each assessment pre and post three thermal stimulus with temperature at 25°C; 15°C and 5°C. The cold test was induced by the immersion of the right hand in water for 30 seconds or until feeling the first pain sensation, with the temperature of 25°C; 15°C and 5°C and a break of 2 minutes between each trial. The temperature was controlled through digital thermometer and sustained in the right range with ice blocks or hot water. The total time of each intervention was 8 minutes and 30 seconds or less, depending on the stimuli duration.

Table 1 - Demographic characteristics. Data are presented as mean and standard deviation (SD) or frequency (n=41).

	FM (n= 22)		Controls (n=19)		P-value ^a
	Mean	SD	Mean	SD	
Age (years)	47.1	9.5	34.7	1.5	0.001
Years of Study	13.5	2.7	17.3	3.3	0.000
Body Mass Index	27.9	4.1	23.1	3.4	<0.001
Beck Depression Inventory (BDI-II)	28.5	12.1	7.5	9.4	<0.001
Brazilian Profile of Chronic Pain Screen (B:PCP:S)	39.3	8.4	7.4	12.6	<0.001
Brazilian Portuguese Central Sensitization Inventory (BP-CSI)	71.2	13.7	21.4	11.2	<0.001
State-Trait Anxiety Inventory (STAI): State	30.0	7.3	22.3	6.5	0.001
State-Trait Anxiety Inventory (STAI): Trait	27.8	3.4	18.1	4.5	<0.001
Baseline – Mean HbO (MMol) Left PFC	0.04	0.09	0.02	0.07	0.410
Right PFC	0.07	0.12	0.021	0.10	0.111
Left M1	0.01	0.12	-0.04	0.10	0.259
Right M1	0.03	0.12	-0.03	0.07	0.038
Psychiatric medication (yes/no)	18/4		0/19		<0.001 ^b
Benzodiazepines	4/18		0/19		0.111 ^b
Antidepressants	12/10		0/19		0.000 ^b
Anticonvulsants	10/12		0/19		<0.001 ^b
Analgesics (yes/no)	20/2		1/18		<0.000 ^b

Notes. a = Mann-Whitney Tests; b = Fisher's Exact Test

Table 2 - Generalize Linear Model of the bi-hemispheric cortical activation on M1 and PFC - ΔHbO^* (post stimulus ending minus pre) recorded on PFC and M1 in FM group. Data are presented as mean (standard deviation) of ΔHbO (n=41).

	FM (n=22)		HC (n=19)		Group effect		Group* Temperature interaction		Temperature effect	
	25°C	5°C	25°C	5°C	Wald χ^2	p	Wald χ^2	p	Wald χ^2	p
Peak latency										
<i>PFC left</i>	4.94±0.68	6.33±0.68	7.25±0.73	6.7±0.73	3.613	0.057	0.350	0.554	1.875	0.171
<i>PFC right</i>	5.73±0.66	5.73±0.66	7.08±0.71	6.06±0.71	1.466	0.226	0.53	0.466	0.545	0.461
<i>M1 left</i>	5.6±0.65	6.48±0.65	8.09±0.71	8±0.71	8.530	0.003	0.329	0.566	0.492	0.483
<i>M1 right</i>	5.35±0.73	5.4±0.71	6.98±0.76	5.53±0.76	1.389	0.239	0.880	0.348	1.002	0.317
ΔHbO										
<i>PFC left</i>	0.34±0.07	0.4±0.07	0.38±0.07	0.48±0.07	0.764	0.382	1.270	0.260	0.045	0.832
<i>PFC right</i>	0.34±0.06	0.43±0.06	0.31±0.06	0.44±0.06	0.052	0.820	2.822	0.093	0.070	0.791
<i>M1 left</i>	0.38±0.08	0.57±0.08	0.44±0.09	0.71±0.09	1.351	0.245	7.071	0.008	0.277	0.599
<i>M1 right</i>	0.34±0.05	0.44±0.05	0.5±0.05	0.43±0.05	1.538	0.215	0.117	0.733	2.070	0.150
ΔHHb										
<i>PFC left</i>	0.09±0.02	0.11±0.02	0.12±0.02	0.15±0.02	1.669	0.196	0.714	0.398	0.010	0.920
<i>PFC right</i>	0.09±0.02	0.14±0.02	0.11±0.02	0.12±0.02	0.000	0.994	1.075	0.300	0.348	0.555
<i>M1 left</i>	0.07±0.02	0.12±0.02	0.14±0.02	0.20±0.02	8.548	0.003	4.271	0.039	0.063	0.802
<i>M1 right</i>	0.09±0.02	0.09±0.01	0.14±0.02	0.17±0.02	9.493	0.002	0.107	0.744	0.550	0.458
ΔHbO^*										
<i>PFC left</i>	0.22±0.07	0.34±0.07	0.29±0.08	0.52±0.08	2.607	0.106	4.804	0.028	0.498	0.480
<i>PFC right</i>	0.21±0.05	0.34±0.05	0.24±0.06	0.38±0.06	0.349	0.555	4.491	0.034	0.017	0.895
<i>M1 left</i>	0.16±0.06	0.36±0.06	0.27±0.07	0.53±0.07	4.008	0.045	10.880	0.001	0.184	0.668
<i>M1 right</i>	0.15±0.04	0.24±0.04	0.25±0.05	0.35±0.05	4.551	0.033	3.261	0.071	0.003	0.955

Note - PL = Peak latency; ΔHbO = Variations of HbO from pre to post-stimulation onset; ΔHHb ; = Variations of HHb from pre to post-stimulation onset; ΔHbO^* = Variations pre to post-stimulation end; FM = fibromyalgia; HC = healthy controls; PFC = pre-frontal cortex)

Table 3 - Correlation between BRCSI and B:PCP:S with ΔHbO^* (post stimulus ending minus pre) recorded on PFC and M1 in FM group (n=22)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. BPCSI	1.00								
2. B:PCP:S	0.48**	1.00							
3. ΔHbO Left PFC	0.63**	0.20	1.00						
4. ΔHbO Right PFC	0.25	0.08	0.83**	1.00					
5. ΔHbO Left M1	0.18	0.13	0.51*	0.68**	1.00				
6. ΔHbO Right M1	0.22	0.30	0.43*	0.52*	0.71**	1.00			
7. Δ Peak Latency Left PFC	0.39	0.28	0.24	0.16	0.18	-0.03	1.00		
8. Δ Peak Latency Right PFC	0.25	-0.08	0.54*	0.35	0.44	0.10	0.66**	1.00	
9. Δ Peak Latency Left M1	0.30	0.52*	-0.12	-0.28	-0.09	0.06	0.32	0.37	1.00
10. Δ Peak Latency Right M1	-0.10	0.27	-0.30	-0.29	-0.02	-0.22	0.49*	0.43	0.66**

Note - **. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Table 4 - Generalize Linear Model of the bi-hemispheric cortical activation on M1 and PFC – Δ HbO (post stimulus ending minus pre) and the time to reach the peak of HbO recorded on PFC and M1 in FM group considering the central sensitization symptoms (n=22)

(A) Main effects						
Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Δ Peak LatencyLeft PFC	57.47 ^a	1	57.47	6.35	0.02	0.31
Δ Peak LatencyRight PFC	21.65 ^c	1	21.65	1.68	0.21	0.10
Δ 'HbO Left PFC	0.51 ^d	1	0.51	4.81	0.04	0.25
Δ 'HbO Right PFC	0.08 ^e	1	0.08	0.47	0.50	0.03
Δ Peak LatencyLeft M1	20.74 ^f	1	20.74	2.84	0.11	0.16
Δ Peak LatencyRight M1	7.51 ^g	1	7.51	0.75	0.40	0.05
Δ 'HbO Left M1	0.07 ^h	1	0.07	0.26	0.61	0.01
Δ 'HbO Right M1	0.05 ⁱ	1	0.05	0.29	0.59	0.02
(B) Beta coefficients						
	B	SEM	t	P	CI 95%	
Dependent Variable: ΔPeak Latency Left PFC						
Intercept	-12.60	5.27	-2.39	0.03	(-23.91 to -1.29)	
Brazilian Portuguese Central Sensitization Inventory (BP-CSI)	0.17	0.07	2.52	0.02	0.02 to 0.32	
Dependent Variable: ΔPeak Latency Right PFC						
Intercept	-8.11	6.28	-1.29	0.21	-21.60 to 5.36	
Brazilian Portuguese Central Sensitization Inventory (BP-CSI)	0.10	0.08	1.29	0.21	-0.07 to 0.28	
Dependent Variable: Δ'HbO Left PFC						
Intercept	-1.07	0.57	-1.88	0.08	-2.31 to 0.15	
Brazilian Portuguese Central Sensitization Inventory (BP-CSI)	0.01	0.00	2.19	0.04	0.00 to 0.03	
Dependent Variable: Δ'HbO Right PFC						
Intercept	-0.30	0.74	-0.40	0.69	-1.90 to 1.30	
Brazilian Portuguese Central Sensitization Inventory (BP-CSI)	0.00	0.01	0.68	0.50	-0.01 to 0.02	
Dependent Variable: ΔPeak Latency Left M1						
Intercept	-6.78	4.73	-1.43	0.17	-16.93 to 3.36	
Brazilian Portuguese Central Sensitization Inventory (BP-CSI)	0.10	0.06	1.68	0.11	-0.02 to 0.24	
Dependent Variable: ΔPeak Latency Right M1						
Intercept	-5.06	5.53	-0.91	0.37	-16.93 to 6.79	
Brazilian Portuguese Central Sensitization Inventory (BP-CSI)	0.06	0.07	0.86	0.40	-0.09 to 0.22	
Dependent Variable: Δ'HbO Left M1						
Intercept	-0.28	0.94	-0.29	0.77	-2.31 to 1.74	
Brazilian Portuguese Central Sensitization Inventory (BP-CSI)	0.00	0.01	0.51	0.61	-0.02 to 0.03	
Dependent Variable: Δ'HbO Right M1						
Intercept	-0.27	0.72	-0.38	0.70	-1.83 to 1.28	
Brazilian Portuguese Central Sensitization Inventory (BP-CSI)	0.00	0.01	0.54	0.59	-0.01 to 0.02	

