



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

Matheus Dorigatti Soldatelli

**SISTEMA MODULATÓRIO DESCENDENTE DA DOR NA FIBROMIALGIA:
PREDITORES DE DISFUNÇÃO E CONECTIVIDADE FUNCIONAL POR
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL**

Porto Alegre

2022

**SISTEMA MODULATÓRIO DESCENDENTE DA DOR NA FIBROMIALGIA:
PREDITORES DE DISFUNÇÃO E CONECTIVIDADE FUNCIONAL POR
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL**

Matheus Dorigatti Soldatelli

Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção de título de Doutor em Medicina: Ciências
Médicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul
(UFRGS), Programa de Pós-Graduação em Medicina:
Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Wolnei Caumo

Porto Alegre

2022

Soldatelli, Matheus
Sistema modulatório descendente da dor na
fibromialgia: preditores de disfunção e conectividade
funcional por ressonância magnética funcional /
Matheus Soldatelli. -- 2022.
137 f.
Orientador: Wolnei Caumo.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto
Alegre, BR-RS, 2022.

1. fibromialgia. 2. dor crônica. 3. vias neurais.
4. imageamento por ressonância magnética. 5.
neuroimagem funcional. I. Caumo, Wolnei, orient. II.
Título.

Matheus Dorigatti Soldatelli

**SISTEMA MODULATÓRIO DESCENDENTE DA DOR NA FIBROMIALGIA:
PREDITORES DE DISFUNÇÃO E CONECTIVIDADE FUNCIONAL POR
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL**

Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção de título de Doutor em Medicina: Ciências
Médicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul
(UFRGS), Programa de Pós-Graduação em Medicina:
Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Wolnei Caumo

Data da Aprovação: 28/10/2022

Banca Examinadora

Prof. Dr. Rafael Mendonça da Silva Chakr
(PPGCM-UFRGS)

Prof. Dra. Maria Helena Pitombeira Rigatto
(PPGCM-UFRGS)

Dra. Nathalia Bianchini Esper
(Child Mind Institute-EUA)

Prof. Dr. Fernando Gazzoni
(PUC-RS)

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Professor Doutor Wolnei Caumo, que acreditou em mim, me apoiou e me guiou nesta jornada, desde quando o conheci no curso Principles and Practice of Clinical Research, da Harvard T.H. Chan School of Public Health. Sua história de vida é uma inspiração para todos que com o senhor convivem. Eu o reconheço como um grande líder, professor e educador, apaixonado pelo que faz.

Agradeço à Professora Doutora Juliana Ávila Duarte, que me deu atenção e auxílio em todos os momentos, partilhando comigo sua extraordinária experiência. Mais que um exemplo, foi uma amiga e incentivadora na busca por uma carreira em neurorradiologia, profissão que hoje exerço com grande paixão.

Gratidão a todos os colegas do Laboratório de Dor & Neuromodulação, pelo companheirismo e compartilhamento do conhecimento. Vocês têm a minha admiração e o meu respeito pela escolha diária de fazer Ciência, enfrentando inúmeros percalços.

Muito obrigado aos amigos e colaboradores Dr. Felipe Picon e Dr. Álvaro de Oliveira, que tornaram possível a realização deste trabalho, dedicando seu tempo para as complexas análises de estudos de neuroimagem.

Grato ao serviço de Radiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela oportunidade de conduzir um estudo de alta tecnologia, e, em especial, aos funcionários da recepção, aos biomédicos e físicos médicos pelo auxílio no protocolo das imagens e obtenção de ressonância magnética em aparelho de 3 Tesla.

Muito obrigado à minha família e aos meus amigos, que são a base da minha vida e cujo apoio e torcida pelo meu sucesso foram fundamentais para que eu pudesse enfrentar todos os desafios.

Agradeço à Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação: Ciências Médicas, pela oportunidade de aprendizado e pela disponibilidade sempre que foi preciso. Agradeço, também, aos professores da banca, os quais aceitaram o convite.

Agradeço a todos os participantes desta pesquisa, cujo altruísmo e disposição tornaram este projeto possível.

A vocês, dedico os resultados obtidos neste projeto e os muitos frutos que serão colhidos.

*Great achievement is usually born of
great sacrifice and is never the result of
selfishness.*

(Napoleon Hill, 1938)

There is no substitute for hard work.

(Thomas A. Edison, 1925)

*All models are wrong, but some are
useful.*

(George Box)

*If I have seen further, it is by standing on
the shoulders of giants.*

(Isaac Newton)

RESUMO

A fibromialgia (FM) é uma síndrome que se caracteriza por dor musculoesquelética generalizada, fadiga, sono não reparador, alterações cognitivas, sintomas depressivos e neurovegetativos, cujo processo neurobiológico é múltiplo e complexo. Apesar de ser de grande relevância ao indivíduo e à sociedade, esta patologia com frequência não recebe a atenção necessária pelos órgãos que definem as prioridades da assistência na saúde. A prevalência populacional, segundo os critérios da Sociedade Americana de Reumatologia, chega a 5,4%, e os gastos decorrentes de atendimento, impostos e aposentadoria precoce por incapacidade são estimados em mais de 29 bilhões de dólares ao ano nos EUA. A falha das terapêuticas farmacológicas convencionais ocorre em cerca de 50% dos pacientes. Postula-se que essas taxas elevadas de insucesso se devam em parte à falta de conhecimento sobre os mecanismos fisiopatológicos. O mecanismo que permeia o conjunto de sintomas que constituem a FM é a síndrome de sensibilização central (SSC). O conjunto de sintomas inclui o sofrimento psíquico, distúrbios do sono, fadiga, dor, alodínia e hiperalgesia. Esta condição tem como mecanismo fisiopatológico o funcionamento prejudicado de neurônios e circuitos em vias nociceptivas, com aumento do campo receptivo, da eficácia sináptica da excitabilidade e redução da inibição. Outro componente fundamental na SSC é a disfunção do sistema modulatório descendente da dor (SMDD), que pode ser avaliado através do teste de modulação condicionada da dor (*conditioned pain modulation test* [CPM-*test*]). Neste teste, os participantes podem ser classificados como respondedores ou não respondedores, sendo que neste último grupo há uma perda da capacidade de inibição do SMDD. Estudos de neuroimagem em pacientes com dor crônica demonstram alterações funcionais corticais e de suas conexões com estruturas subcorticais que constituem a neuromatriz da dor. Entre as técnicas de neuroimagem, merece destaque o estudo com ressonância magnética funcional (fMRI) em estado de repouso (do inglês, *resting-state* [fMRI ou rs-fMRI]), para avaliar a conectividade funcional intrínseca (CFI). Com a finalidade de compreender fatores clínicos, laboratoriais e de neuroimagem que poderiam discriminar a disfunção do SMDD, foram desenvolvidos dois estudos. No **primeiro estudo**, buscamos identificar se um conjunto de sintomas da FM e os biomarcadores de neuroplasticidade poderiam constituir um índice composto de gravidade, bem como se esse teria poder discriminatório para identificar respondedores e não respondedores ao teste de CPM. Nesse estudo transversal foram incluídas 117 mulheres com FM (n = 60) não respondedoras e (n = 57) respondedoras, com idade entre 30 e 65 anos. A avaliação do SMDD pelo teste de

CPM foi feita pelas mudanças nos escores da escala numérica de dor, usando-se um protocolo padronizado. A análise de regressão logística multivariada hierárquica foi usada para construir um índice ajustado ao escore de propensão para identificar não respondedores em comparação com respondedores ao teste de CPM. As seguintes variáveis foram mantidas nos modelos: uso de analgésico quatro ou mais vezes por semana, limiar de dor ao calor (*heat pain threshold*, HPT), má qualidade do sono, catastrofização da dor, níveis séricos de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), número de diagnósticos psiquiátricos e impacto dos sintomas da FM na qualidade da vida. A *receiver operating characteristic curve* (ROC) mostrou que os não respondedores podem ser discriminados dos respondedores por um índice composto pelos sintomas da FM combinados a marcadores de neuroplasticidade (área sob a curva [AUC] = 0,83; sensibilidade = 100%; especificidade = 98%). O **segundo estudo** avaliou padrões de CFI entre as redes cerebrais de processamento da dor e o SMDD, através da rs-fMRI em pacientes com FM. Além disso, investigamos se o padrão de conectividade entre o córtex somatossensorial primário (do inglês, *primary somatosensory cortex* [PSC ou S1]) e a substância cinzenta periaquedutal (do inglês, *periaqueductal gray matter* [PAG]) está relacionado aos sintomas clínicos, em pacientes respondedoras e não respondedoras ao CPM-*test*. Nesse estudo, foram incluídas 33 mulheres com FM, classificadas como não respondedoras (n = 13) e respondedores (n = 20) ao teste de CPM. Na análise em que comparamos respondedoras e não respondedoras com um modelo linear generalizado, identificamos que não respondedoras apresentaram diminuição da CFI entre o PSC e a PAG ($\chi^2 = 10,41$; DF = 1; $p < 0,001$). A CFI S1-PAG no hemisfério cerebral esquerdo foi positivamente correlacionada aos níveis de sintomas de sensibilização central e negativamente correlacionada à qualidade do sono e aos escores de dor. A análise com ROC mostrou que a CFI entre o S1-PAG oferece sensibilidade e especificidade de 85% ou mais (AUC 0,78; IC 95% 0,63-0,94) para discriminar respondedoras de não respondedoras ao CPM-*test*. Os achados desses estudos mostram que os sintomas cardinais da FM e marcadores de neuroplasticidade predizem a disfunção do SMDD, assim como os padrões de CFI em estado de repouso no S1-PAG podem ser potenciais marcadores para prever a resposta à tarefa da CPM. Esses dados podem auxiliar na identificação de perfis para o planejamento individualizado do tratamento de pacientes com fibromialgia.

Palavras-chave: fibromialgia; dor crônica; vias neurais; imageamento por ressonância magnética; neuroimagem funcional.

ABSTRACT

Fibromyalgia (FM) is a syndrome characterized by generalized musculoskeletal pain, fatigue, non-repairing sleep, cognitive, and neurovegetative changes, with multiple and complex neurobiological processes. Despite being a significant disease, it often does not receive attention from the organs that define health care policies. The population prevalence, according to the criteria of the American Society of Rheumatology, reaches 5.4%, and the expenses arising from care, taxes and disability anticipation are estimated at more than 29 billion dollars per year in the US. Failure of pharmacological therapies occurs in about 50% of patients. These high failure rates are postulated partly due to a lack of knowledge about the pathophysiological mechanisms. The mechanism that permeates the set of symptoms that configure FM is the central sensitization syndrome (CSS), which is characterized by distress, sleep disturbances, fatigue, pain, allodynia, and hyperalgesia. This condition has as pathophysiological mechanism the impaired nociceptive functioning of neurons and circuits, increasing the receptive field and reduction of excitation mechanisms. Another critical factor in CCS is the dysfunction of the descending pain modulatory system (DPMS), which can be assessed using the conditioned pain modulation test (CPM test). This test can classify participants as responders and non-responders, where in this last group, the mechanism of pain inhibition is dysfunctional. Neuroimaging studies have shown there are changes in the brain connectivity in FM patients, mainly among the pain neuromatrix and in the DPMS. Among the neuroimaging techniques, the functional magnetic resonance imaging (fMRI) in resting-state (rs-fMRI) stands out in assessing intrinsic connectivity (IFC). In order to understand clinical, laboratory and neuroimaging factors that could discriminate SMDD dysfunction, two studies were developed. In the **first study**, we sought to identify whether a set of FM symptoms and neuroplasticity biomarkers could constitute a composite severity index and whether it would have discriminatory power to identify responders and non-responders to the CPM test. In this cross-sectional study, 117 women with FM (n = 60) non-responders and (n = 57) responders, aged between 30 and 65 years, were included. Assessment of DPMS by the CPM test was assessed by changes in Numerical Pain Scale (NPS-10) scores using a standardized protocol. Hierarchical multivariate logistic regression analysis was used to construct a propensity score-adjusted index to identify non-responders compared with CPM test responders. The models maintained the following variables: analgesic use four or more times a week, heat pain threshold (HPT), poor sleep quality, pain catastrophizing, serum BDNF levels, number of psychiatric

diagnoses and the impact of FM symptoms on quality of life. The receiver operating characteristic curve (ROC) showed that non-responders could be distinguished from responders by an index composed of FM symptoms combined with neuroplasticity markers (area under the curve (AUC) = 0.83, sensitivity = 100% and specificity) = 98%). The **second study** evaluated IFC patterns between brain pain processing networks and DPMS using rs-fMRI in FM patients. In addition, we investigated whether the connectivity pattern between the primary somatosensory cortex and the periaqueductal gray is related to clinical symptoms in CPM-test responders or non-responders. In this study, 33 women with FM were classified as non-responders (n=13) or responders (n=20) to the CPM test. In the analysis that compared responders and non-responders with a generalized linear model (GLM), we identified that non-responders showed a decrease in IFC between the PSC and the PAG [$\chi^2 = 10.41$, DF = 1 p < 0.001]. IFC S1-PAG in the left cerebral hemisphere was positively correlated with levels of central sensitization symptoms and negatively correlated with sleep quality and pain scores. ROC analysis showed that the IFC between S1-PAG offers sensitivity and specificity of 85% or greater [AUC 0.78, 95% confidence interval (CI), 0.63-0.94] to discriminate responders from non-responders. Respondents to the CPM test. Findings from these studies show that cardinal symptoms of FM and neuroplasticity markers predict DPMS dysfunction and resting-state IFC patterns in S1-PAG may be potential markers for predicting CPM task response. These data can help identify profiles for individualized treatment planning for patients with fibromyalgia.

