



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

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

Guilherme de Oliveira Venturini

ORIENTADOR

Professor Wolnei Caumo, M.D., PhD.

Porto Alegre, dezembro de 2019

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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Guilherme de Oliveira Venturini

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

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

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marino Muxfeldt Bianchin

(PPGCM - UFRGS)

Profa. Dra. Juliana Avila Duarte

(PPGCM-UFRGS)

Profa. Dra. Luciana da Conceição Antunes

(Centro de Ciências da Saúde - UFSC)

Prof. Dr. Gilberto Braulio

(HCPA-UFRGS)

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

(Testamento per i medici - Umberto Veronesi)

AGRADECIMENTOS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

RESUMO

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

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

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

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

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

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

ABSTRACT

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

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

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

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

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

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

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

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS DO PROJETO

Figura 1 – fNIRS e Ativação Cortical

Figura 2 – Mapa Conceitual

FIGURAS DO ARTIGO

Figura 1 – Montagem da touca de aquisição do fNIRS

Figura 2 – Paradigma Experimental

Figura 3 – Gráfico com comparação das médias de Ativação Cortical

LISTA DE TABELAS

Tabelas do Artigo

Tabela 1 – Características demográficas da Amostra

Tabela 2 – Variação das Médias de Ativação Cortical

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C – Graus Celsius

μs – microssegundos

μV – Microvolt

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

ACR – *American College of Rheumatology*

ALE – *Activation Likelihood Estimation*

AR – Artrite Reumatoide

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

CPC – Centro de Pesquisas Clínicas

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

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

EA – Efeitos Adversos

EAV – Escala análoga visual

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

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

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

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

FIPE – Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos

FM – Fibromialgia

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

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

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

HbO – Hemoglobina oxigenada, Oxihemoglobina

HbR – Hemoglobina desoxigenada, Desoxi-hemoglobina

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

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

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

LED - *Light Emitting Diode*

M1 – Córtex motor primário

mA – Milliampere

min – Minutos

nm - Nanômetro

PPGCM – Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas

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

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

REDCap – do inglês *Research Electronic Data Capture*

SD – Desvio Padrão

Seg – segundos

SNP – Sistema Nervoso Periférico

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

TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido

UAMP – Unidade de Análises Moleculares e de Proteínas

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

WPI – *Widespread Pain Index*

SUMÁRIO

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

INTRODUÇÃO

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

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

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

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

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

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

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

REVISÃO SISTEMATIZADA DA LITERATURA

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

FIBROMIALGIA

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

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

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

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

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

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

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

MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DA DOR

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

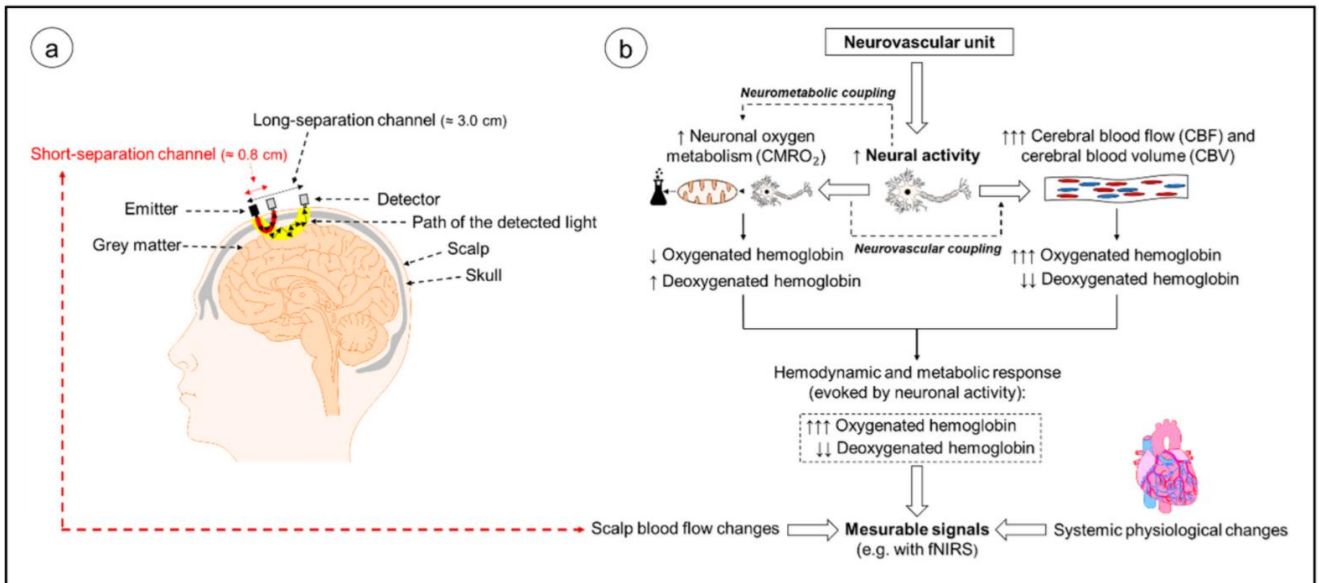


Figura 1 - Imagem adaptada de Herold et al. 2018. (a) Representação esquemática do formato de onda gerada pela fNIRS, exemplificando uma montagem que usa canais curtos. (b) Representação esquemática das mudanças hemodinâmicas provocadas pela ativação cerebral.

MARCO CONCEITUAL

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

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

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

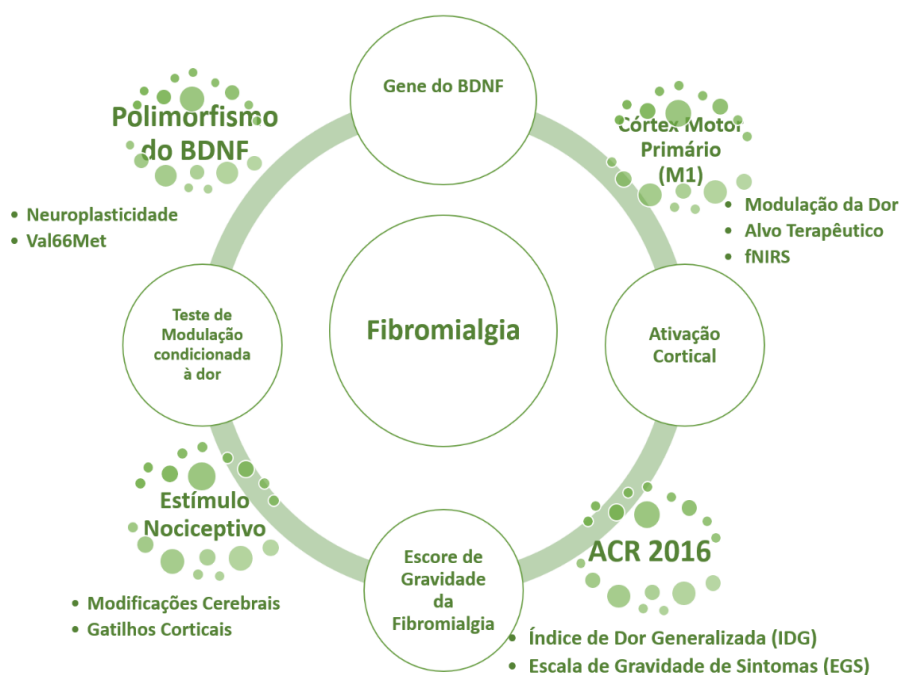


Figura 2 – Mapa Conceitual

OBJETIVO

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

REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA

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

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

10.1371/journal.pone.0008016.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

1–11. doi: 10.1093/ijnp/pyu040

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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