a. R squared = 0.31 (Adjusted R Squared = 0.26)

b. Computed using alpha = .05

c. R Squared = .107 (Adjusted R Squared = .044)

d. R Squared = .256 (Adjusted R Squared = .203) e. R Squared = .033 (Adjusted R Squared = -.037)

f. R Squared = .169 (Adjusted R Squared = .110) g. R Squared = .051 (Adjusted R Squared = -.017)

h. R Squared = .019 (Adjusted R Squared = -.051)

i. R Squared = .020 (Adjusted R Squared = -.050)

Table 5 - Generalize Linear Model of the bi-hemispheric cortical activation on M1 and PFC – Δ hbO (post stimulus ending minus pre) and the Peak Latency to reach the peak of HbO recorded on PFC and M1 in FM group considering the disability level (n=22)

(A) Main effects						
Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Δ Peak Latency Left PFC	30.71	1	3.71	2.8	0.11	0.16
Δ Peak Latency Right PFC	5.88	1	5.88	0.42	0.52	0.02
Δ 'HbO Left PFC	0.51	1	0.51	4.78	0.04	0.25
Δ 'HbO Right PFC	0.13	1	0.13	0.75	0.40	0.05
Δ Peak Latency Left M1	5.07	1	5.07	0.60	0.45	0.04
Δ Peak Latency Right M1	6.54	1	6.54	0.65	0.43	0.04
Δ 'HbO Left M1	0.15	1	0.15	0.53	0.47	0.03
Δ 'HbO Right M1	0.03	1	0.03	0.18	0.67	0.01

(B) Beta coefficients						
Parameter	B	SEM	t	P	CI 95%	
<i>Dependent Variable: Δ Peak Left PFC</i>						
Intercept	-6.93	4.54	-1.525	0.14	-16.67 to 2.18	
Brazilian Portuguese Profile of Chronic Pain: Screen	0.10	0.06	1.674	0.11	-0.02 to 0.22	
<i>Dependent Variable: Δ Peak Right PFC</i>						
Intercept	-3.31	5.13	-0.645	0.52	-14.32 to 7.69	
Brazilian Portuguese Profile of Chronic Pain: Screen	0.04	0.06	0.649	0.52	-0.10 to 0.18	
<i>Dependent Variable: Δ'HbO Left PFC</i>						
Intercept	-0.79	0.45	-1.778	0.09	-1.76 to 0.16	
Brazilian Portuguese Profile of Chronic Pain: Screen	0.01	0.01	2.186	0.04	0.00 to 0.02	
<i>Dependent Variable: Δ'HO Right PFC</i>						
Intercept	-0.28	0.57	-0.499	0.62	-1.53 to 0.95	
Brazilian Portuguese Profile of Chronic Pain: Screen	0.00	0.01	0.868	0.40	-0.01 to 0.02	
<i>Dependent Variable: Δ Peak Latency Left M1</i>						
Intercept	-1.91	3.98	-0.481	0.63	-10.45 to 6.62	
Brazilian Portuguese Profile of Chronic Pain: Screen	0.04	0.05	0.777	0.45	-0.07 to 0.15	
<i>Dependent Variable: Δ Peak Latency Right M1</i>						
Intercept	-3.76	4.34	-0.866	0.40	-13.08 to 5.55	
Brazilian Portuguese Profile of Chronic Pain: Screen	0.04	0.05	0.808	0.43	-0.07 to 0.16	
<i>Dependent Variable: Δ'HbO Left M1</i>						
Intercept	-0.32	0.73	-0.442	0.66	-1.89 to 1.25	
Brazilian Portuguese Profile of Chronic Pain: Screen	0.00	0.01	0.730	0.47	-0.01 to 0.02	
<i>Dependent Variable: Δ'HbO Right M1</i>						
Intercept	-0.13	0.57	-0.233	0.81	-1.35 to 1.09	
Brazilian Portuguese Profile of Chronic Pain: Screen	0.00	0.01	0.433	0.67	-0.01 to 0.01	

a. R Squared = 0.16 (Adjusted R Squared = 0.107).

c. R Squared = .029 (Adjusted R Squared = -0.04)

e. R Squared = .051 (Adjusted R Squared = -0.01)

g. R Squared = .045 (Adjusted R Squared = -0.02)

i. R Squared = .013 (Adjusted R Squared = -0.05)

b. Computed using alpha = 0.05

d. R Squared = .255 (Adjusted R Squared = 0.20)

f. R Squared = .041 (Adjusted R Squared = -0.02)

h. R Squared = .037 (Adjusted R Squared = -0.03)

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Técnicas de neuroimagem funcionais incluindo o fNIRS têm sido utilizadas no estudo de mecanismos fisiológicos da transmissão do estímulo algico, bem como na compreensão da fisiopatologia que embasa estados de dor crônica. A possibilidade de identificar um padrão que seja característico da resposta cortical de fibromiálgicas frente a um estímulo padronizado e a correlação desse padrão com achados clínicos que evidenciem a intensidade do comprometimento funcional e sensibilização central fornece insights sobre o uso do fNIRS de forma objetiva em uma eventual quantificação do comprometimento cortical, bem como do seguimento da resposta terapêutica decorrente do uso de técnicas de neuromodulação ou farmacológicas.

Nossos achados evidenciam a importância tanto do córtex motor quanto do córtex pré-frontal no processamento do estímulo algico e sugerem a presença de um padrão que esteja relacionado a sintomas mais intensos de fibromialgia, principalmente na região pré-frontal – onde a magnitude da resposta ao estímulo está correlacionada a intensidade de comprometimento clínico e manifestações da sensibilização central.

Pesquisas que confirmem esses achados através de protocolos objetivos e efetivos para a análise de resposta cortical e, posteriormente, o façam o seguimento de mudanças na função cortical como resultado de métodos terapêuticos – farmacológicos ou neuromodulatórios - poderão fornecer substrato para mensurar a gravidade do comprometimento central nesses pacientes portadores de dor crônica.

3. ANEXOS E/OU APÊNDICES

9 .1 STROBE Statement

Checklist of items that should be included in reports of *cross-sectional studies*

	Item No	Recommendation
Title and abstract	1	
	PG 46	(a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract
		(b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found
Introduction		
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported
	PG 17	
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses
	PG 38	
Methods		
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper
	PG 50	
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection
	PG 50	
Participants	6	(a) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants
	PG 51	
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable
	PG 52	
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
	PG 51	
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias
	PG 52	

Study size	10	PG 52	Explain how the study size was arrived at
Quantitative variables	11	PG 53	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why
Statistical methods	12	PG 53	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding
	-	-	(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions
	PG 53	-	(c) Explain how missing data were addressed
	PG 53	-	(d) If applicable, describe analytical methods taking account of sampling strategy
	-	-	(e) Describe any sensitivity analyses
Results			
Participants	13*	PG 53	(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
	PG 53	-	(b) Give reasons for non-participation at each stage
	-	-	(c) Consider use of a flow diagram
Descriptive data	14*	PG 54	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders
	-	-	(b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest
Outcome data	15*	PG 54	Report numbers of outcome events or summary measures
Main results	16	PG 54, 55	(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

		(b) Report category boundaries when continuous variables were categorized
		(c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period
Other analyses	17 PG 54	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses
Discussion		
Key results	18 PG 56	Summarise key results with reference to study objectives
Limitations	19 PG 58	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias
Interpretation	20 PG 58	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence
Generalisability	21 PG 58	Discuss the generalisability (external validity) of the study results
Other information		
Funding	22 PG 59	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