Keywords: fibromyalgia; descending modulatory system; chronic pain; neural interconnection; magnetic resonance imaging, functional; functional neuroimaging.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Dor como um fenômeno além da nocicepção.....	24
Figura 2 - Representação das vias de transmissão da dor.....	28
Figura 3 - Sistema modulatório descendente da dor.....	30
Figura 4 -Carga alostática, sensibilização central e neuroplasticidade maladaptativa	35
Figura 5 - Ilustração do teste de modulação condicionada da dor.....	37
Figura 6 - Mapas cerebrais com a representação espacial do grupo dos resultados de um estudo de conectividade funcional baseado em sementes.....	41
Figura 7 - Áreas mais correlacionadas à dor já evidenciadas em estudo de ressonância magnética funcional em estado de repouso.....	43
Figura 8 - Regiões cerebrais com maior rs-FC com a substância cinzenta periaquedutal em pacientes com fibromialgia (n = 23) em comparação com controles saudáveis (HC, n = 16) .	46
Figura 9 - Diferenças significativas de conectividade funcional intrínseca entre indivíduos com fibromialgia e controles saudáveis e sua correlação com os escores do questionário de impacto da fibromialgia.....	47
Figura 10 - Esquema de achados de conectividade funcional em pacientes com fibromialgia antes e após uso da estimulação transcraniana de corrente contínua ativa e simulada.	49
Figura 11 - Marco conceitual.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estratégia de busca.....	23
-------------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS E TRADUÇÕES

ACC	Córtex cingulado anterior/ <i>Anterior cingulate cortex</i>
ACR	American College of Rheumatology
AFNI	<i>Analysis of functional neuroimages</i>
AMPA	Receptores de α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate
B-PCP	<i>S – Brazilian Profile of Chronic Pain: Screen</i>
BDI-II	Inventário de Depressão de Beck II
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro/ <i>Brain-derived neurotrophic</i>
BOLD	<i>Blood oxygenated level dependent</i> /Nível dependente de sangue oxigenado
<i>BOTTOM-UP</i>	De baixo para cima
BP-CSI	Inventário de Sensibilização Central/ <i>Brazilian Portuguese Central Sensitization inventory</i>
CPM	<i>Conditionated pain modulation</i> /Modulação condicionada da dor
CFI ou rsFC	Conectividade funcional intrínseca/ <i>Resting state functional connectivity</i>
CPM-test/task	<i>Conditionated pain modulation task</i> /Teste-tarefa de modulação condicionada da dor
SC	Sensibilização central/ <i>Central sensitization</i>
DICOM	<i>Digital imaging and communications in medicine</i>
DHSC	Corno dorsal da medula espinal/ <i>Dorsal horn of spinal cord</i>
DLPFC	Córtex pré-frontal dorsolateral/ <i>Dorsolateral prefrontal cortex</i>
DMN	<i>Default mode network</i> /Redes de modo padrão
DTI	<i>Diffusion tensor imaging</i> /Imageamento por difusores de tensão
EAV	Escala análogo-visual
EC	Estímulo condicionante
EPI	Imagens ecoplanares
ET	Estímulo teste
ETCC	Estimulação transcraniana de corrente contínua/ <i>transcranial direct continuous current stimulation, tDCS</i>
FA	<i>Fractional anisotropy</i> /Anisotropia fracionada
FA	<i>Flip angle</i> /Ângulo de virada
FLAIR	<i>Fluid attenuation inversion recovery</i>

FM	Fibromialgia
FOV	<i>Field of view</i> /Campo de vista
FWE	Correção do erro de família/ <i>Family-wise error rate correction</i>
FWHM	<i>Calculate full width at half maximum</i>
HPT	<i>Heat pain threshold</i> /Limiar de dor ao calor
ICA	Análise de componentes independentes/ <i>Independent component analysis</i>
IDATE	Inventário de ansiedade traço-estado
INS	Ìnsula/córtex insular, subdividida em anterior (aINS) e posterior (pINS)
LC	<i>Locus ceruleus</i>
M1	Córtex motor primário
MRI	<i>Magnetic resonance imaging</i> /Imageamento por ressonância magnética
NGF	<i>Neural growth fator</i> /Fator de crescimento neural
NIRS	<i>Near infrared reflectance spectroscopy</i> /Espectroscopia de infravermelho próxima
NMDA	<i>N-methyl-D-Aspartate</i> /N-metil-d-aspartato
NMR	Núcleo magno da rafe
NO	<i>Oxide of nitrogen</i> /Óxido de nitrogênio ou óxido nítrico
NPS	Escala numérica de dor
NS	<i>Nociceptor specific</i> /Neurônios nociceptores específicos
NSA	<i>Number of signal averages</i>
OVL	<i>Orbital ventrolateral cortex</i> /Córtex orbitoventrolateral
PAG	Substância cinzenta periaquedutal/ <i>Periaquedutal gray matter</i> <i>Pain neuromatrix</i> – neuromatriz da dor
PCC	Córtex do cíngulo posterior/ <i>Posterior cingulate cortex</i>
PCS	Escala de Pensamento Catastrófico sobre a Dor/ <i>Pain Catastrophizing Scale</i>
PFC	<i>Prefrontal cortex</i> (córtex pré-frontal), subdividido em dorsolateral (dIPFC), ventrolateral (vIPFC) e medial (mPFC)
PSIQI-BR	Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh
QIF	Questionário de Impacto da Fibromialgia
QST	<i>Quantitative sensory testing</i> /Teste sensório-quantitativo
RM	Ressonância magnética
ROI	Região de interesse/ <i>Region of interest</i>

Rs-fMRI	Ressonância magnética funcional em estado de repouso/ <i>Resting-state fMRI</i>
RVM	<i>Rostral ventromedial medulla</i> /bulbo rostroventral medial
S1 ou PSC	Córtex somatossensorial primário/ <i>Primary somatosensorial cortex</i>
S2	Córtex somatossensorial secundário
SSC	Síndrome de sensibilização central
SMD	Sistema modulatório descendente
SNC	Sistema nervoso central
STAI	<i>State-trait anxiety inventory</i> /Inventário de Ansiedade Traço-Estado
STROBE	<i>Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology</i>
SCA	Correlação de sementes/ <i>seed-based correlation analysis, SCA</i>
TE	Tempo de eco
<i>Tender points</i>	(tradução literal) pontos dolorosos da FM
<i>Top-down</i>	De cima para baixo
TR	Tempo de repetição
TrkB	<i>Tropomyosin receptor kinase B</i> /receptor tropomiosina quinase B
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
WDR	<i>Wide dynamic range</i> /amplo alcance dinâmico
fMRI	<i>Functional magnetic resonance imaging</i> /ressonância magnética funcional

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	22
2.1 ESTRATÉGIAS DE BUSCA.....	22
2.2 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E CONCEITUAIS DA FIBROMIALGIA	23
2.3 MECANISMOS CENTRAIS DA DOR E O SISTEMA MODULATÓRIO DESCENDENTE	27
2.4 SÍNDROME DE SENSIBILIZAÇÃO CENTRAL.....	31
2.5 TESTE/TAREFA DE MODULAÇÃO CONDICIONADA DA DOR (TESTE CPM).....	35
2.6 CONECTIVIDADE CEREBRAL.....	37
2.7 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL E A AVALIAÇÃO EM ESTADO DE REPOUSO (rs-fMRI)	38
2.8 NEUROIMAGEM FUNCIONAL E A FISIOPATOLOGIA DA DOR CRÔNICA	42
2.9 MARCO CONCEITUAL.....	50
3 JUSTIFICATIVA	51
4 HIPÓTESE	52
5 OBJETIVOS.....	52
5.1 OBJETIVO GERAL.....	52
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	52
REFERÊNCIAS	54
ARTIGO 1	65
ARTIGO 2 – Submetido.....	88
ANEXOS	120
ANEXO 1 - Termo de consentimento livre e esclarecido	120

ANEXO 2 - STROBE <i>checklist estudo 1</i>	122
ANEXO 3 - STROBE <i>checklist estudo 2</i>	125
ANEXO 4 - Principles and practice of clinical research.	128
ANEXO 5 - Outstanding teaching assistant principles and practice of clinical research.....	129
ANEXO 6 - Prêmio de melhor caso de neurorradiologia conferido pelo American College of Radiology (ACR) e American Institute for Radiologic Pathology (AIRP).....	130
ANEXO 7 - Master of Science (M.Sc.) Degree.	131
ANEXO 8 - Validação do título de médico em Portugal.	132
ANEXO 9 - Residência em Radiologia e Diagnóstico Por Imagem.	133
ANEXO 10 - Fellowship em Neurorradiologia e Radiologia de Cabeça e Pescoço.	134
ANEXO 11 - Atuação como neurorradiologista da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) e na Santa Casa de Misericórdia de São Paulo (SCMSP).	135
ANEXO 12 - Diploma Europeu em Neurorradiologia.....	136
ANEXO 13 - Clinical Fellowship in Pediatric Neuroradiology.....	137

1 INTRODUÇÃO

A fibromialgia (FM) é uma doença que se caracteriza por dor generalizada, sono não reparador, alterações de humor, prejuízo cognitivo e fadiga que perduram há pelo menos três meses (1). Ela afeta até 10% da população mundial, principalmente do sexo feminino, segundo dados do American College of Rheumatology. Conforme o Center for Disease Control, pacientes com FM são hospitalizadas uma vez a cada três anos e gastam três vezes mais com saúde do que indivíduos com outras doenças sem fibromialgia. Os dados sobre dor crônica no Brasil apontam a FM como a segunda causa de dor crônica, precedida apenas pela osteoartrite (2).

Embora sua fisiopatologia não esteja bem elucidada, os sintomas devem-se a um conjunto de processos neurobiológicos disfuncionais permeados por mecanismos neuro-imune-endócrinos, que levam à síndrome de sensibilização central (SSC). O desbalanceamento entre os mecanismos de excitação/inibição sustenta essa condição de dor, classificada na categoria de dor nociplástica, que se define por dor generalizada sem outra causa e com importante carga emocional. Os sintomas que fazem parte da SSC envolvem diversos mecanismos, como o *wind up*, potenciação de longo prazo, facilitação de longo prazo e enfraquecimento do sistema modulatório descendente da dor (SMDD) (3). Esse sistema de modulação descendente contrarregula o efeito dos estímulos algogênicos. Dessa forma, simultaneamente ao processamento ascendente da dor, as vias modulatórias descendentes enviam sinais de facilitação e inibição do encéfalo para a medula espinhal e, na sequência, para a periferia, aumentando ou inibindo os sinais nociceptivos ascendentes (4), podendo exercer um controle bidirecional sobre a nocicepção. As vias descendentes da dor se originam de distintas áreas encefálicas, entre elas, a substância cinzenta periaquedutal (do inglês, *periaqueductal gray matter* [PAG]), o núcleo magno da rafe (5,6) e as estruturas adjacentes do bulbo rostral ventromedial (do inglês, *rostral ventromedial medula* [RVM]) (7). No que lhe concerne, os córtices pré-frontal, cíngulo anterior (do inglês, *anterior cingulate cortex* [ACC]) e a amígdala, com projeções para a PAG, organizam as influências inibitórias e facilitatórias da RVM no processamento nociceptivo espinal (8,9). Essa via de modulação descendente da dor recebe o nome de via espinobulboespinal (6). As vias descendentes inibitórias envolvidas nesse processo são as serotoninérgicas, GABAérgica, adenosinérgica, opioidérgica e noradrenérgica (10-12). As projeções noradrenérgicas descendentes para o corno dorsal da medula espinhal (do inglês, *dorsal horn of spinal cord* [DHSC]) surgem dos grupos celulares adrenérgicos A5, A6 (*locus coeruleus*, LC) e A7, e essas regiões se comunicam com a RVM e PAG. Assim, essas

projeções noradrenérgicas formam um importante componente da modulação da dor descendente por inibir a transmissão nociceptiva (13,14). Logo, todas essas vias modulam a entrada sensorial de fibras ascendentes e dos neurônios de projeção do DHSC e ativam comportamentos reflexos protetivos que influenciam a percepção da dor (6).

Esses sistemas fazem parte dos processos neurobiológicos de inibição das vias descendentes da dor. Seu papel nos mecanismos endógenos de controle de dor teve início com estudos em animais anestesiados, e foi denominado controle inibitório difuso nociceptivo (*diffuse noxious inhibitory controls*, DNIC) (15). O DNIC é um fenômeno fisiológico descrito em animais no final da década de 70. Ele propõe que estímulos dolorosos possam desempenhar efeitos inibitórios sobre outros estímulos, sejam eles dolorosos ou não dolorosos (16). No entanto, estudos subsequentes mostraram que, quando são aplicados estímulos dolorosos em humanos conscientes, ocorre a ativação de outros mecanismos de modulação da dor, como, por exemplo, a distração (17). Então, a partir do ano de 2010, foi proposta a inclusão de um novo termo - *conditioned pain modulation* (CPM) (17). Na verdade, a CPM incluiu o DNIC e outros processos envolvidos na modulação da dor. A CPM avalia a resposta das vias endógenas descendentes inibitórias da dor, sendo que a chamada *CPM-task* (tarefa da modulação condicionada da dor) engloba os testes psicofísicos da dor em humanos e envolve o fenômeno DNIC. Ela é desencadeada pela aplicação de um estímulo teste (E0), definido a priori como suficiente para desencadear um escore de dor 6/10 na escala numérica verbal de dor (NPS 0-10). Na sequência, aplica-se o mesmo estímulo que produza o escore de 6/10 na NPS, concomitantemente a um estímulo teste nociceptivo utilizado em uma área remota do corpo (heterotópico), denominado de estímulo condicionante (E1) (18). O estímulo condicionante (E1) ativa fibras nociceptivas A- δ e C e induzirá uma diminuição na percepção da sensação de dor ao estímulo teste (16,15,19). Esse fenômeno é também conhecido como contrairritação (uma dor inibe outra dor) (20). A CPM é estimada pelo valor de delta (Δ), subtraindo o escore da medida E do valor 6 que definiu o estímulo T0, suficiente para produzir escore na NPS 6/10. Quando o valor da medida do E1 subtraído do escore seis (6/10) for negativo, esse resultado indica que o sistema modulador descendente da dor é eficaz; quando esse valor for zero, significa ausência de função; quando der positivo, indica efeito de somação (21).

Contudo, o teste de CPM apresenta limitações, dadas as variações entre os paradigmas aplicados, a sobreposição de condições de dor com diferentes fisiopatologias e os distintos protocolos para critérios de diagnóstico da doença ao longo do tempo (22). Assim, é pertinente

identificar marcadores substitutos, abrangentes e clinicamente relevantes para avaliar a disfunção do SMDD. Segundo dados cumulativos, o estudo da neuroplasticidade maladaptativa na dor crônica vem sendo complementado com o estudo da conectividade funcional intrínseca (CFI) com o eletroencefalograma, fNIRS (do inglês, *functional near infrared spectroscopy* [fNIRS]) e a ressonância magnética funcional (do inglês, *functional magnetic resonance imaging*). Entre essas tecnologias, o estudo de ressonância magnética funcional em estado de repouso (do inglês, *resting-state* [fMRI]), que avalia as flutuações cerebrais espontâneas de baixa frequência em regiões de interesse sem a utilização de estímulos ou tarefas, é a técnica eleita para avaliação da CFI. Ela investiga a ativação sincrônica de regiões espacialmente distintas para identificar as conexões em estado de repouso sem requerer a cooperação do paciente ou quaisquer intervenções (23,24). Os resultados da CFI possuem potencial de aplicação clínica e têm sido demonstrados em diversas patologias neuropsiquiátricas (25). De forma geral, indivíduos com síndrome de sensibilização central (SSC) apresentam maior ativação das áreas corticais relacionadas à neuromatriz da dor e uma menor ativação naquelas relacionadas ao SMDD; contudo, esses achados não são unânimes na literatura e diferem entre as diversas etiologias da SSC (26). Ademais, pacientes com dor crônica também apresentam alterações funcionais em estruturas não diretamente relacionadas à neuromatriz da dor, como os hipocampos, núcleo *accumbens*, amígdala e córtex do cíngulo anterior (do inglês, *anterior cingulate cortex* [ACC]), sendo primariamente envolvidas em circuitos límbicos, corroborando para o entendimento das manifestações afetivo-emocionais desses pacientes (27).

É importante ressaltar que as alterações na CFI em pacientes com dor crônica é um processo dinâmico e potencialmente reversível. Estudos de neuroimagem demonstram que pacientes com FM tratadas com inibidores da recaptção de serotonina e noradrenalina demonstraram redução na sensibilidade à dor e aumento da atividade cerebral em áreas relacionadas ao SMD, córtex do cíngulo posterior (do inglês, *posterior cingulate cortex*, PCC) e pré-cuneo (28). Pacientes com osteoartrite tratadas com diferentes modalidades de exercício físico apresentaram redução na conectividade entre a PAG – a principal área envolvida no SMD (29) – e o córtex pré-frontal orbitário medial, sendo essa redução associada à melhora clínica e maior volume de substância cinzenta no córtex pré-frontal orbital medial (30).

A partir do exposto, e considerando que a matriz das linhas de investigação do Laboratório de Dor & Neuromodulação (do Hospital de Clínicas de Porto Alegre [HCPA]/Universidade Federal do Rio Grande do Sul [UFRGS]) estão voltadas para a

compreensão da fisiopatologia da dor crônica, em especial da FM, avaliamos dois subgrupos de pacientes com FM: um, com o SMD funcional (respondedoras ao CPM-*test*), e, outro, com o SMD disfuncional (não respondedoras ao CPM-*test*). Aqui, apresentamos dois estudos com objetivos complementares: no primeiro, exploramos se a gravidade dos sintomas frequentemente encontrados na FM pode predizer a disfunção do SMDD, facilitando o seu diagnóstico clínico; o segundo, teve como objetivo comparar os padrões de CFI através da técnica de rs-fMRI entre as estruturas corticais e subcorticais e a PAG em pacientes com FM, segundo os subgrupos respondedoras e não respondedoras ao CPM-*test*.

Este trabalho está apresentado conforme as normas do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e originou um artigo publicado no *British Journal of Pain* (com índice de impacto de 1,67; *Anesthesiology and Pain Medicine* - quartil igual a 2) outro artigo submetido ao *Korean Journal of Pain* (índice de impacto igual a 2,9; *Anesthesiology and Pain Medicine* - quartil igual a 2).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ESTRATÉGIAS DE BUSCA

Os estudos nos idiomas espanhol, inglês e português e publicados entre 2006 e 2022 foram selecionados nas bases eletrônicas de dados PubMed/Medline, Lilacs/Bireme, Scielo e Embase.

Empregaram-se os seguintes descritores, conforme o Medical Subject Headings: ressonância magnética funcional (fMRI), ressonância magnética funcional em estado de repouso (*resting-state-fMRI*; rs-fMRI), *fibromyalgia* (FM), *descending modulatory system* e *conditioned pain modulation-task* (CPM-task).

Quando necessário, foram utilizadas referências específicas de artigos identificados.

Para cada base, utilizaram-se os seguintes filtros: a) Scielo - tipo de literatura (artigo); b) Lilacs/Bireme - tipo de literatura (artigo), tipo de estudo (estudo de casos e controles, relato de casos e revisão sistemática) e limites (feminino, humanos, adulto); c) PubMed/Medline - desenho do estudo (observacional, revisões, revisões sistemáticas), em seres humanos do sexo feminino, adultos (entre 19 e 44 anos) e adultos de meia idade (45-64 anos); e d) Embase - estudos em seres humanos, transversais, prospectivos, caso controles e revisões, participantes adultos de 19 a 64 anos.

A seguir, foi criada uma tabela com o número total de artigos encontrados a partir das palavras-chave nas diversas plataformas de busca. O projeto foi desenvolvido com os artigos que melhor preencheram as necessidades metodológicas e teóricas.

Tabela 1 - Estratégia de busca

Descritores	PubMed	Lilacs/Bireme	Embase	Scielo
Fibromyalgia AND rs-fMRI	46	0	114	8
Fibromyalgia AND fMRI	325	2	446	0
Fibromyalgia AND descending modulatory system	15	0	19	0
Fibromyalgia AND descending modulatory system AND CPM-task	3	0	2	0
descending modulatory system AND fMRI	58	3	64	4
descending modulatory system AND rs-fMRI	22	0	31	0
descending modulatory system AND fibromyalgia	15	0	19	0
Descending modulatory system AND fibromyalgia AND fMRI	5	0	5	0
CPM-task AND fMRI	0	0	3	0
CPM-task AND fibromyalgia	4	0	4	0
CPM-task AND descending modulatory system	10	0	11	0

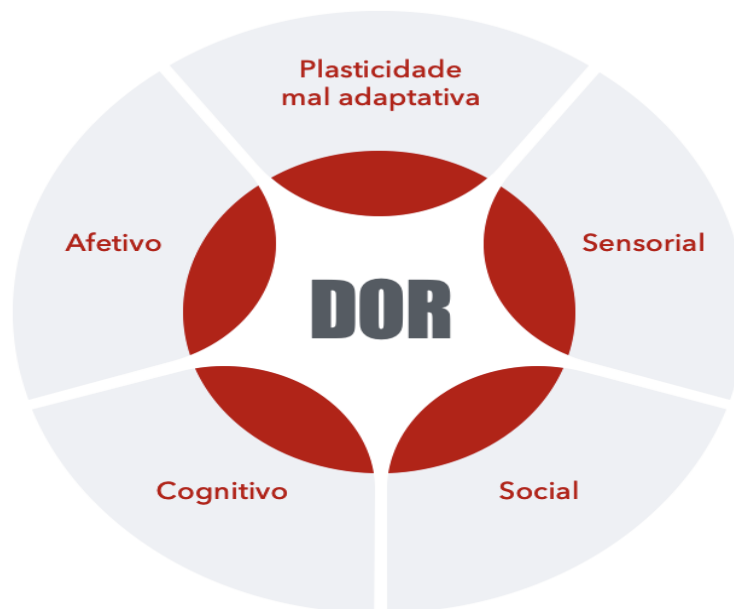
Fonte: Elaboração própria

2.2 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E CONCEITUAIS DA FIBROMIALGIA

No século XX, Melzack & Wall, reavaliando as teorias da especificidade e da somação, concluíram que a primeira estava solidamente embasada em evidências fisiológicas, a partir de estudos em sistema nervoso especializado, e que o mesmo não ocorria com a pressuposição psicológica, de que a sensação era conduzida por uma via de comunicação fixa da pele ao cérebro. As evidências científicas não sustentaram a hipótese de uma proporcionalidade entre a intensidade do estímulo e a percepção da dor, mas sugeriram que a qualidade da dor percebida é determinada por muitas variáveis fisiológicas e psicológicas. A dor não seria exclusivamente causada pela atividade neural em vias nociceptivas, mas resultaria da interação das atividades de várias regiões do sistema nervoso, cada qual com sua função especializada. Segundo a International Association for the Study of Pain, a dor é definida como

uma experiência sensorial e emocional que apresenta quatro componentes: sensório-discriminativo, cognitivo-avaliativo, afetivo-motivacional e social (1). Torna-se crônica quando existe de forma contínua ou recorrente durante pelo menos três meses. A dor crônica é sempre mal adaptativa – mesmo a dor secundária, pois ocorrem mudanças nos circuitos neurais de processamento, com consequente percepção amplificada da dor mesmo na ausência do estímulo. A Figura 1 apresenta o conceito de dor como um fenômeno multidimensional, resultante de processos disfuncionais, envolvendo aspectos anatômicos, bioquímicos, moleculares, neurocognitivos e sociais.

Figura 1 - Dor como um fenômeno além da nocicepção



Fonte: Elaboração própria

O termo fibromialgia foi cunhado apenas em 1976, após a descrição e definição da localização dos *tender points*. Atualmente, o diagnóstico envolve o conceito de dor difusa e aborda sintomas como fadiga, sono não reparador e alterações cognitivas, podendo ser concomitante a outras patologias, como osteoartrite ou artrite reumatoide (31). A FM ocorre em até 10% da população e atinge grupos de todas as idades, etnias e culturas. É sete vezes mais comum em mulheres do que em homens, com um impacto importante na qualidade de vida do paciente. Nos EUA, por exemplo, 15% destes pacientes recebem benefícios por serem considerados incapacitados ao trabalho em decorrência da dor. Entre as comorbidades

associadas à FM estão a depressão, ansiedade, síndrome do cólon irritável, síndrome da fadiga crônica, cistite intersticial e a dismenorrea (32-34). Estudos realizados – inclusive pelo Laboratório de Dor & Neuromodulação – evidenciam a importante influência do sono e da ruptura do seu ritmo a menor tolerância à dor (35).

Define-se FM por dor musculoesquelética crônica e difusa presente durante mais de três meses, localizada nas partes superiores e inferiores do corpo. Possui vários sintomas associados, entre os quais distúrbios do sono, fadiga, rigidez matinal, alodínea, hiperalgesia, catastrofismo e disfunções afetivas (depressão e ansiedade) ou cognitivas. Cerca de 90% dos pacientes com FM apresentam alterações de sono, uma prevalência três vezes superior àquela encontrada em indivíduos normais. Os mecanismos que permeiam os sintomas da FM são disfuncionais, visto que não existem danos estruturais em nível do sistema nervoso central ou periférico que justifiquem os sintomas (36,37). Na Classificação Internacional de Doenças-11, a FM passou a ser classificada como uma doença.

A fisiopatologia da FM não está completamente definida e é extremamente complexa. Observa-se a existência de vários distúrbios sensoriais, neuro-imune-endócrinos envolvidos no processo desta doença. De forma bastante sucinta, há comprometimento em vários sistemas do organismo, tais como diminuição dos níveis de cortisol, regulação anormal do hormônio do crescimento, diminuição de serotonina, aumento dos níveis de substância P e NGF no líquido, sensibilização central, disfunção do SMDD, além de polimorfismos de genes dos sistemas serotoninérgicos, dopaminérgicos e catecolaminérgicos (38,39). O sistema opioidérgico é outro sistema que parece estar envolvido nos pacientes fibromiálgicos, que apresentam redução da disponibilidade de receptores μ -opioides em regiões cerebrais que normalmente modulam a dor, especificamente o núcleo *accumbens*, o cíngulo anterior e a amígdala, justificando a ineficiência do uso terapêutico de opioides nesses pacientes. A concentração de encefalina no líquido é três vezes superior a de pacientes saudáveis, com franca ocupação de receptores μ -opioides nos gânglios da base (40). Também a atividade serotoninérgica, noradrenérgica e dopaminérgica costuma estar diminuída, havendo uma redução na dosagem líquórica desses neurotransmissores (4,5). Esses dados sugerem que respostas inadequadas ao CPM-*task*, portanto, no SMDD, são decorrentes de disfunções nesses sistemas, e não no sistema opioidérgico (41). Sugere-se, também, que a baixa secreção de melatonina na FM desempenha um papel na falta de sono restaurador (42) e na desregulação do cortisol (43), contribuindo para

uma carga alostática, caracterizada pela disfunção do sistema nervoso simpático e incapacidade geral do sistema para se adaptar às mudanças (44).

Dois marcadores séricos de neuroplasticidade têm ganhado destaque: o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e a proteína S100 beta (S100B). O BDNF, a neurotrofina mais abundante e amplamente distribuída no sistema nervoso central e periférico, é conhecido por estar envolvido no crescimento axonal, plasticidade sináptica e reparo neuronal (45). A atividade neuronal regula a transcrição do gene BDNF, o transporte da proteína mRNA do BDNF em dendritos e a secreção de BDNF (46). A proteína S100B marcadora glial pode ser liberada ativamente das células gliais, ou seja, oligodendrócitos e astroglia (47,48), e está elevada durante episódios depressivos maiores e diminuída após tratamento bem-sucedido (49). De acordo com um estudo anterior, descobrimos que os níveis séricos de S100B eram mais baixos na FM do que nas condições de dor crônica com danos estruturais significativos (por exemplo, osteoartrite e endometriose). Em contraste, os níveis séricos de BDNF foram maiores na dor crônica com dano tecidual escasso (por exemplo, FM, cefaleia tensional crônica e dor miofascial) (50). Além disso, a disfunção no SMDD foi mais significativa na dor crônica com lesão tecidual escassa (por exemplo, FM) em comparação com a osteoartrite (51).