9.2 CURVAS DE MÉDIAS DE HbO e HHb POR CANAL

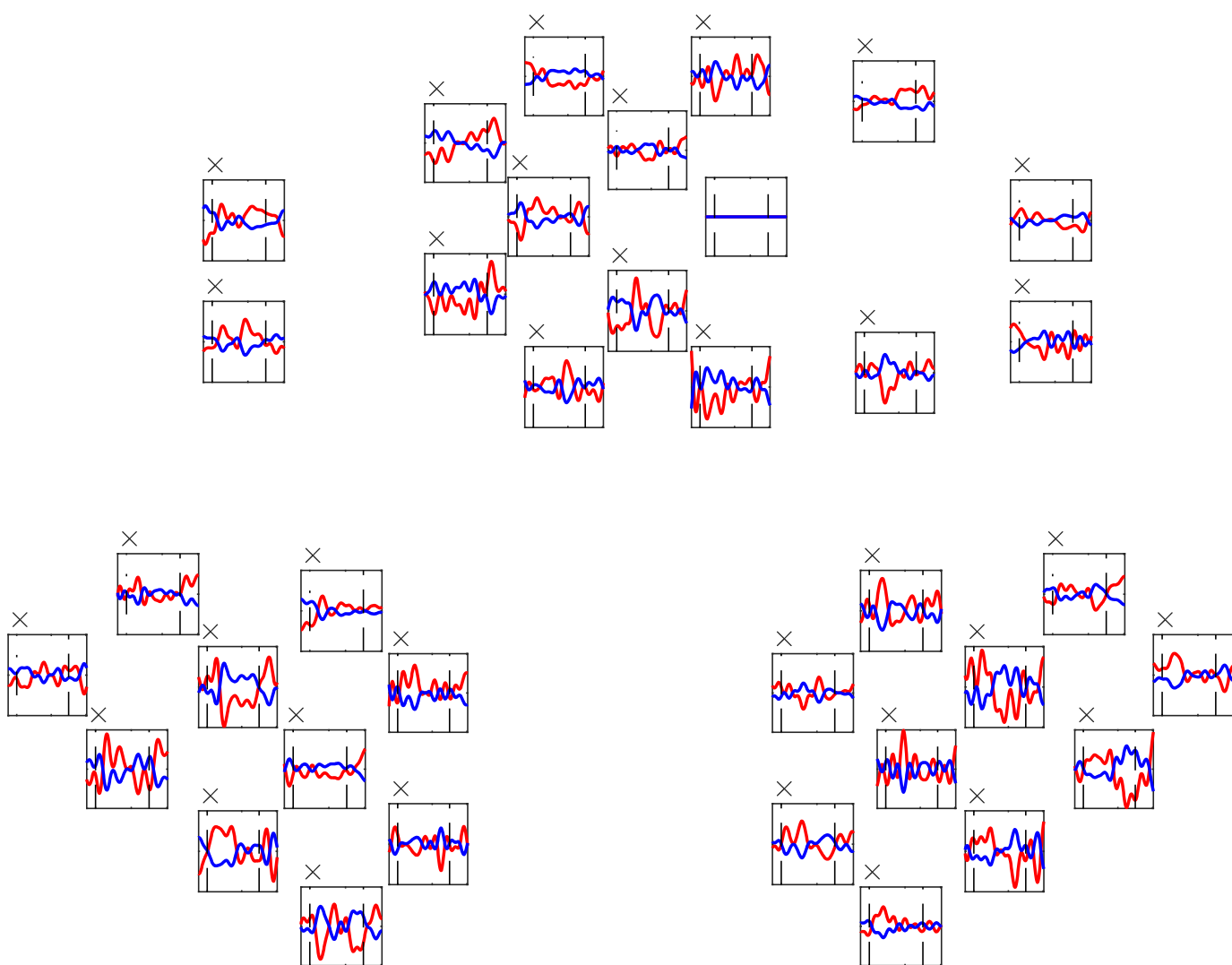


Figura 9 - Ativação média Controles 25 graus Celsius

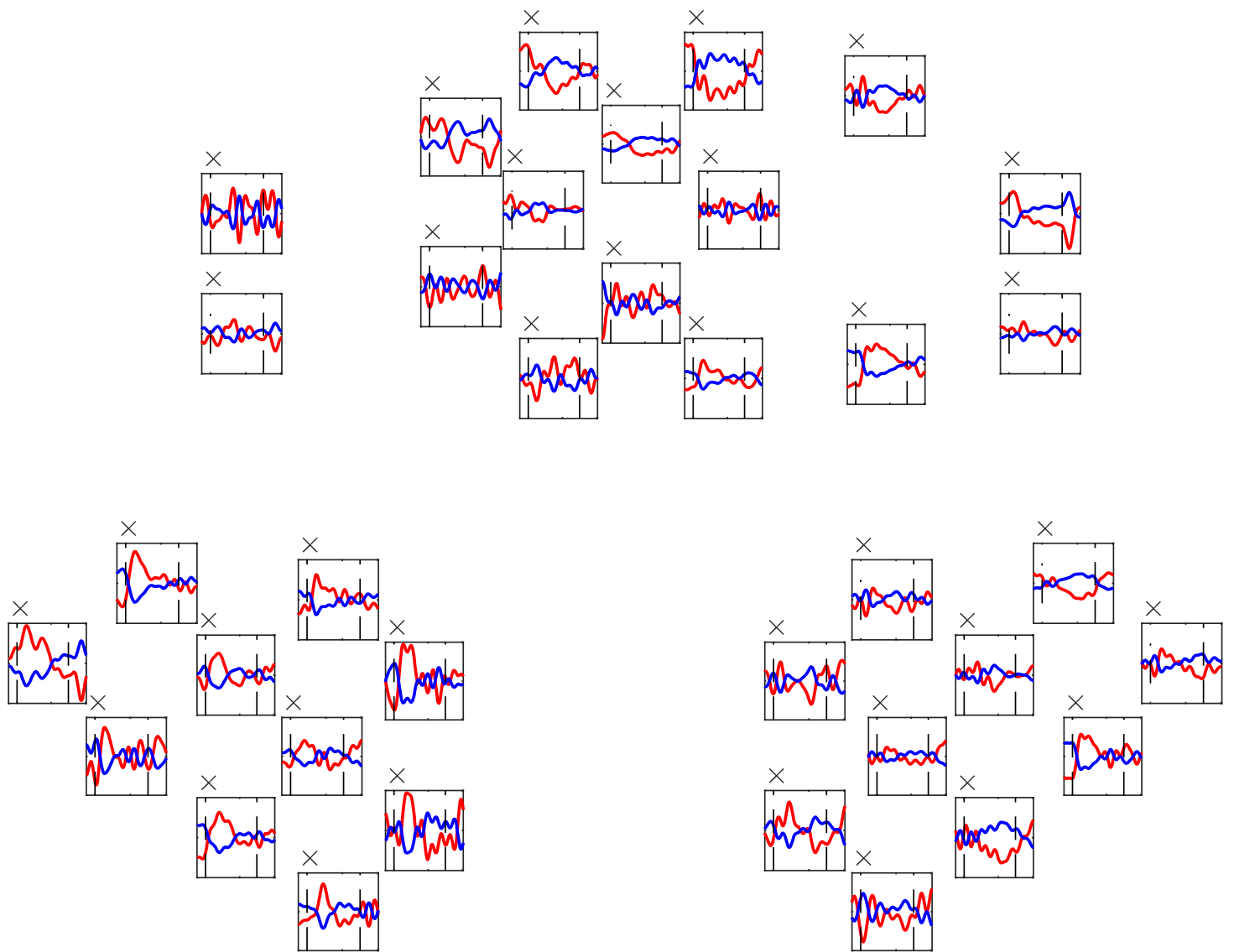