O tratamento da FM é desafiador e tão complexo quanto a própria doença. Envolve uma abordagem multimodal intensa, com psicoterapia, atividade física aeróbica e alongamentos, e medidas farmacológicas sintomáticas, como analgésicos simples, bem como medicamentos utilizados com o intuito de agir na gênese da doença – antidepressivos e anticonvulsivantes. A adesão do paciente à terapêutica é igualmente desafiadora, visto que a condição é crônica e usualmente os objetivos do paciente frente ao tratamento diferem do considerado como resposta terapêutica (38). As evidências mais fortes recomendam o uso de antidepressivos tricíclicos e duais, com menor efeito para os inibidores seletivos da recaptação da serotonina. Uma das principais justificativas bioquímicas para o uso dos tricíclicos está no seu efeito no SMDD da dor. O efeito desses fármacos é considerado moderado. Em relação aos anticonvulsivantes, apenas gabapentina e pregabalina possuem alguma ação no tratamento dessa condição. Entre as técnicas não farmacológicas, a estimulação transcraniana de corrente contínua (ETCC) tem demonstrado resultados promissores (52–54). Frente à complexidade dos processos fisiopatológicos e à variabilidade da resposta aos tratamentos, é importante que se investigue o potencial de marcadores relacionados a áreas envolvidas no processamento da dor

e ao SMDD, uma vez que pacientes onde esse sistema é disfuncional apresentam maior gravidade clínica e refratariedade terapêutica.

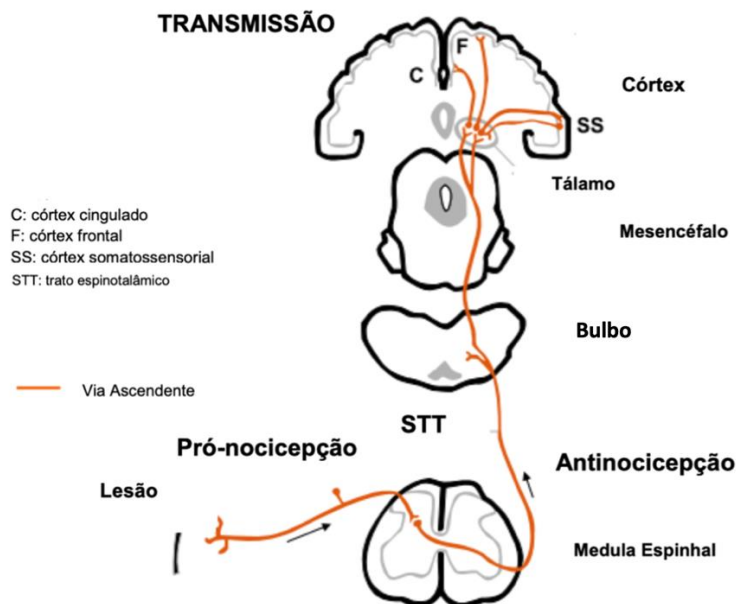
2.3 MECANISMOS CENTRAIS DA DOR E O SISTEMA MODULATÓRIO DESCENDENTE

O conjunto de estruturas ativadas por um estímulo doloroso chama-se neuromatriz da dor. Esse conceito baseia-se na definição desenvolvida por Ronald Melzack, que propôs que as sensações de cada área do corpo seguem uma rede neural definida e atingem diversas áreas cerebrais específicas. O desenvolvimento desse conceito representou um avanço importante, visto que anteriormente fenômenos cognitivos e emocionais associados à dor eram entendidos como reações, e não como componentes dela. Em 1968, Melzack & Casey abordaram as interrelações das dimensões sensoriais, afetivas e cognitivas da dor, o que favoreceu a compreensão do seu aspecto multidimensional. Técnicas de estudo funcional, como a tomografia por emissão de pósitrons, permitiram a visualização das áreas relacionadas à dor e corroboraram a existência da neuromatriz da dor (55,56). Neste capítulo, descreveremos de forma sucinta os mecanismos centrais para o entendimento da neurofisiologia e patogênese da dor crônica.

Quando o estímulo atinge o limiar de dor, ativa terminações nervosas denominadas nociceptores. A sequência de eventos para o processamento do estímulo nociceptivo engloba quatro momentos: transdução, transmissão, modulação e percepção. A transdução ocorre pela ativação dos terminais nociceptivos, divididos entre receptores mecânicos, térmicos ou químicos (57). Após a transdução, ocorre a transmissão pelos axônios do primeiro neurônio no gânglio da raiz dorsal que se conecta ao segundo neurônio no corno dorsal da medula, onde fazem sinapse com neurônios das lâminas II e IV. As fibras A- δ transmitem o estímulo com mais velocidade, sendo responsáveis pela “primeira dor”, aguda e bem localizada, enquanto as fibras C conduzem a dor caracterizada como segunda dor (dor dolente), descrita como sensação de queimação ou ardência (57). As fibras A- α e A- β são mielinizadas e grossas, caracterizadas por condução rápida de estímulos com baixo limiar, não nociceptivos, como o tato e propriocepção, e, apesar de não estarem envolvidas na percepção nociceptiva da dor fisiológica, em condições de dor patológica como na dor crônica, podem ser recrutadas e passam a transmitir sinais percebidos como dor, como ocorre no fenômeno da alodinia (58). As vias do sistema espinotalâmico conectam o segundo com o terceiro neurônio, que se localiza no tálamo.

A via neoespinotalâmica é mais veloz e formada a partir de neurônios da lâmina I e II do corno dorsal da medula, conduzindo estímulos nociceptivos aos núcleos talâmicos ventral posterior e lateral posterior. Por fim, o estímulo é transmitido ao quarto neurônio no córtex somatossensorial primário (do inglês, *primary somatosensorial cortex* [PSC, ou S1]), onde ocorre o processamento das informações nociceptivas manifestas como dor, com definição da área da dor e da sua intensidade (55,59). A via paleoespinotalâmica, também conhecida como espinoreticular, é formada por neurônios da camada V e transmite a informação ao núcleo reticular, hipotálamo e tálamo medial, com projeções para o córtex pré-frontal (do inglês, *prefrontal cortex* [PFC]), giro do cíngulo, opérculo parietal medial e ínsula (INS). O processamento dentro desse sistema complexo define a percepção do estímulo, que recebe codificação emocional e cognitiva da sensação dolorosa (57). A Figura 2 ilustra as principais vias de transmissão da dor.

Figura 2 - Representação das vias de transmissão da dor



Adaptado de Hoffman, Harrington, Fields (60)

No corno dorsal da medula, o estímulo sofre a ação de elementos centrais, de natureza excitatória e inibitória, concomitantes e concorrentes, modulando a passagem do estímulo nociceptivo do primeiro neurônio para o segundo neurônio (61). O entendimento dos

componentes dessa modulação, conhecida como SMDD, é fundamental para a compreensão dos mecanismos centrais da dor. Quando íntegras, essas vias podem ativar interneurônios inibitórios do corno dorsal e bloquear a transmissão do estímulo, atuando concomitantemente junto ao processo de transmissão ascendente da dor. Fazem parte desse sistema vias opioidérgicas, serotoninérgicas, noradrenérgicas e gabaérgicas (50). Os principais componentes desse sistema parecem estar no tronco cerebral.

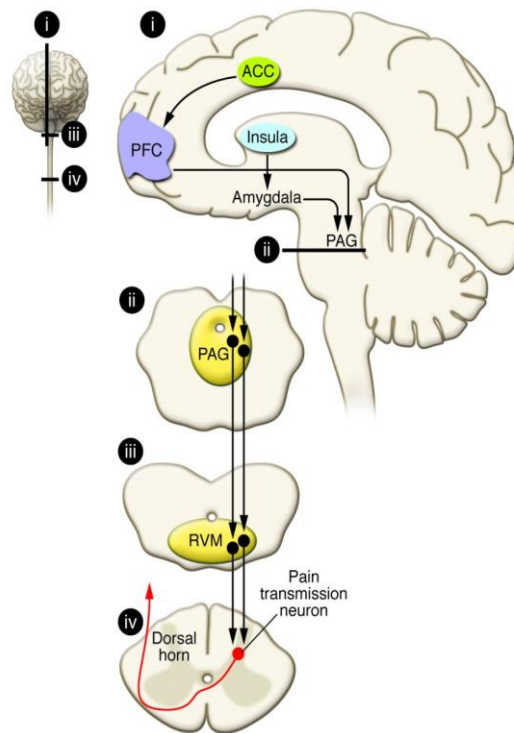
A PAG é a primeira região cerebral que ativa o SMDD, ao receber estímulos de centros cerebrais superiores, como a região ventrolateral do córtex frontal, ACC, ínsula posterior (pINS), amígdala e córtex motor primário (M1) (9,20,62), mediante o envolvimento dos neurotransmissores noradrenalina (NA) e serotonina (5-HT). Após, as vias se associam ao RVM, especificamente, o núcleo magno da rafe (NMR) (61), que encaminha fibras serotoninérgicas e noradrenérgicas, via funículo dorsolateral, para o corno dorsal da medula espinal (lâminas I, II e V), resultando em inibição dos neurônios nociceptivos, dos interneurônios e dos tratos ascendentes espinotalâmico, espinoreticular e espinomesencefálico (56). Essas estruturas exercem influências tanto excitatórias quanto inibitórias (63). A PAG é também considerada como fonte de *inputs* nociceptivos de inibição, mediados por opioides, que se conecta ao núcleo parabraquial, além de receber informações de regiões corticais como ACC, que provavelmente se relaciona à inibição endógena *top down* ou descendente (63). A PAG envia projeções para núcleos pontinos noradrenérgicos e para o RVM, resultando em inibição em nível espinal através da liberação de norepinefrina e serotonina (64).

O RVM se comunica com o LC, que é o maior produtor de NA do SNC (65), e com o tálamo (que também envia informações à amígdala), sendo considerado o sítio final da modulação descendente dos *inputs* nociceptivos (63). Além disso, a modulação da dor resulta de um equilíbrio dinâmico entre inibição e facilitação, que é influenciada por fatores *bottom up* (ascendente), como sistema imune e fatores químicos, e *top down* (descendente), como hipervigilância, catastrofização da dor, depressão e ansiedade (66). Ademais, a percepção da dor estaria relacionada à maior ativação de áreas associadas a aspectos afetivos do processamento da dor, como INS contralateral, PFC e tálamo, no sexo feminino, o que promoveria sua maior percepção (67). Embora se suponha que os efeitos inibitórios típicos sejam mediados por uma alça espinobulboespinal, ou seja, PAG e RVM, evidências sugerem que regiões cerebrais adicionais estão associadas à eficiência do SMDD. Estudos de neuroimagem em indivíduos saudáveis demonstraram relações entre a eficiência do CPM e a

conectividade funcional em estado de repouso (rsFC) de pontos de referência moduladores da dor, por exemplo, o ACC e o córtex PFC (68).

A Figura 3, adaptada do artigo *Central Modulation of Pain* (62), demonstra o estímulo chegando ao corno dorsal da medula pelo aferente primário e ascendendo para o tálamo e áreas corticais após enviar informações para o núcleo dorsal reticular, RVM, LC e PAG. Em suma, a PAG apresenta conexões diretas e indiretas com os componentes somatossensoriais e afetivo-atencionais da dor (3,69,70), assim como com projeções descendentes para os neurônios do corno dorsal espinal para modular as informações de transmissão da dor (71).

Figura 3 - Sistema modulatório descendente da dor



Adaptado de Ossipov Dussor, Porreca (71)

ACC: córtex cingulado anterior; PFC: córtex pré-frontal; PAG: substância cinzenta periaquedutal;
RVM: bulbo rostroventral medial.

Diversos estudos com neuroimagem demonstraram que a neuromatriz da dor apresenta essencialmente dois componentes principais, o sistema lateral e o medial. O sistema lateral está associado com o aspecto sensório-discriminativo da dor, sendo formado pelo núcleo lateral do tálamo, PSC, córtex somatossensorial secundário (S2) e pINS. O sistema medial está associado com o aspecto afetivo-emocional da dor e inclui o núcleo medial do tálamo, o ACC, a ínsula

anterior (aINS) e o PFC. Além disso, outras áreas, como a amígdala, giro pré-central, área motora suplementar, cerebelo, opérculo, lobo parietal inferior, giro temporal superior e córtices de associação parietal também foram identificadas na literatura, com frequência variável, como associadas ao processamento do estímulo doloroso (72,73). Outro componente fundamental da neuromatriz da dor é a memória da dor. Ela envolve a ativação do córtex frontal, cíngulo perigenual, pré-frontal anterolateral e temporal. Observa-se sua existência quando há sensação subjetiva de dor ao ver outra pessoa em sofrimento; estudos de neuroimagem mostram ativação dessas áreas sem o envolvimento das áreas anteriormente descritas (59).

2.4 SÍNDROME DE SENSIBILIZAÇÃO CENTRAL

A SSC refere-se, basicamente, à amplificação da dor pelo sistema nervoso central, decorrente de alterações neuroplásticas e maladaptativas que promovem desequilíbrio entre facilitação e inibição da dor, acarretando aumento na percepção do estímulo algico, hiperalgesia secundária e alodínea (74). A SSC caracteriza-se por sintomas incapacitantes, como dor e fadiga, na ausência de patologia evidente, e inclui a FM, síndrome da fadiga crônica, síndrome do intestino irritável, vulvodínea, desordens da articulação temporomandibular, entre outras (75). Apesar das diferenças descritivas entre esses transtornos, há muita semelhança epidemiológica entre eles, incluindo predominância do sexo feminino, aumento de comorbidade médica e psiquiátrica concomitante e impacto na qualidade de vida relacionada à saúde.

A SC foi classicamente descrita como consequência de estímulos contínuos nociceptivos no corno dorsal da medula que, progressivamente, até áreas mais centrais do sistema nervoso, acarretava disfunção entre sinapses glutamatérgicas (excitatórias) e gabaérgicas (inibitórias) (76). Os aferentes primários, constantemente ativados, secretam glutamato de forma contínua no corno dorsal da medula associado à substância P, a qual diminui o limiar de ativação do neurônio de segunda ordem ou de projeção. A existência de glutamato em associação à substância P permite a abertura de canais n-metil-d-aspartato (NMDA) de glutamato, que originalmente se encontram fechados através do íon magnésio (77). Com a remoção do magnésio, há influxo de cálcio na célula e uma forma de ativação muito mais intensa do que a clássica despolarização através do simples influxo de sódio. O cálcio também ativa receptores do tipo NK1 e mGlut, além de fosforilar canais de membrana, promovendo transcrição de proteínas no núcleo neuronal e a produção de mais NO e prostaglandinas, e assim,

novamente, a retroalimentação positiva do sistema (71). As moléculas de NO e de prostaglandinas saem da célula e difundem-se para o meio extracelular, ativando outras sinapses vizinhas e aumentando a área receptiva do estímulo álgico – hiperalgesia. Indivíduos com SC apresentam alterações neuroquímicas, incluindo níveis aumentados de neurotransmissores excitatórios (por exemplo, glutamato) e níveis diminuídos de neurotransmissores inibitórios (por exemplo, ácido γ -aminobutírico) na INS (78).

As células da glia micróglia e macróglia (subdividida em oligodendróglia, ependimóglia e astróglia) são fundamentais na manutenção dos processos de dor crônica. A ativação dessas células promove a liberação de outros mediadores de inflamação, que sensibilizam ainda mais os neurônios de segunda ordem e colaboram com a apoptose dos interneurônios inibitórios (79). A estimulação frequente, porém, não sincrônica, nociceptiva leva ao aumento da resposta das fibras Ad e C através da liberação de glutamato, aspartato, peptídios e neurotrofinas no curso dorsal a medula, fenômeno conhecido como potenciação homossináptica. Causa também ativação de eferentes não estimulados e normalmente não envolvidos na dor, como as fibras Ab, levando a potenciação heterossináptica. Esse é o processo clássico de sensibilização sináptica. Há envolvimento de segundos mensageiros, proteína quinase e várias outras substâncias que irão fazer com que ocorra o influxo de cálcio na célula e, assim, produção de NO e prostaglandinas, liberação de glutamato, substância P e CGRP, ampliando ainda mais o processo álgico (79).

Nos neurônios pós-sinápticos medulares (segunda ordem), que estão com seus terminais embebidos por diversos neurotransmissores excitatórios (entre eles o glutamato, substância P e neurocicina), há ativação de proteína G e fosforilação de proteínas C. Essas liberam cálcio que estava armazenado dentro do próprio neurônio, estimulam produção de diacilglicerol e ativam proteínas que modulam a atividade de canais iônicos. Dessa forma, há mais receptores NMDA na fenda sináptica e ainda maior resposta aos estímulos excitatórios (62,80). Com a repetição do estímulo de baixa frequência por tempo prolongado, há somação de potenciais sinápticos evidenciada pelo aumento da eficácia sináptica e pela diminuição do limiar de ativação neuronal. A remoção do bloqueio voltagem-dependente do magnésio nos receptores NMDA está envolvida novamente nesse tipo de CS que acontece em neurônio WDR das fibras C (77,79). Clinicamente, esse fenômeno é observado em sintomas como alodínea e hiperalgesia.

Estímulos nociceptivos breves e de alta frequência oportunizam o surgimento de outro tipo de CS, a potenciação de longa duração. Os principais receptores envolvidos nesse processo são o AMPA e NK1. A resposta pós-sináptica é prolongada. As mesmas cascatas intracelulares da sensibilização sináptica clássica são ativadas, porém com o adendo da formação de genes *c-fos*, *c-jun*, enzimas COX-2 e genes de resposta lenta para pró-dinorfina e receptores NK1 e *trkB* (62).

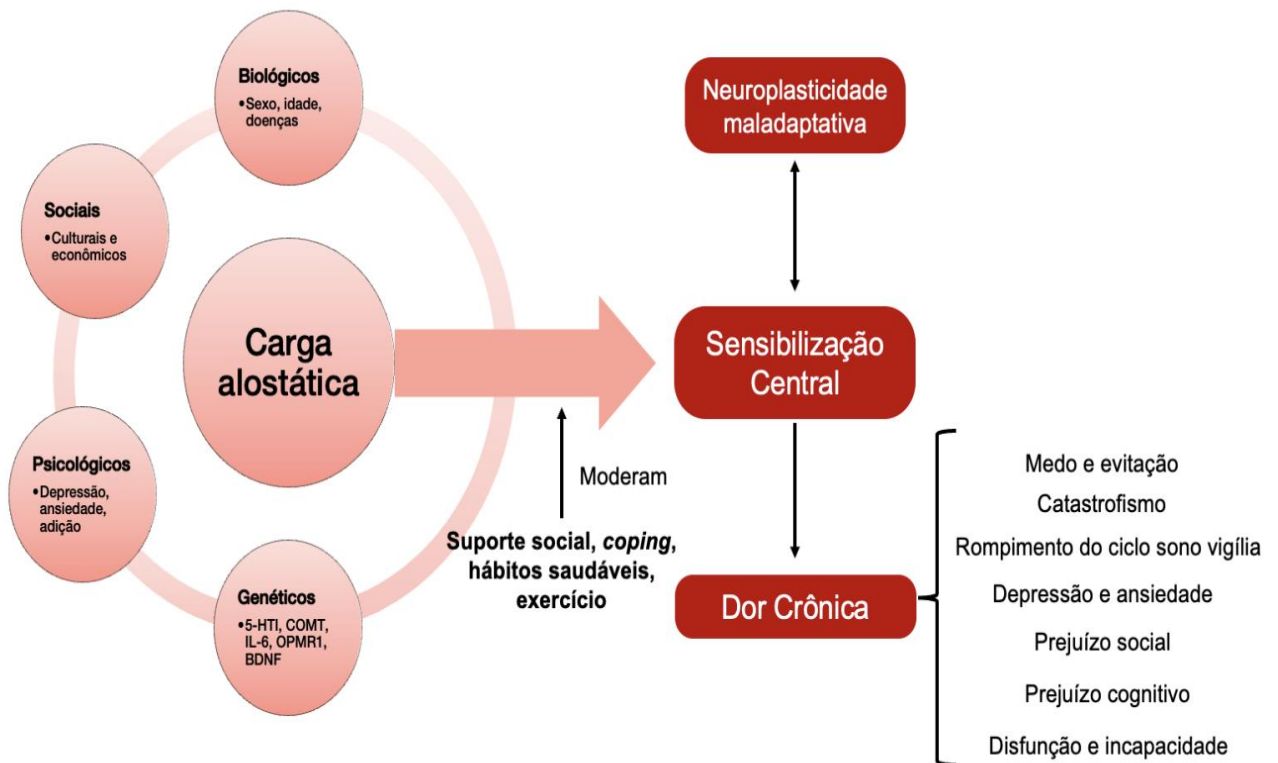
Apesar dos mecanismos de SC acima serem bastante estabelecidos, cada vez mais se reconhece que a SC pode ocorrer independentemente de lesão ou inflamação periférica e reflete a plasticidade das vias nociceptivas centrais, incluindo os componentes da neuromatriz da dor e do SMDD (74). Postula-se que existam diferenças neurobiológicas entre pacientes com dor crônica com mecanismos centrais de dor *top-down*, onde está presente uma sensibilidade aumentada a uma variedade de estímulos sensoriais dolorosos e não dolorosos, e aqueles com mecanismos de dor central *bottom-up*, tradicionalmente referidos como SC, onde apenas o processamento da dor pode ser aumentado. Isso é apoiado pelo fato de estudos de imagem funcional demonstrarem que a INS, que também desempenha um papel na integração multissensorial, é mais ativada na maioria dos indivíduos com SC *top-down* (74). Entre as síndromes relacionadas à SSC decorrentes de evento *top-down* encontram-se a FM, síndrome de fadiga crônica, síndrome do intestino irritável, desordens da articulação temporomandibular e síndrome de vulvodínea (75).

De forma geral, indivíduos com SSC apresentam maior ativação das áreas corticais relacionadas à neuromatriz da dor, e uma menor ativação naquelas relacionadas ao SMDD. Contudo, esses achados não são unânimes na literatura e diferem entre as síndromes de SC *top-down* acima descritas (26). Eventualmente, a cronificação dos quadros de SSC leva a um processo de neurodegeneração (81). Além disso, diversos fatores afetam as áreas de ativação da neuromatriz da dor, sendo um deles o gênero. Há evidências de diminuição da ativação nos córtices S1, parietal e INS em mulheres em comparação aos homens, enquanto mulheres exibiram respostas mais fortes no ACC. Sugere-se, portanto, que o processamento de estímulos dolorosos antecipados e experimentados é mais forte nas mulheres, em comparação com os homens (82).

Experimentalmente, a SSC pode ser avaliada através do questionário Inventário de Sensibilização Central (*Brazilian Portuguese Central Sensitization Inventory*), onde escores mais altos são indicativos de sintomas graves. O questionário possui 25 itens e um escore total

que varia de 0 a 100, avaliando a presença de sintomas físicos, sofrimento emocional, cefaleia e sintomas urológicos. A parte B do teste avalia distúrbios psiquiátricos e neurológicos relacionados à SC (83). A Figura 4 sumariza a integração dos conceitos de carga alostática, SC e neuroplasticidade maladaptativa.

Figura 4 -Carga alostática, sensibilização central e neuroplasticidade maladaptativa



Fonte: Elaboração própria

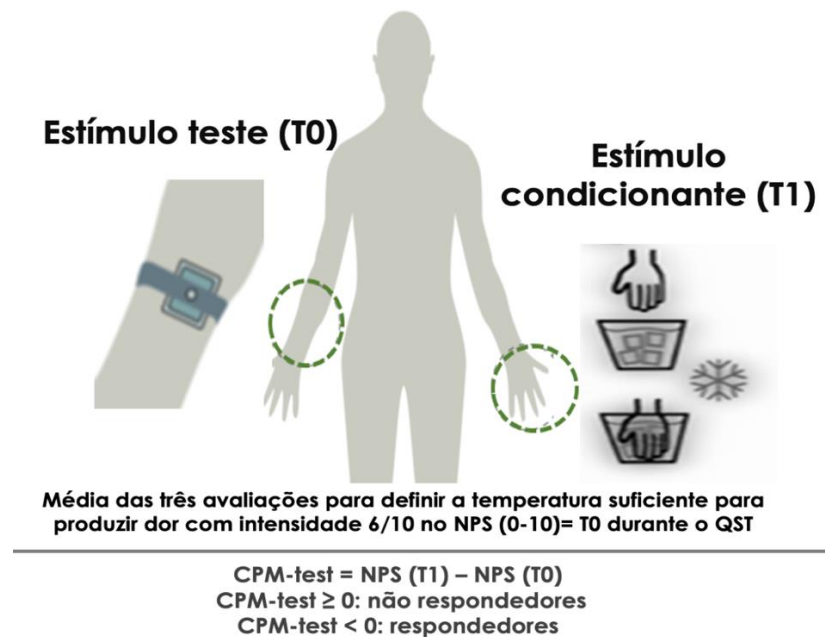
2.5 TESTE/TAREFA DE MODULAÇÃO CONDICIONADA DA DOR (TESTE CPM)

Experimentalmente, a modulação inibitória descendente pode ser avaliada por meio do paradigma “dor inibe dor” ou “contrairritação”, em que a intensidade de um estímulo doloroso é reduzida por um segundo estímulo doloroso (84). Tem-se um estímulo teste (ET), chamado de fásico, e um estímulo condicionante (EC), denominado tônico, que será usado como indutor de mudanças na percepção da dor (85,86), com ativação das fibras nociceptivas A δ e/ou C (87). Para seres humanos, o fenômeno pelo qual o EC afeta o ET recebeu a denominação CPM (88), dado o envolvimento de correlatos comportamentais (84). A CPM é estudada pela mensuração da dor percebida por um breve ET que pode ser aplicado, antes, durante ou após o EC em outra região do corpo. Quando há redução da intensidade da dor percebida no ET, mediante o estímulo heterotópico (contralateral) doloroso condicionante,

considera-se que houve ativação do SMDD. Quanto maior a supressão da dor percebida no ET, mais eficiente será considerada a CPM (89,90).

Durante o teste CPM, coloca-se um termodo de contato computadorizado baseado em Peltier ($30 \times 30 \text{ mm}^2$) fixado à pele (91) na face volar do antebraço não dominante, e são realizadas três avaliações do teste sensorio-quantitativo (do inglês, *quantitative sensory testing*, QST) com um intervalo interestímulo de 40 segundos. Em primeiro lugar, registra-se a temperatura do local do termodo para as pontuações relatadas pelos pacientes de 6/10 (NPS, 0-10) pelo QST. Assim, a temperatura utilizada no estímulo de teste foi calculada como a temperatura média (T_0). Em segundo lugar, realiza-se um teste de pressão a frio (do inglês, *cold pressure test* [CPT]), no qual os sujeitos imergem a mão dominante na água a uma temperatura em torno de 1°C . O QST é introduzido 30 segundos após as mãos estarem na água fria, e avalia-se o escore de dor na escala de dor neuropática (do inglês, *neuropathic pain scale*, NPS) (0-10) na área do termodo (T_1). Em terceiro lugar, o índice do teste CPM é calculado, consistindo na diferença entre a pontuação de dor no NPS (0-10) durante o CPT (QST + CPM) (T_1) na temperatura que os indivíduos relataram uma dor de 6/10 no NPS (T_0). Os não respondedores têm uma diferença na contagem do NPS (T_1 menos T_0) igual a zero ou superior, enquanto os respondedores têm abaixo de zero (91) (Figura 5). A magnitude do efeito CPM depende da modalidade sensorial usada para entregar o condicionamento, estímulos de teste e a área do corpo testada (92). De acordo com uma metanálise, o teste CPM com estímulo de teste térmico mostrou confiabilidade para repetibilidade por um coeficiente de correlação intraclassa variando de regular a excelente (ICC 5 0,53; ICC 5 0,64; e ICC 5 0,83) (94). O teste CPM tem sido proposto como um fator prognóstico confiável em estudos experimentais e clínicos de dor (93). Pacientes com FM podem apresentar um efeito da CPM menos eficiente, o que sugere um perfil pró-nociceptivo em comparação a pessoas híginas. Adicionalmente, o consumo de medicamentos para dor pode gerar resistência à avaliação psicofísica da CPM (94).