Figura 10 Ativação média FM 25 graus Celsius

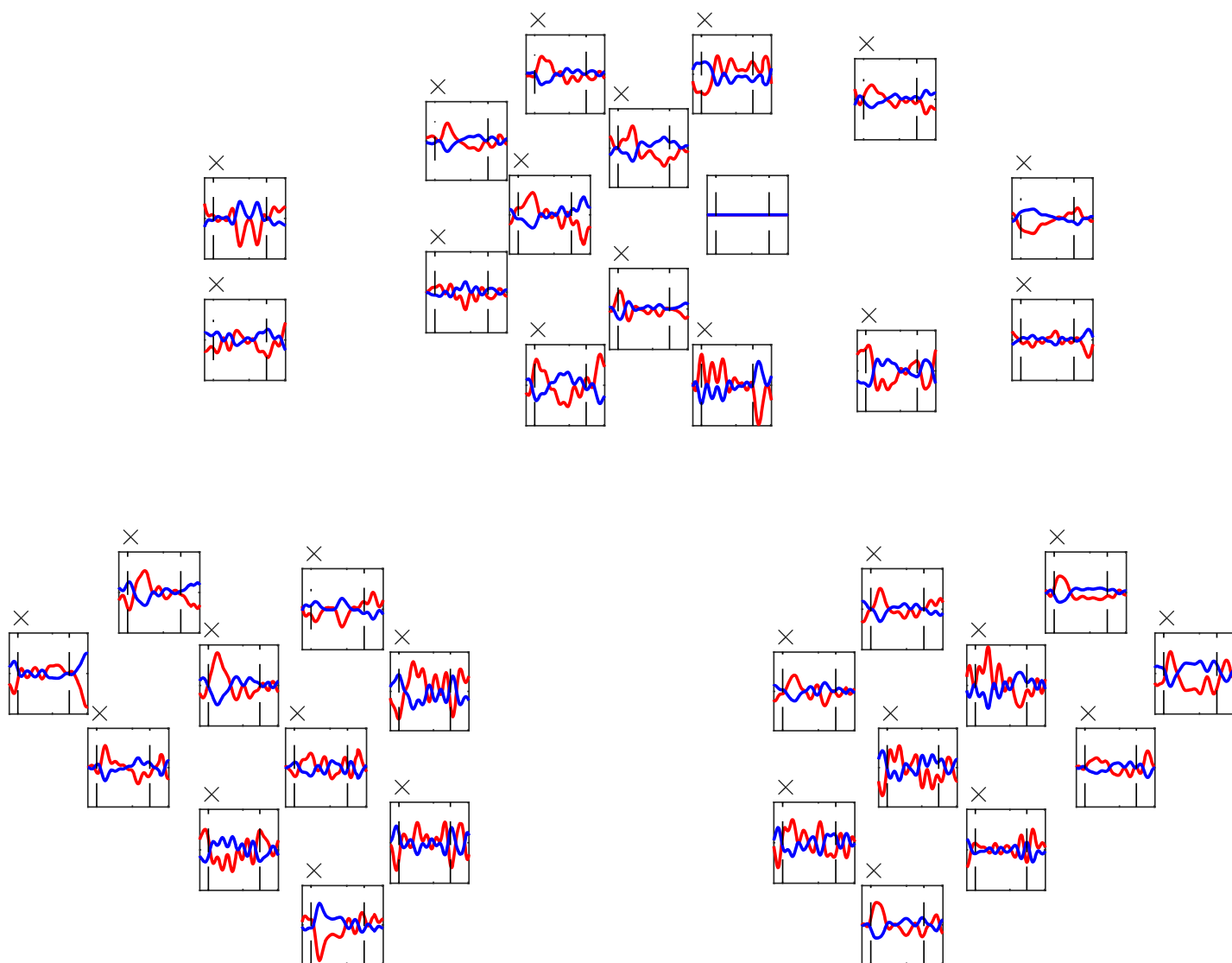


Figura 11 Ativação média Controles 15 graus Celsius

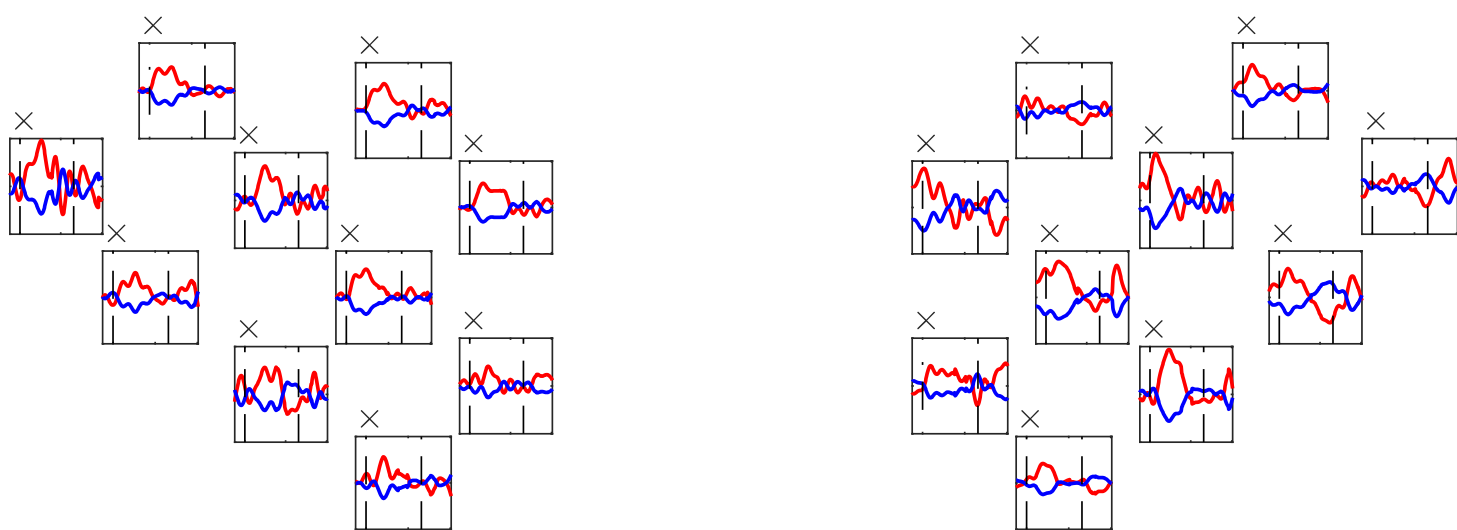
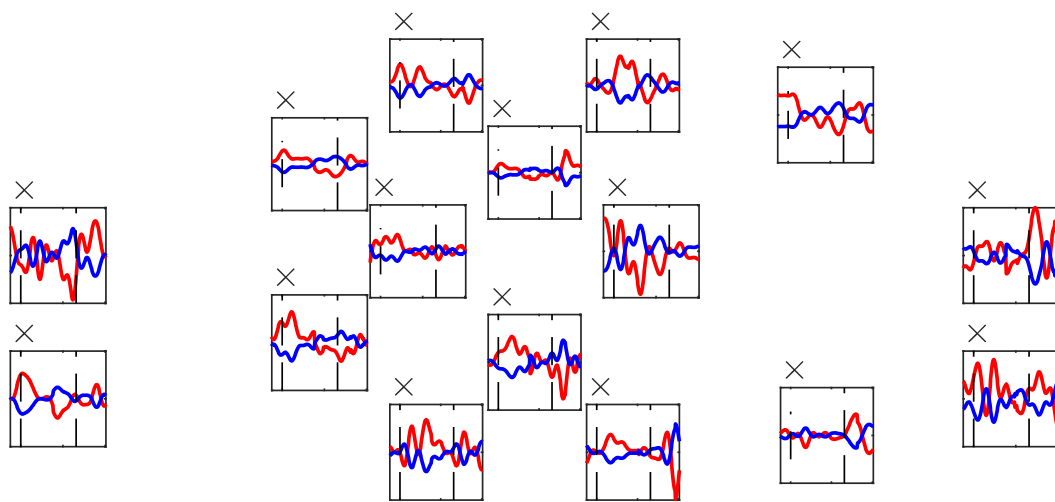