Figura 5 - Ilustração do teste de modulação condicionada da dor



Fonte: Elaboração própria

2.6 CONECTIVIDADE CEREBRAL

A matriz de conexão do cérebro humano representa um alicerce na pesquisa neurobiológica aplicada. No entanto, a rede de conexões anatômicas que ligam os elementos neuronais do cérebro humano continua em grande parte desconhecida (95). Tendo conhecimento de que sensações oriundas de estímulos diferentes e em áreas diferentes do corpo são processadas de forma diferente no SNC, iniciaram-se estudos sobre as relações das diversas áreas que processam esses estímulos e de que forma elas estão integradas. O padrão de conectividade é formado, então, pelas ligações estruturais, como sinapses ou vias formadas por axônios, e representa relações estatísticas ou causais medidas como relações cruzadas, coerência ou fluxo de informações. O seu estudo é crucial para a elucidação de como os neurônios e redes neuronais processam a informação (96).

A conectividade cerebral pode ser subdividida genericamente em dois grupos: estrutural e funcional. A conectividade estrutural (também chamada de anatômica) se refere à presença ou ausência de tratos de substância branca entre grupos de populações neuronais e pode ser avaliada através da ressonância magnética (RM) com técnica de tensores de difusão (do inglês, *diffusion tensor imaging*, DTI). A principal ferramenta da DTI é a medida da

anisotropia fracionada (do inglês, *fractional anisotropy* [FA]), um indicador de mielinização e de coerência dos tratos de substância branca, sendo que maiores valores de FA indicam maior coerência e integridade da substância branca (97,98). Contudo, poucos estudos demonstram resultados promissores no contexto da dor crônica e FM, possivelmente pela complexidade das conexões envolvidas na fisiopatogênese da dor crônica envolverem estruturas subcorticais, núcleos do tronco encefálico (tratos muito pequenos de substância branca) e áreas não estruturalmente conectadas (74,99). A outra forma de conectividade cerebral é a funcional, que descreve a relação temporal entre sinais de áreas espacialmente distintas no cérebro, avaliando a correlação temporal do sinal BOLD (*blood oxygenation level dependent*) extraído de cada um dos pares de regiões que estão sendo estudados. A conectividade pode ser o resultado de uma conexão anatômica direta ou indireta (100), através de uma região mediadora, ou pode não ter nenhum correlato anatômico conhecido. Sua importância em estudos de dor crônica é decorrente da influência tanto de vias corticoespinais diretas, por exemplo, ACC (101) e M1(102) e o PSC (103), e vias corticoespinais indiretas, por exemplo, amígdala-pré-frontal-PAG (104), na modulação da dor. A rs-fMRI é uma das técnicas mais empregadas para a avaliação da conectividade funcional (105,106).

2.7 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL E A AVALIAÇÃO EM ESTADO DE REPOUSO (RS-FMRI)

A fMRI é amplamente utilizada para o mapeamento temporoespacial da atividade neural em diferentes condições cognitivas (107). Clinicamente, a fMRI é consagrada no auxílio do planejamento neurocirúrgico e radioterápico; contudo, o número de estudos utilizando fMRI com aplicações diversas em neurociências têm crescido substancialmente, permitindo uma melhor caracterização, tanto quantitativa quanto qualitativa, de mecanismos cerebrais complexos, como a percepção, as emoções, o comportamento e a dor.

A fMRI é baseada no efeito BOLD, ou dependência no nível de oxigenação do sangue (108). Quando uma região específica do córtex aumenta sua atividade, a fração de extração de oxigênio dos capilares locais leva a uma queda inicial da hemoglobina oxigenada (oxi-hemoglobina) e um aumento no dióxido de carbono local e na hemoglobina desoxigenada (deoxi-hemoglobina). Após um atraso de 2-6 segundos, o fluxo sanguíneo cerebral aumenta, proporcionando um excedente de hemoglobina oxigenada e removendo a deoxi-hemoglobina, aumentando a relação oxi/deoxi-hemoglobina na região. A fMRI é capaz de detectar essa

alteração devido a uma diferença nas propriedades paramagnéticas da oxi e deoxi-hemoglobinas. A hemoglobina desoxigenada é paramagnética, enquanto a hemoglobina oxigenada não é. Logo, com a redução na proporção de deoxi-hemoglobina, o tempo T2 local torna-se maior, causando incremento no sinal de fMRI, principalmente evidenciado em sequências ponderadas em T2*, produzindo a função de resposta hemodinâmica (109,110).

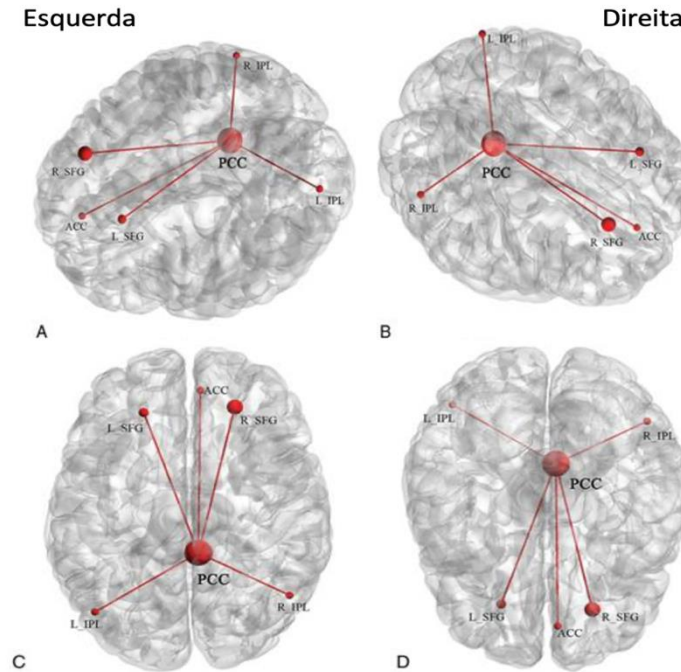
A técnica de fMRI apresenta algumas limitações, com destaque para: o fluxo sanguíneo cerebral é apenas um marcador indireto de atividade; o atraso de 2-6 segundos na resposta hemodinâmica; a menor unidade de cérebro que consegue ter seu fluxo sanguíneo regulado individualmente é na ordem dos milímetros de diâmetro; as sequências de T2* são suscetíveis a não homogeneidade do campo devido à interface osso-ar, hemossiderina/produtos sanguíneos, fluxo rápido em grandes veias e metal; como a mudança detectada é pequena (1-5%), mesmo pequenos artefatos de movimento podem degradar a imagem (109). Contudo, a fMRI fornece um método sensível, preciso e indolor para o mapeamento de funções cerebrais, tendo aplicabilidades significativas em neurociências (110,111).

Entre as técnicas utilizadas na fMRI, destacam-se a técnica através de paradigmas que utilizam tarefas e/ou estímulos para avaliar a diferença relativa do efeito BOLD na região cerebral de interesse (*region of interest*, ROI) e a técnica em estado de repouso (rs-fMRI) que avalia as flutuações cerebrais espontâneas de baixa frequência (< 0.1 Hz) no efeito BOLD em regiões de interesse sem a utilização de estímulos ou tarefas. A CFI se refere a modelos computacionais que buscam estimar a dinâmica da comunicação e dependência funcional de diferentes regiões cerebrais (112), tentando mimetizar a organização e o funcionamento neuroanatômico cerebral, seja em estado de repouso ou durante uma tarefa cognitiva (113). Elas são aplicáveis tanto para sistema com lesão estrutural (por exemplo, doenças neurológicas) ou sem (por exemplo, doenças psiquiátricas ou dores crônicas, como a FM) (114). A rs-fMRI é a técnica eleita para avaliação da CFI, pois investiga a ativação sincrônica de regiões espacialmente distintas para identificar as conexões em estado de repouso (*resting-state networks*, RSNs). Uma vez que é não invasiva e não requer a cooperação do paciente, a rs-fMRI pode ser particularmente útil em pacientes que não conseguem colaborar durante realização de tarefas (23). Ademais, tem sido sugerido que essa técnica é ainda mais promissora que outras técnicas de fMRI para avaliação de dor crônica (24).

Existem várias maneiras de analisar dados de rs-fMRI, e cada abordagem tem implicações sobre quais informações podem ser extraídas dos dados. Contudo, dado o volume

massivo de informações adquiridas, antes de analisar os dados, deve-se realizar etapas de pré-processamento, que serão descritas aqui, de forma sumária (108,115): realinhamento e remoção de artefatos de confusão (por exemplo, movimento da cabeça, sinal do líquido), remoção dos primeiros 10 a 20 pontos de tempo, tempo de corte, normalização, filtragem de passagem de banda e suavização. Vários pacotes de *software*, incluindo a caixa de ferramentas CONN (<https://www.nitrc.org/projetos/con/>) (116), são comumente usados para analisar dados de rs-fMRI (114). *Pipelines* (117), sequências específicas de comandos utilizando aplicativos específicos para cada momento do processamento das imagens, também foram desenvolvidos para analisar dados quase automaticamente, o que torna a análise mais fácil para não especialistas. As abordagens analíticas podem ser amplamente divididas em dois tipos: segregação e integração funcional (114). A segregação funcional concentra-se na função local de regiões específicas do cérebro, e é usada principalmente para mapeamento cerebral. A integração funcional concentra-se nas relações funcionais ou conectividade entre diferentes áreas do cérebro e avalia o cérebro como uma rede integrada, a partir da análise da conectividade (114). Entre as técnicas de integração funcional merece destaque a análise baseada em correlação de sementes (*seed-based correlation analysis*, SCA) (23), também chamada de ROI (*based functional connectivity*), que avalia regiões encefálicas correlacionadas com a atividade em uma região específica cerebral (semente, *seed*). A sincronia (medida pela correlação do sinal BOLD de duas regiões distintas no tempo – sincronia das séries temporais do sinal BOLD) entre diferentes áreas cerebrais indica que elas estão envolvidas no mesmo processo funcional subjacente, portanto, interpretadas como funcionalmente conectadas. A conectividade pode, então, ser visualizada usando uma matriz, mostrando a força (indicada pela intensidade da correlação entre as duas séries temporais do sinal BOLD extraído de cada região em estudo) de todas as conexões entre as regiões de sementes dentro do cérebro (114). Neste estudo, utilizamos a técnica de SCA e elegemos como sementes aquelas áreas principalmente envolvidas na neuromatriz da dor e no SMD: PAG, PSC, córtex somatossensorial secundário, M1, PFC dorsolateral, PFC medial, INS, ACC, tálamo (núcleos ventrolateral e mediodorsal), núcleo *accumbens*, hipocampo e amígdala. A Figura 6 demonstra a SCA, conforme Lv *et al.* (114).

Figura 6 - Mapas cerebrais com a representação espacial do grupo dos resultados de um estudo de conectividade funcional baseado em sementes.



Adaptado de Lv *et al.* (114)

O córtex cingulado posterior foi definido como semente, os demais pontos em vermelho representam áreas cerebrais e as linhas representam conectividade funcional. A: vista à esquerda do hemisfério esquerdo. B: vista à direita do hemisfério direito. C: vista superior. D: vista inferior. PCC: córtex cingulado posterior; ACC: córtex cingulado anterior; SFG: giro frontal superior; LIP: lóbulo parietal inferior.

Diversas patologias neuropsiquiátricas apresentam organizações corticais anormais, como a esquizofrenia, doença de Alzheimer, depressão, déficit de atenção, hiperatividade, transtornos alimentares etc. (118). Se os achados da conectividade cerebral estiverem correlacionados com a condição de dor crônica poderão servir como marcador biológico e, conseqüentemente, abrir a possibilidade de incluir a CFI como parâmetro de diagnóstico e de resposta terapêutica. Assim, este estudo é relevante para compreender a rede funcional formada pelos neurônios no cérebro em nível da macroescala.

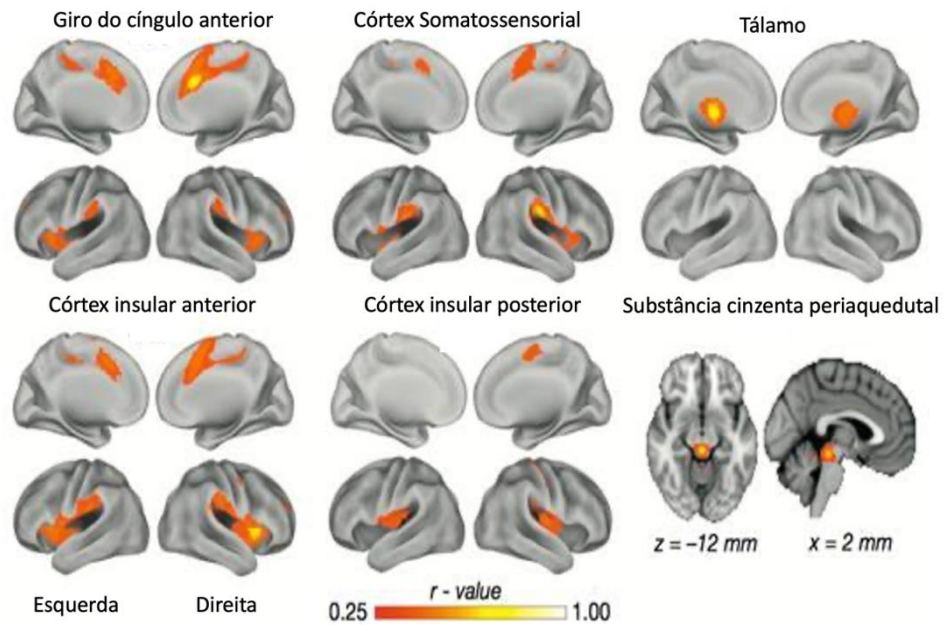
2.8 NEUROIMAGEM FUNCIONAL E A FISIOPATOLOGIA DA DOR CRÔNICA

A falta de anormalidades teciduais consistentes em pacientes com FM tem, cada vez mais, deslocado o foco de fatores periféricos para alterações do SNC, incluindo a SSC e também a facilitação e inibição de dor aberrante (119). Para tais caracterizações, imagens cerebrais funcionais estão sendo utilizadas no entendimento do processamento anormal da dor nestas pacientes (70,120,121). Neste capítulo, revisaremos de forma sucinta a neuroimagem funcional da dor em pacientes saudáveis e, subsequentemente, em pacientes com dor crônica, destacando-se a FM, suas associações com os sintomas clínicos e potenciais marcadores terapêuticos.

Estudos de fMRI demonstram que a atividade neuronal nas áreas da dor já pode ser observada em neonatos, e que a maior conectividade funcional nas áreas relacionadas ao SMDD antes do estímulo doloroso nesta idade foi associada a menor atividade cerebral dolorosa evocada (122). Em indivíduos adultos saudáveis, a maior inibição da dor relacionou-se com maior volume dos córtex frontais esquerdos e maior conectividade entre o córtex motor e a PAG, enquanto a menor inibição relacionou-se à maior conectividade entre S1 e o córtex frontal direito e entre a amígdala e pINS (68). Em indivíduos saudáveis, a maior inibição da dor se relacionou à maior conectividade entre a PAG e a ponte (123) e entre as regiões pré-frontais, o PCC e o ACC (124). No geral, indivíduos saudáveis apresentaram maior volume e conectividade nas regiões cerebrais envolvidas com a modulação descendente, e os sistemas lateral e medial da neuromatriz da dor se relacionam à maior inibição e facilitação da dor, respectivamente (68). Além disso, outros estudos demonstraram que a correlação negativa entre a CFI entre a PAG e a INS esquerda, o ACC e a RMV e o teste CPM (maior conectividade = maior inibição da dor) pode ser encontrada tanto em pacientes saudáveis como em pacientes com FM; contudo, no primeiro grupo, esta CFI é ainda mais intensa (125).

Em *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference* (2015), Toga demonstra um panorama das áreas mais correlacionadas ao termo dor já avaliadas em estudos com rs-fMRI (Figura 7) (126).

Figura 7 - Áreas mais correlacionadas à dor já evidenciadas em estudo de ressonância magnética funcional em estado de repouso



Adaptado de Toga (126).

Alterações da CFI têm sido observadas em diversos tipos de dor crônica, inclusive com um padrão de conectividade do tipo *default* (do inglês, *default mode network*, DMN) prejudicado (127). A DMN é uma rede de estruturas ativadas quando a mente e o corpo estão ociosos e consiste no córtex pré-frontal medial, PCC, pré-cúneo e áreas do córtex parietal. Sua disfunção em indivíduos com dor crônica pode significar comprometimento de tarefas executivas, atencionais e comportamentais que acompanham a dor crônica (128,129). Além da DMN, outra rede de repouso, a rede saliente (do inglês, *salience network* [SN]), composta pelo ACC e aINS, encontra-se disfuncional na dor crônica (128,130-132). Essas redes são particularmente importantes devido ao seu papel na hipervigilância presente na FM e se associam a déficits cognitivos específicos da memória de trabalho e de atenção (133,134), assim como processamento cognitivo e emocional (135). Dessa forma, a conectividade interrompida entre as redes e as áreas pré-motoras pode estar associada ao fenômeno de antecipação (medo do movimento) (70). Em pacientes com migrânea, foram observadas alterações na CFI em gânglios da base e córtices frontal e temporal, e houve correlação entre essas alterações, com frequência das crises, gravidade de sintomas e alodínia (120,136). Pacientes com dor crônica orofacial apresentam maior conectividade entre a PAG e o LC com outras regiões, como os

hipocampos, núcleo *accumbens* e ACC (27). A maior inibição da dor foi relacionada ao maior volume de córtex frontal esquerdo e maior CFI entre o M1 e a PAG. Por outro lado, a menor inibição da dor foi relacionada ao maior volume do córtex frontal direito e à maior CFI entre o PSC, a amígdala e a pINS (27). Outro estudo revelou que as alterações corticolímbicas, em especial, maior CFI no circuito PFC-amígdala-núcleo *accumbens* e menor volume da amígdala predispueram pacientes a desenvolver dor lombar crônica, o que não foi observado em outras regiões (137). Em suma, esses estudos reforçam que alterações estruturais e funcionais ocorrem em regiões cerebrais diversas, e, em grande parte, não primariamente relacionadas à transmissão da dor, corroborando o fato de não existir, até então, uma assinatura neuropatológica comum entre as síndromes de dor crônica e de sensibilização central (138).

Pacientes com FM apresentam redução da substância cinzenta nas áreas relacionadas ao processamento central da dor, como ACC, INS, PFC medial, PFC dorsolateral (dIPFC) e PAG, assim como em regiões relacionadas à memória, cognição e emoções, como amígdala e hipocampo (26,125). A primeira descrição de alteração na CFI em pacientes com FM (n = 18) demonstrou um aumento na CFI entre o DMN e a INS e o córtex somatossensorial secundário esquerdo. A dor no momento do exame correlacionou-se com maior CFI entre o DMN e a INS direita e entre a rede de atenção executiva e a INS bilateral (139). Em estudo recente de revisão, que comparou os principais *hubs* (redes funcionalmente integradas), entre pacientes com FM e controles saudáveis, demonstrou que os *hubs* no grupo FM foram predominantemente localizados nas redes de saliência (ínsula), somatomotora (córtices motor e sensorial primário e área motora suplementar) e auditiva (córtex temporal superior). Os *hubs* do grupo saudável, por sua vez, foram localizados predominantemente no DMN, nas redes frontoparietal e visual. Nas pacientes FM, a estrutura do *hub* foi influenciada pela intensidade da dor. Essas diferenças suportam a hipótese de haver uma reorganização funcional na FM, também chamada de neuroplasticidade maladaptativa (140).

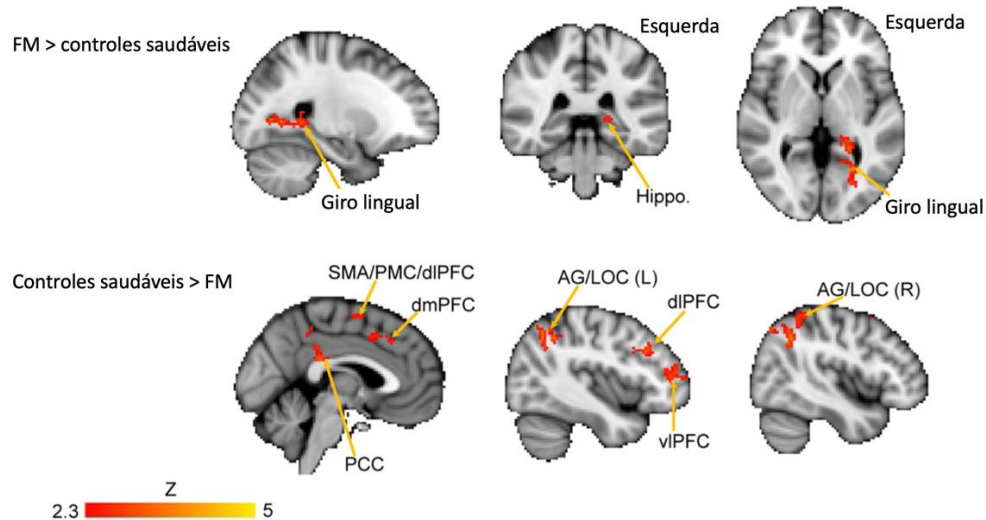
Uma revisão sistemática demonstrou que a INS e o córtex (pré-frontal e sensoriomotoral) foram as áreas mais comumente alteradas em estudos de fMRI em pacientes com FM (139,141–147), e a maior conectividade INS-córtex somatossensorial e motor primários se correlacionou com a dor clínica (140). O tálamo, a amígdala e o hipotálamo também apresentaram atividade cerebral alterada em pacientes com FM (143), reforçando a interposição entre estruturas límbicas, sensoriomotoras e vegetativas (148). De fato, estudos de

fMRI têm demonstrado como as comorbidades biopsicossociais influenciam o processamento da dor.

Em pacientes com FM com graus variáveis de depressão, as ativações da aINS, da amígdala e dos córtices pré-frontais (componentes mediais/afetivo-emocionais da neuromatriz da dor) foram correlacionadas com sintomas depressivos e com a experiência de “desagrado”, ao invés da intensidade sensorial da dor (149). No entanto, o grau de ativação neuronal em estruturas “laterais”, geralmente associado ao processamento sensorial da dor (localização e intensidade), não foi associado aos níveis de sintomas depressivos. Outros estudos demonstraram uma correlação negativa entre os sintomas depressivos e a CFI PAG-tálamo (3), e positiva entre os sintomas de ansiedade e a CFI PFC ventromedial-córtex somatossensorial (150). Isso é consistente com evidências substanciais de que a dor e o humor são processos fisiológicos independentes, mas sobrepostos (74,150). Por fim, um estudo recente demonstrou que o aumento dos escores de fadiga em pacientes com FM se correlacionou negativamente com a CFI entre o ACC e o PCC, reforçando evidências crescentes de que o SMDD se relaciona com quadros clínicos diversos, além da intensidade da dor (129).

Em estudo comparando sujeitos saudáveis com FM, Coulombe *et al.* (70) mostraram que o grupo de FM apresentou maior CFI entre a PAG e o giro lingual, PCC, cúneo, córtex retrosplenial e hipocampo, regiões envolvidas principalmente na memória espacial, orientação e navegação, mas também associadas à memória de trabalho e emoções. Indivíduos com FM também apresentaram menor CFI entre a PAG e regiões associadas a funções motoras/executivas, como as redes SN e DMN (70) (Figura 8).

Figura 8 - Regiões cerebrais com maior rs-FC com a substância cinzenta periaquedual em pacientes com fibromialgia (n = 23) em comparação com controles saudáveis (HC, n = 16)

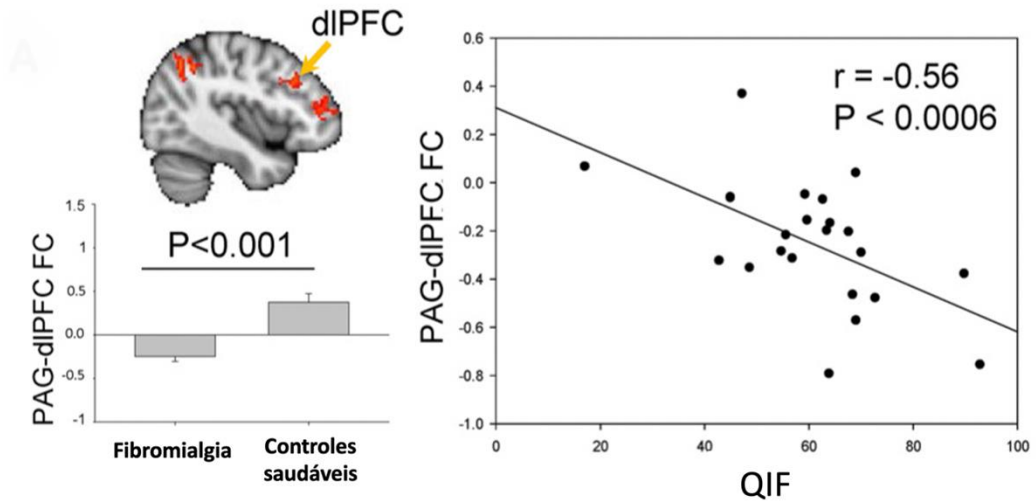


Adaptado de Coulombe *et al.* (70).

Z corrigido para FEW > 2,3; baseado em cluster $p < 0,05$. Coordenadas para fibromialgia (FM) > HC, X = 24; Y = 38, Z = 2 (mm). HC > FM, X = 2, Y = 40, Z = 44 (mm). Hipo: hipocampo; córtex do cíngulo posterior: córtex cingulado posterior; PMC: córtex pré-frontal (PFC); vIPFC: PFC ventrolateral; dIPFC: PFC dorsolateral; dmPFC: PFC dorsomedial; SMA: área motora suplementar; AG: giro angular; LOC: córtex occipital lateral.

A menor CFI entre o dIPFC e áreas motoras associativas (PMC, SMA e PFC) foi negativamente relacionada à gravidade dos sintomas de FM medidos com o questionário do impacto da FM e com o subscore de magnificação da dor (70), enquanto a maior CFI entre o dIPFC, o ACC e o PFC medial foi positivamente relacionada com a gravidade dos sintomas e o impacto da FM (151) (Figura 9). O dIPFC é uma região principal do córtex associativo frontal, envolvida na mudança do conjunto cognitivo após a integração de informações de muitas regiões, incluindo o sistema límbico. Além disso, o dIPFC é particularmente conhecido por seu papel central na memória de trabalho, manutenção de informações, processamento de sequências cronológicas e automonitoramento (70). Finalmente, sabe-se que o dIPFC está envolvido na modulação da dor (152) por meio de sua conexão com o ACC, o tálamo e a INS, e que, quando ativado, diminui a conectividade entre o mesencéfalo e o tálamo, resultando em modulação da dor descendente.