Figura 12 Ativação média FM 15 graus Celsius

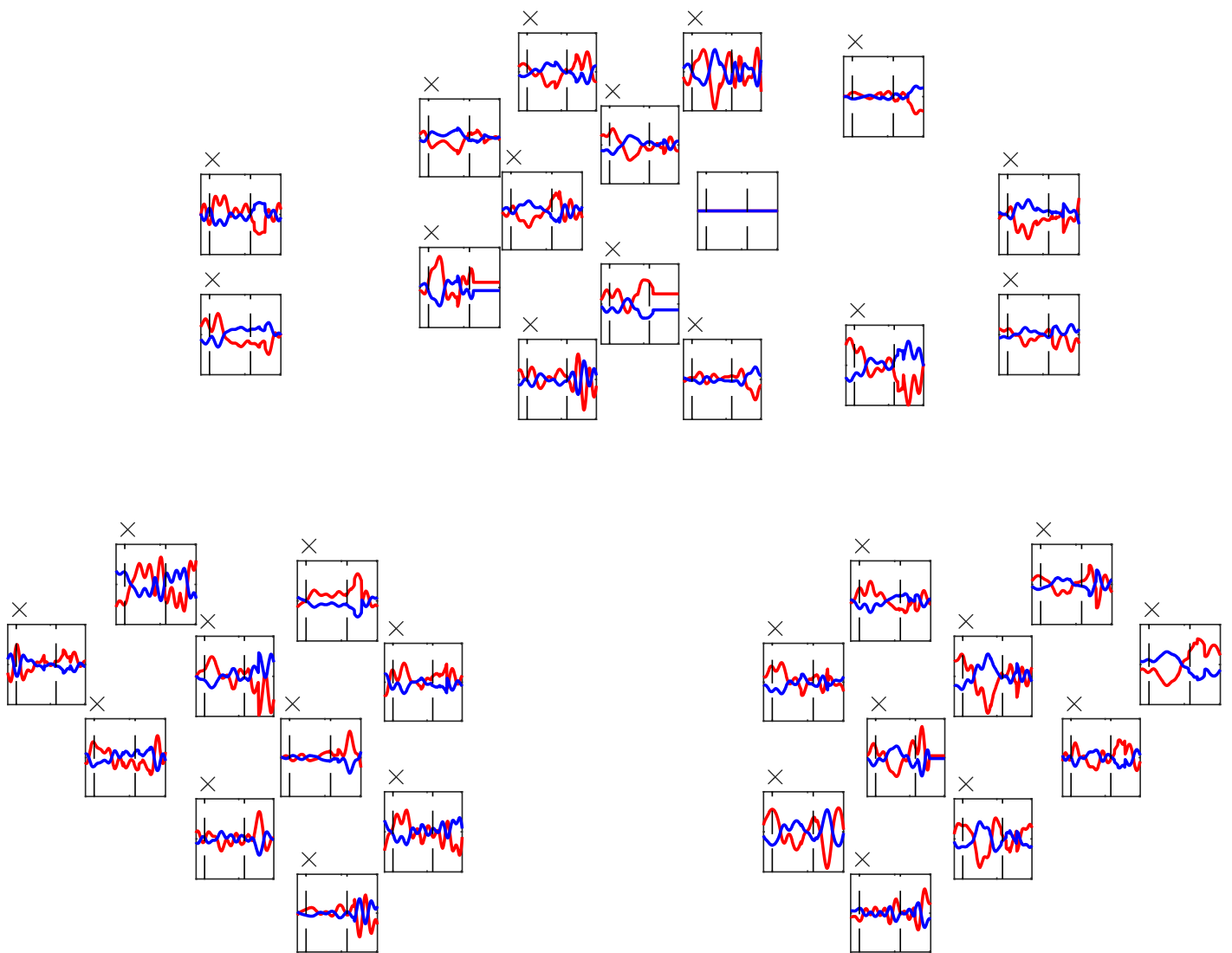


Figura 13 Ativação média Controles 5 graus Celsius

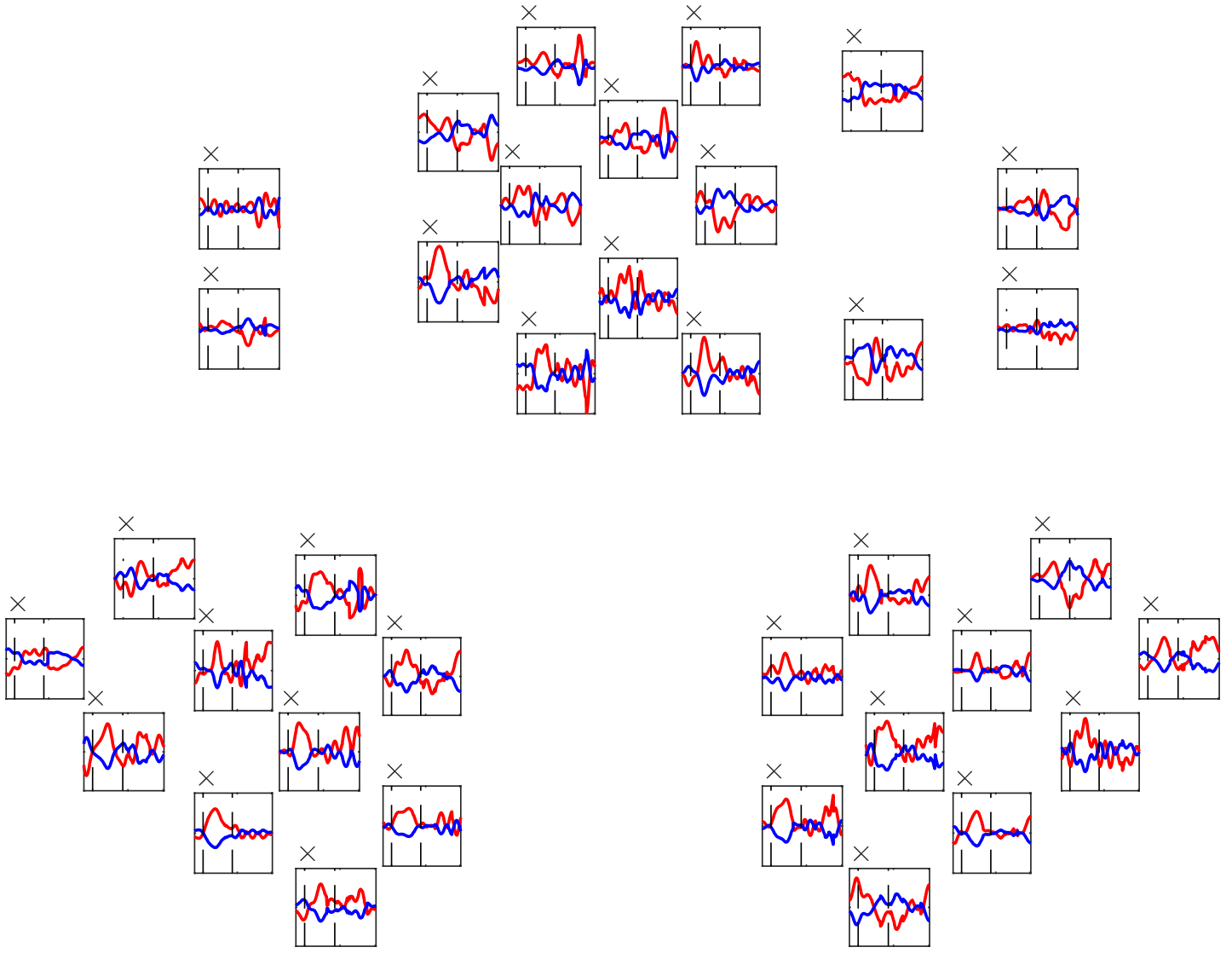


Figura 14 Ativação média FM 5 graus Celsius

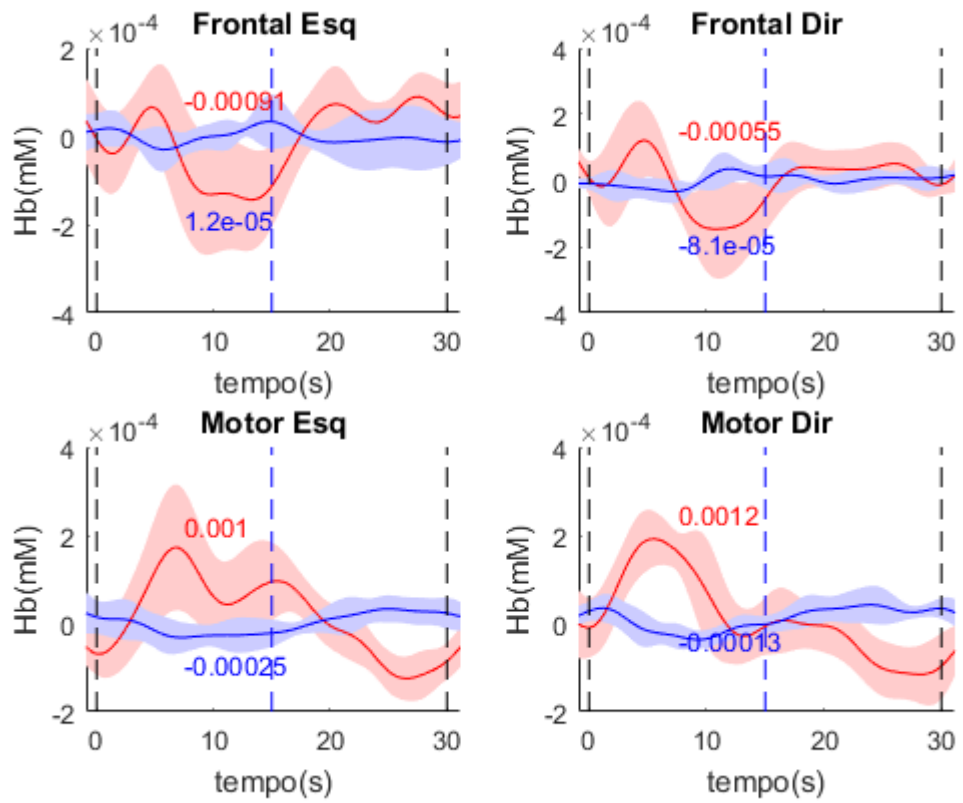


Figura 15 Curva média dos Controles 25 graus

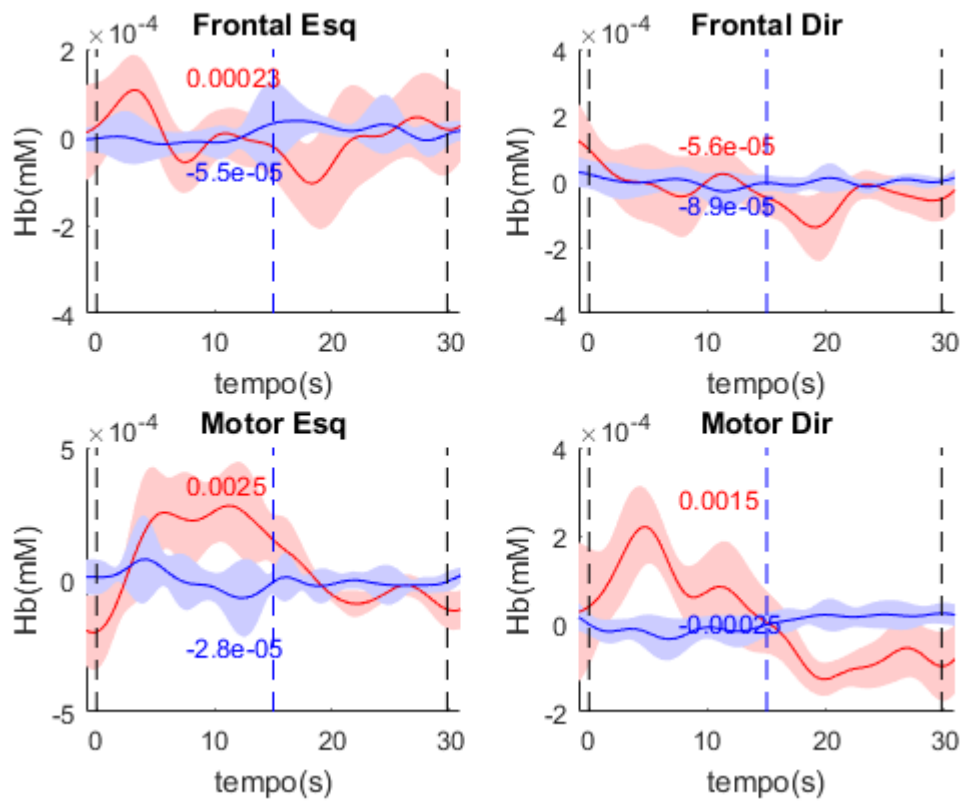


Figura 16 Curva média dos Controles 15 graus

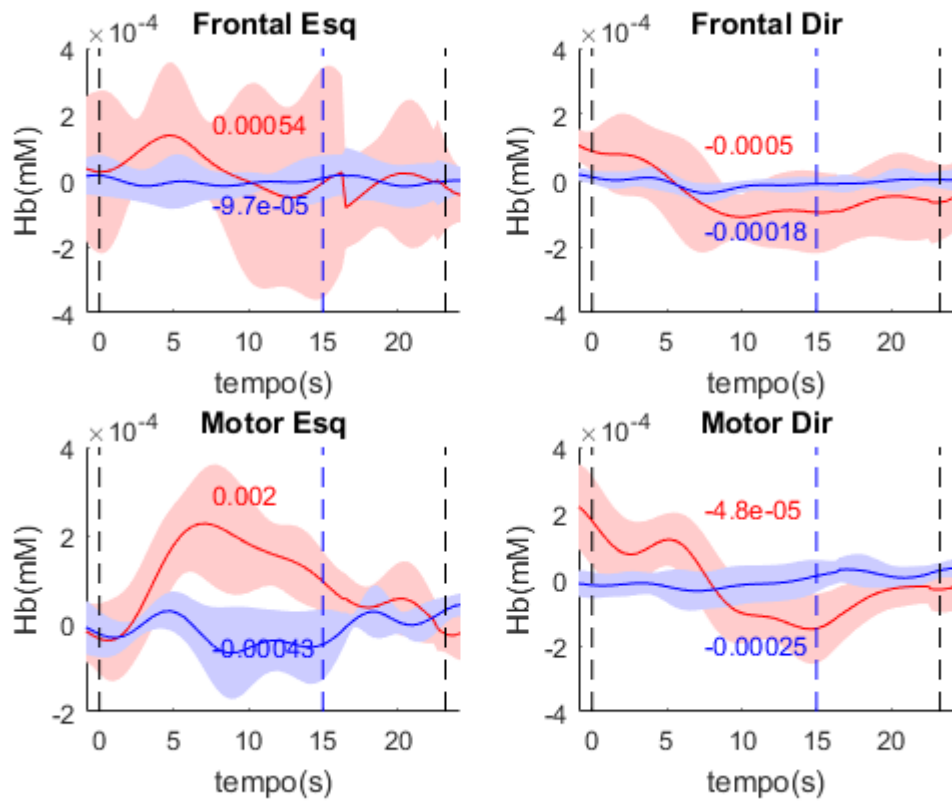


Figura 17 Curva média Controles 5 graus

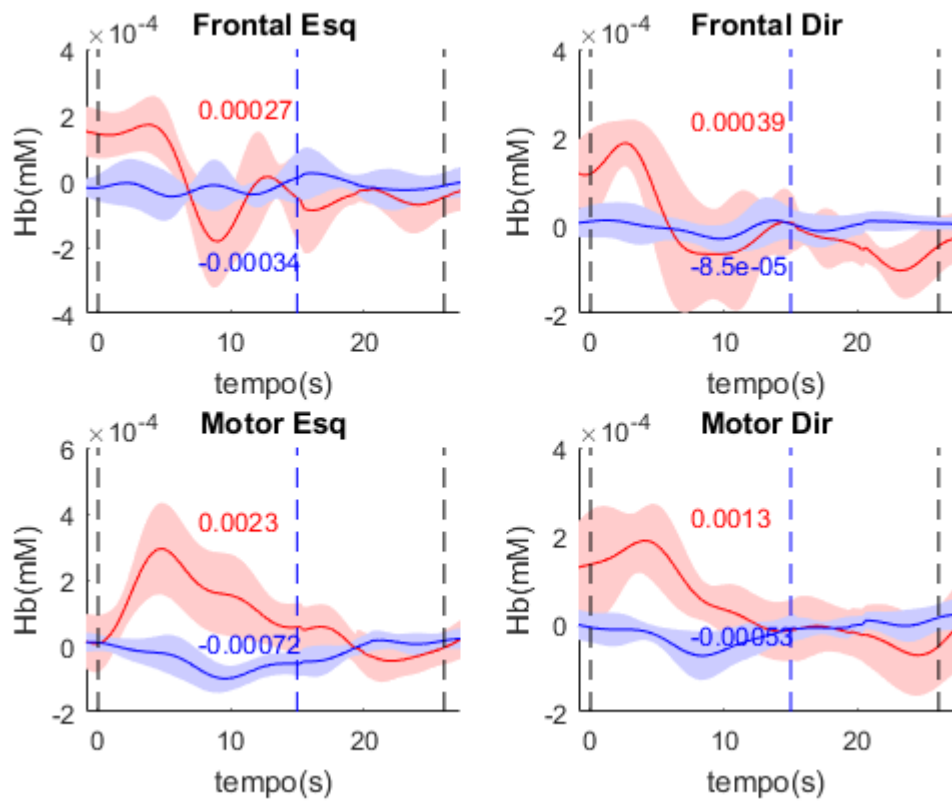


Figura 18 Curva média FM 15 graus

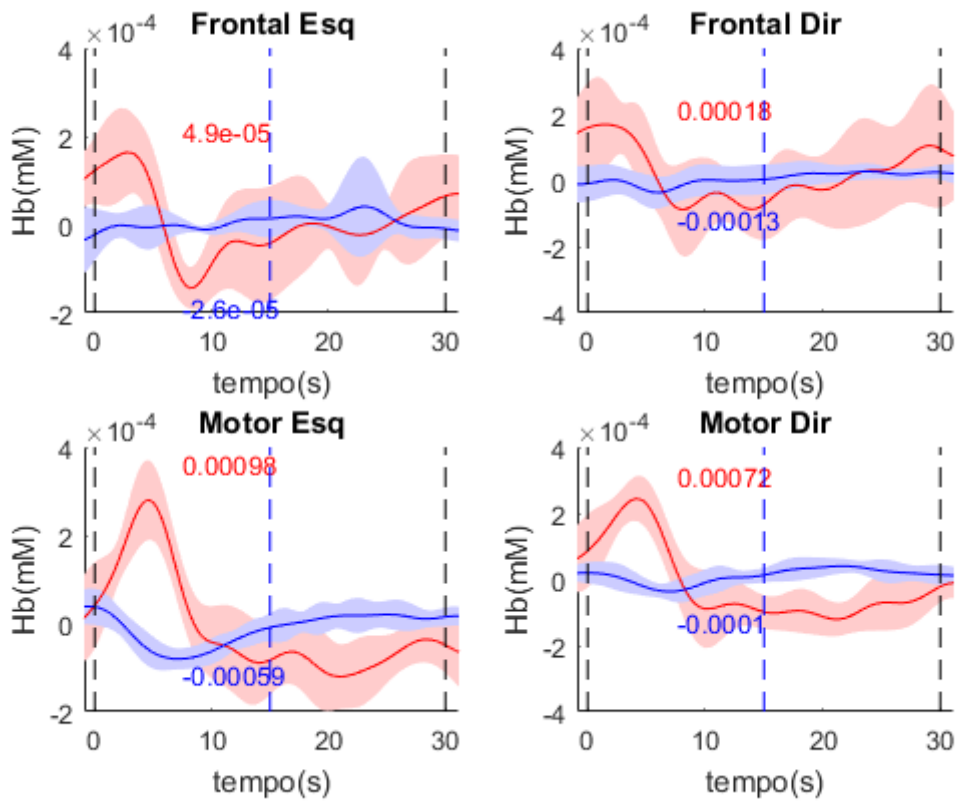


Figura 19 Curva média FM 25 graus

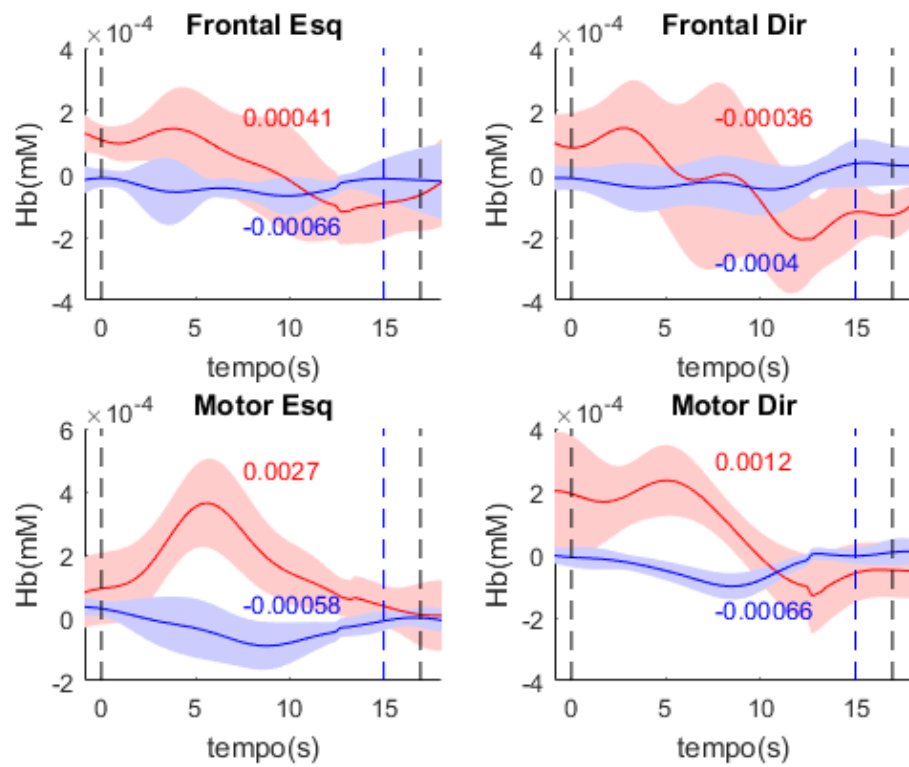


Figura 20 Curva média FM 5 graus

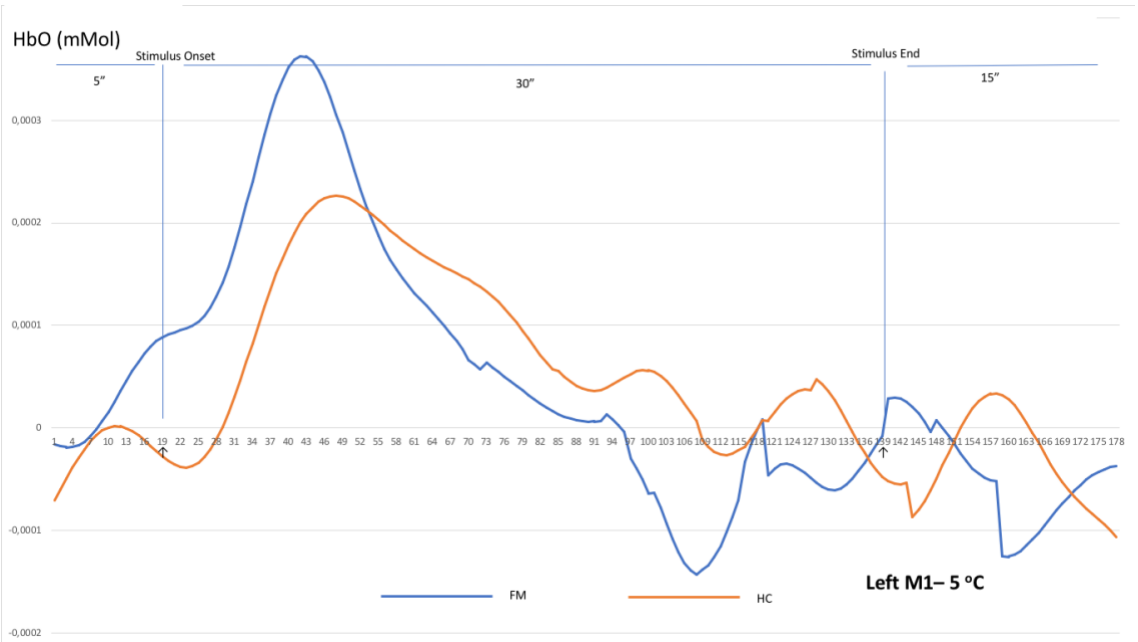


Figura 21 Curva de HbO após estímulo a 5° C - M1 Esquerdo

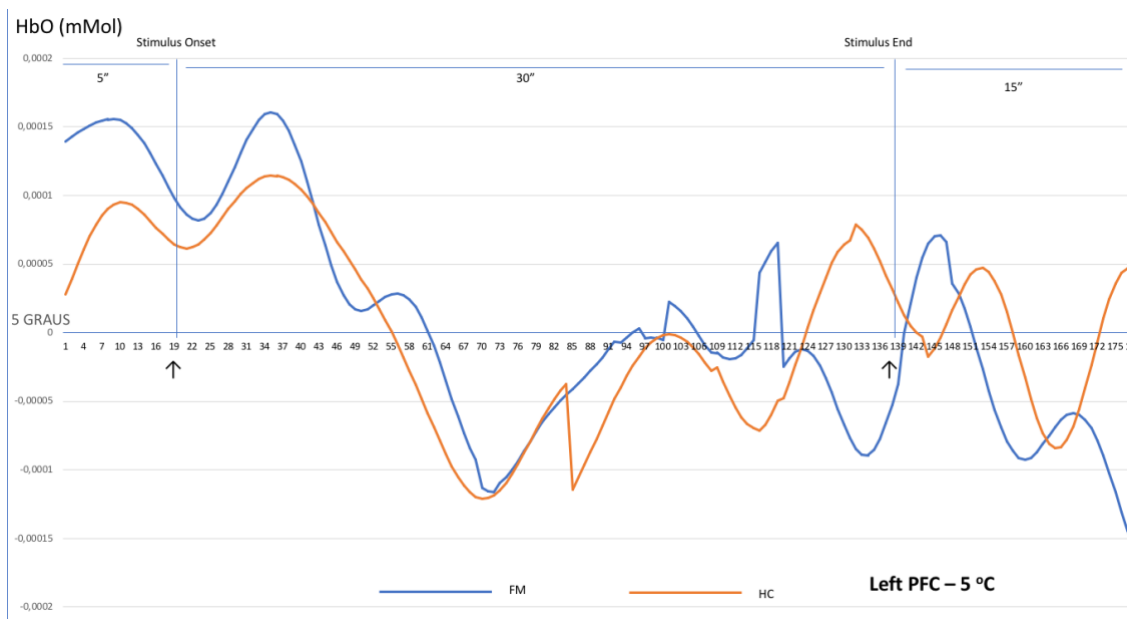


Figura 22 Curva de HbO após estímulo a 5o C - PFC Esquerdo

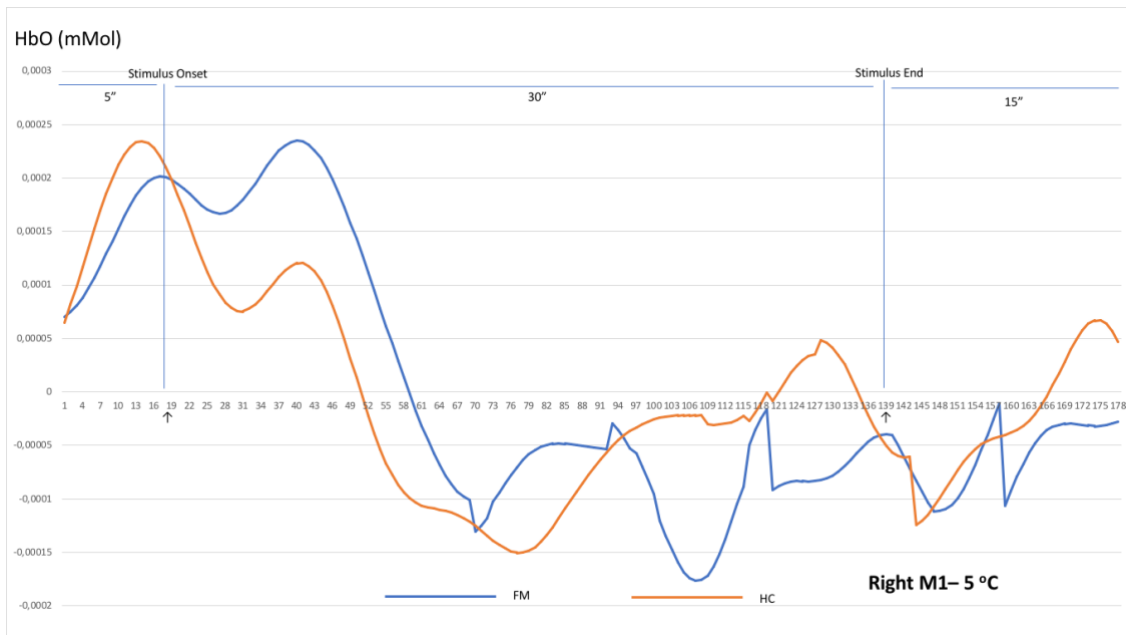


Figura 23 Curva de HbO após estímulo a 5o C - M1 Direito

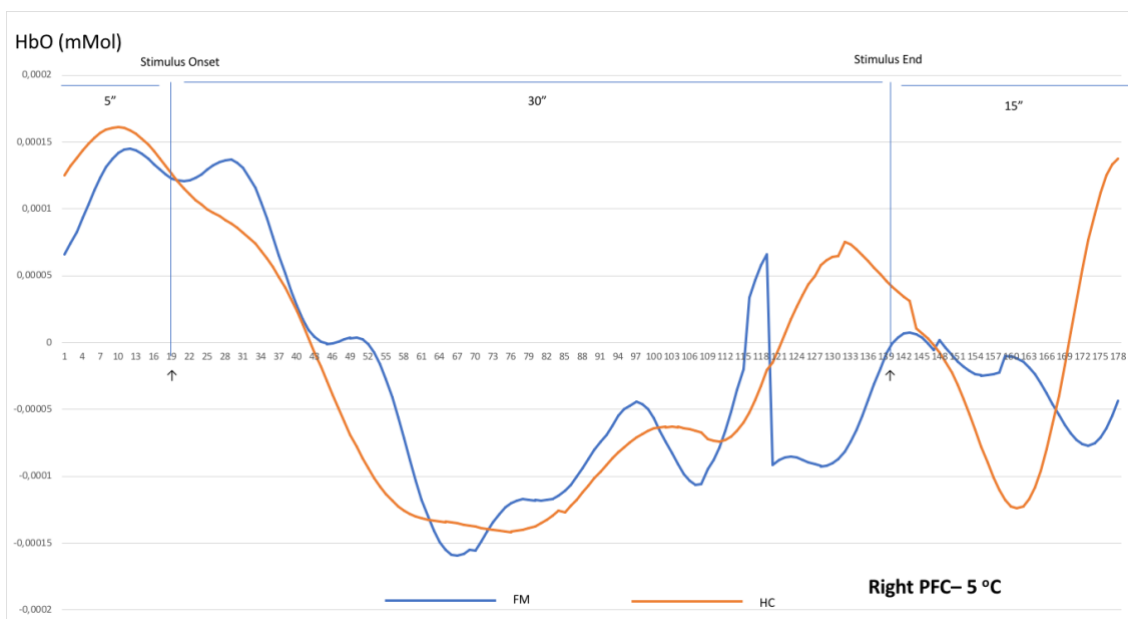


Figura 24 Curva de HbO após estímulo a 5o C - PFC Direito

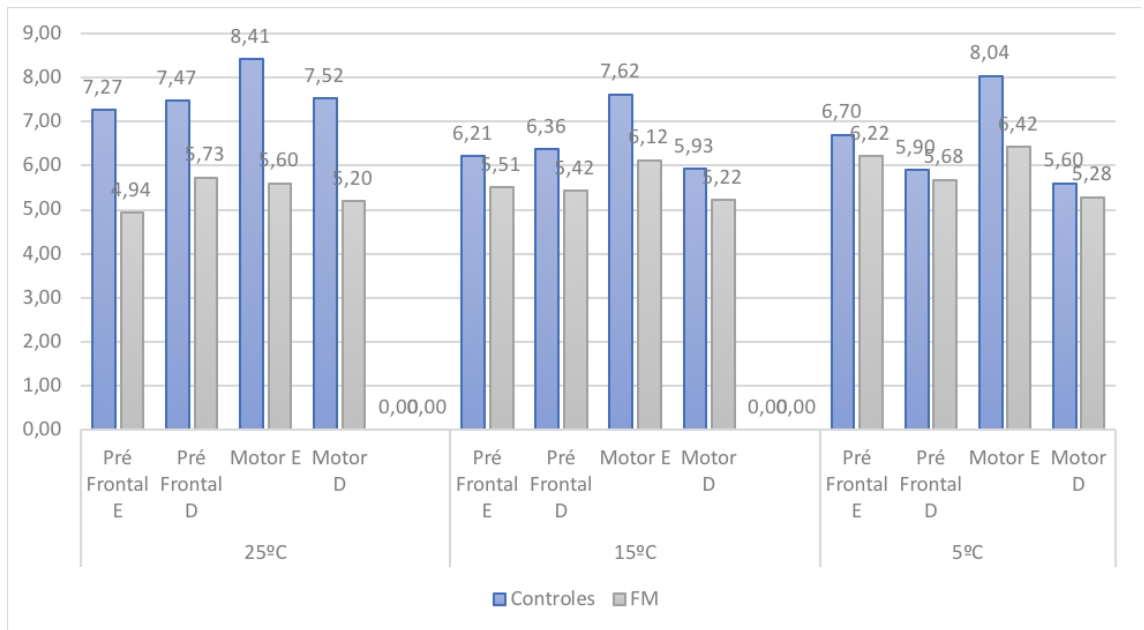


Figura 25 Figura 25 Pico de HbO nas diferentes áreas topográficas, nas diferentes temperaturas

9.3 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nº do projeto GPPG ou CAAE 64523417.2.0000.5327

Título do Projeto: PADRÃO DE ATIVAÇÃO DO CÓRTEX FRONTOPIRIETAL INDUZIDO POR ESTÍMULO NOCICEPTIVO ESCALONADO NA FIBROMIALGIA E CONTROLES SAUDÁVEIS

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo objetivo é avaliar a atividade cerebral durante diferentes estímulos de temperaturas e sensação de desconforto e dor. Esta pesquisa está sendo realizada pelo Laboratório de Dor e Neuromodulação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Se você aceitar participar da pesquisa, os procedimentos envolvidos em sua participação são os seguintes:

1) responder a questionários sobre seus dados pessoais (peso, altura, endereço), perguntas sobre os sintomas da sua doença, suas atividades diárias de rotina, sobre o quanto a dor afeta a sua rotina (como por exemplo exercícios, atividades de lazer, sono) e perguntas sobre sentimentos de ansiedade e tristeza.

2) Coleta de 10mL de sangue (equivalente a uma colher de sopa) para avaliação de algumas proteínas relacionadas a sensação de dor. Após as análises desta pesquisa, o material coletado será descartado.

3) Você colocará na cabeça uma touca com eletrodos para avaliar a sua atividade cerebral. Essa touca emitirá uma luz que você não perceberá, mas será capaz de captar a atividade do seu cérebro. Após a aplicação da touca, sua mão será colocada em uma vasilha com água a 25 graus por no máximo 30 segundos. Enquanto estiver com a mão na água, você deverá pontuar em uma escala de 0 a 10 referente a sua sensação de dor e/ou desconforto, sendo zero nenhum desconforto e 10 o máximo de desconforto. Quando você estiver no nível 6 (sensação de dor), sua mão será retirada da vasilha. A seguir sua mão será novamente colocada em outra vasilha a 15 graus por no máximo 30 segundos e o mesmo procedimento de pontuação de desconforto ocorrerá. Isso será feito

até que a temperatura da água atinja 5 graus (serão 3 medidas). Esse procedimento terá duração de cerca de 30 minutos.

A pesquisa será realizada no Centro de Pesquisa Clínica do HCPA e terá duração total de três horas e meia.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são relacionados à sensibilidade às diferentes temperaturas, à coleta de sangue, que pode gerar dor no local da coleta e hematoma (mancha roxa), e ao tempo destinado à participação na pesquisa. Além disso, você pode se sentir desconfortável com as perguntas do questionário e você poderá interromper a entrevista. Caso seja identificada alguma condição que necessite de uma avaliação mais detalhada, você será encaminhado a um atendimento específico.

Os possíveis benefícios decorrentes da participação na pesquisa são a produção de resultados e a possibilidade de termos uma nova forma de avaliar a dor. Não haverá, entretanto, benefício direto a você.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante de sua participação na pesquisa, você receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, o seu nome não aparecerá na publicação dos resultados.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Dr Wolnei Caumo pelo telefone 3359-6377, com a pesquisadora Daniela Gabiatti Donadel pelo mesmo número telefônico, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone

(51) 33597640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

Nome do participante da pesquisa

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

Local e Data: _____