Figura 9 - Diferenças significativas de conectividade funcional intrínseca entre indivíduos com fibromialgia e controles saudáveis e sua correlação com os escores do questionário de impacto da fibromialgia

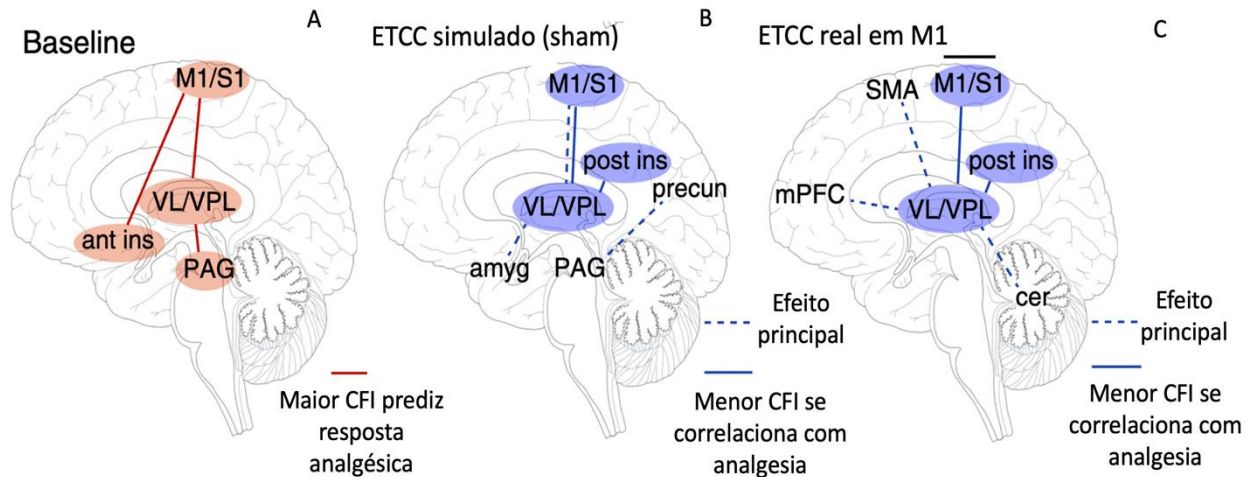


Adaptado de Coulombe *et al.* (70)

Em pacientes com FM, a conectividade da PAG foi positivamente correlacionada com a escala de catastrofização da dor (70) e com os sintomas emocionais e comportamentais da FM. Ceko *et al.* (153) demonstraram uma correlação positiva entre o catastrofismo e a CFI entre a aINS esquerda e o ACC em pacientes jovens com FM, o que não foi encontrado no subgrupo de pacientes acima dos 60 anos. Em outro estudo de fMRI com tarefa de catastrofização (154), foi demonstrado maior conectividade nos componentes do DMN, sobretudo no PCC, naquelas pacientes com escores clínicos mais severos. Napadow *et al.* (120) demonstraram que dor clínica, catastrofismo e disfunção autonômica estão intimamente relacionadas ao grau em que a dor evocada altera a conectividade do PSC com as regiões de processamento afetivo da dor. Esses achados suportam a hipótese de que o catastrofismo está associado ao aumento da ativação em áreas cerebrais envolvidas na antecipação da dor (córtex frontal medial), aspectos emocionais da dor (amígdala e claustro), atenção à dor (dIPFC e ACC) e controle motor. Paralelamente, estudos comprovam que a disfunção do SMDD também está funcionalmente conectada com áreas indiretamente relacionadas à dor, por exemplo, menor CFI em pacientes com FM no ACC, córtex pré-frontal medial e PAG (155). Recentemente, outro estudo que comparou a CFI em pacientes com FM e controles saudáveis antes e após o teste CPM demonstrou uma redução na CFI entre a rede executiva, e um aumento nas redes de atenção e sensoriomotora em FM (156).

Estudos utilizando diversas intervenções (medicamentos, acupuntura, terapia por exercícios, tai chi, ETCC e terapia cognitivo-comportamental) demonstraram mudanças relacionadas ao tratamento na CFI, a maioria das quais correlacionada com melhora nos escores clínicos (138). Outros estudos exploraram o potencial da conectividade funcional pré-tratamento para prever a resposta terapêutica (138,157). Um estudo que avaliou 15 pacientes com FM após tratamento farmacológico com milnaciprano, um inibidor da recaptação da serotonina e norepinefrina, mostrou que as reduções nos escores clínicos de dor foram associadas à diminuição da CFI entre regiões pró-nociceptivas e regiões de dor antinociceptiva, especificamente entre o ACC e a INS, e entre a PAG e a INS. Também, pacientes com menor CFI preexistente obtiveram maior redução na dor clínica (158). Ademais, as conectividades funcionais PAG-ventromedial pré-frontal (vmPFC) e PAG-RVM correlacionaram-se negativamente com o CPM (158). A CFI entre a PAG e o PFC medial e o ACC também foi modulada através de tai chi em pacientes com FM, o que se correlacionou com o escore de impacto clínico nestas pacientes (151). Esses achados são corroborados por um estudo recente, demonstrando que quando pacientes com FM se comprometem com uma tarefa cognitiva de analgesia atencional, ocorre um aumento na CFI entre o PAG e a RVM, denotando maior ativação do SMD e, conseqüentemente, redução da sensação de dor (159). Sankarasubramanian *et al.* (160) compararam o uso da ETCC em M1 e dlPFC através de rs-fMRI e demonstraram que ambas as áreas, quando estimuladas por corrente anódica, aumentam a conectividade cortical entre o tálamo ventrolateral e o S1 e entre o tálamo mediodorsal e M1. Contudo, apenas o estímulo em dlPFC modulou a conectividade cortical entre o tálamo mediodorsal e os córtices afetivos. Esses achados sugerem que a modulação da conectividade cortical em M1 ocorre primariamente por vias sensoriais, enquanto em dlPFC, por ambas as vias sensória e afetivas (160). Cumminford *et al.* (161) demonstraram, através de rs-fMRI, a relação com a resposta analgésica após ETCC, conforme Figura 10 (162). Constatou-se que mulheres com maior conectividade entre determinadas áreas do SNC apresentaram melhora mais expressiva dos sintomas após a aplicação do ETCC, e que este, por sua vez, proporcionou diminuição da conectividade cerebral entre outras áreas estudadas.

Figura 10 - Esquema de achados de conectividade funcional em pacientes com fibromialgia antes e após uso da estimulação transcraniana de corrente contínua ativa e simulada.



Adaptado de Cumminford *et al.* (161).

Conectividades funcionais intrínsecas (CFIs) corticotalâmicas mais fortes em regiões com alta densidade de receptores opioides antes do tratamento com estimulação transcraniana de corrente contínua (ETCC) predisseram uma melhor resposta clínica (A). Mudanças na CFI foram observadas depois de 5 sessões diárias de ETCC-simulada, o que pode ser atribuído à analgesia placebo (B). A ETCC real com 5 sessões, aplicada em dias sucessivos, causou mudanças duradouras na CFI e pode ter aliviado a dor via inibição da atividade talâmica e subsequente diminuição da CFI. Ambos, no entanto, podem ter sido causados por liberação de opioides endógenos.

Cumminford *et al.* (161) mostraram que a maior CFI entre o M1 e o tálamo ventrolateral, PSC e aINS e a PAG e o tálamo ventrolateral predisseram maior analgesia após a ETCC em pacientes com FM. Ademais, esse estudo mostrou que a ETCC reduziu a CFI entre o tálamo ventrolateral, córtex motor suplementar e PFC. Embora esses estudos indiquem potencial para identificar biomarcadores de rs-fMRI para rastrear a normalização da função induzida pelo tratamento e para a seleção do tratamento, ainda são necessárias evidências consistentes e reproduzíveis para validação clínica (163).

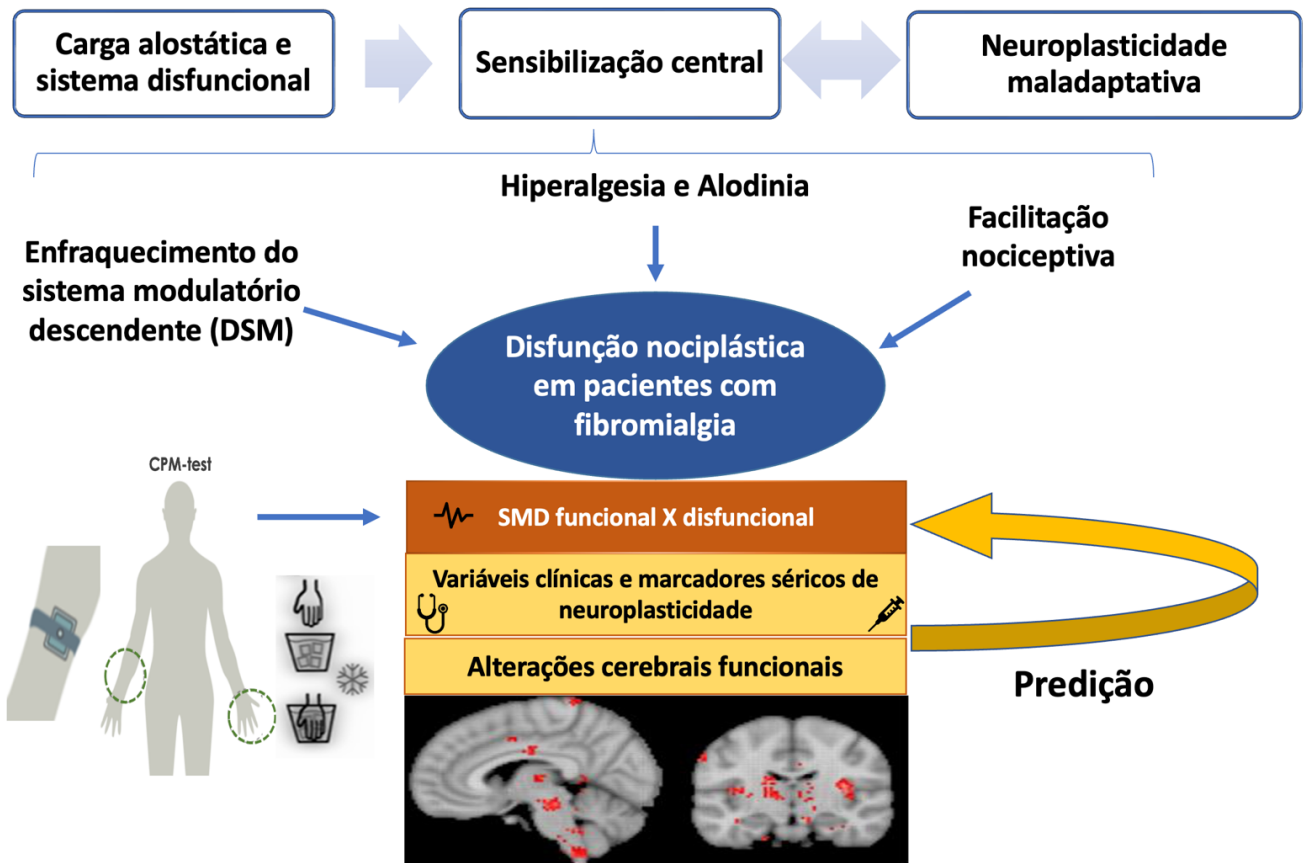
Por fim, trabalhos recentes com inteligência artificial têm buscado uma assinatura neurofisiológica da FM. Em um deles, um algoritmo treinado conseguiu distinguir indivíduos com FM de controles, de acordo com a CFI do primeiro grupo, que apresentou respostas aumentadas na INS, PCC e regiões pré-frontais mediais e respostas reduzidas nos córtices

sensoriais primários e secundários, gânglios da base e cerebelo (164). Dada a importância clínica e social do impacto da FM e os atuais avanços de neuroimagem, se justifica a busca por marcadores neurofisiológicos que contribuam para maior entendimento da sua fisiopatologia.

2.9 MARCO CONCEITUAL

A figura 11 apresenta o marco conceitual desta tese.

Figura 11 - Marco conceitual



Fonte: Elaboração própria

3 JUSTIFICATIVA

A prevalência da FM é crescente e as intervenções farmacológicas apresentam eficácia limitada, estimulando a busca por maior compreensão da neurofisiologia e fisiopatogênese envolvida nesses processos. Essa doença possui vários sintomas associados, entre os quais distúrbios do sono, fadiga, rigidez matinal, alodínea, hiperalgesia e disfunções afetivas ou cognitivas. Tais sintomas estão, na maioria, relacionados à disfunção do SMDD e às alterações nociplástica decorrentes da SSC. Ademais, o grupo das pacientes onde esse sistema está disfuncional apresenta maior gravidade clínica e refratariedade terapêutica.

A forma clássica de avaliar a função do SMDD é o teste CPM. Embora uma meta-análise tenha tentado ampliar o repertório de fatores psicológicos implicados na resposta do CPM-*test*, os autores reconheceram como principais limitações de sua análise abordagens variadas sobre o paradigma da CPM, a sobreposição de condições de dor com diferentes fisiopatologias e protocolos não padronizados para os critérios diagnósticos (22). Assim, é pertinente estabelecer estratégias sistematizadas, integrando características clínicas e marcadores biológicos para que esses resultados pertinentes à discriminação da função do SMDD possam ser trasladados ao cenário clínico e auxiliar na tomada de decisão, tendo como alvo a medicina personalizada (165).

A falta de anormalidades estruturais consistentes em pacientes com FM corrobora para a avaliação da CFI utilizando a técnica de rs-fMRI, dada sua relativa simplicidade na execução e potencial na avaliação de estruturas corticais e subcorticais envolvidas na neuromatriz da dor e no SMDD. Apesar dos avanços no entendimento da FM e do SMDD, diversos mecanismos permanecem incertos, e ainda não foi descrito se as pacientes apresentam, ou não, padrões de conectividade cerebral diferentes conforme a função ou disfunção do SMDD.

A justificativa deste estudo, segundo o exposto, centra-se em a buscar marcadores neurofisiológicos, clínicos e laboratoriais que contribuam para maior entendimento da fisiopatologia nos pacientes com FM. Os dados deste estudo visam elucidar se sintomas clínicos cardinais da FM, marcadores séricos de neuroplasticidade e CFI entre as estruturas cerebrais envolvidas no SMDD e na neuromatriz da dor podem prever a disfunção do SMDD em pacientes com FM. O objetivo é o avanço diagnóstico e, eventualmente, terapêutico, tendo como alvo uma abordagem individualizada, atenuando assim o expressivo prejuízo à vida dos pacientes e o pesado encargo social e econômico ao paciente e à sociedade.

4 HIPÓTESE

Devido à maior gravidade clínica e refratariedade ao tratamento em pacientes com FM e SMDD disfuncional, nossa hipótese foi de que a disfunção do SMDD poderia ser predita através de um índice composto pelos principais sintomas clínicos da FM e dos marcadores de neuroplasticidade BDNF e proteína S100B. Adicionalmente, esperávamos que a CFI reduzida nas vias neurais relacionadas ao SMDD poderia prever a disfunção do SMDD, e que esta, no que lhe concerne, se correlacionaria com os escores clínicos.

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como finalidade investigar amplamente a disfunção do sistema modulatório descendente da dor em pacientes com FM para buscar marcadores clínicos, séricos e de neuroimagem funcional, visando uma maior compreensão dos processos neurofisiológicos e clínicos envolvidos na fisiopatologia da FM.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para responder ao objetivo geral desta tese desenvolveram-se estudos, cujos objetivos são os que seguem:

Estudo 1:

- Identificar se os principais sintomas da FM e os biomarcadores séricos de neuroplasticidade se correlacionam com a disfunção do SMDD, de acordo com dois grupos de pacientes, respondedores e não respondedores ao teste CPM.

- Avaliar se esses padrões, individualmente e de forma integrada, predizem a capacidade de resposta à tarefa CPM.

Estudo 2:

- Analisar os padrões de CFI entre as redes cerebrais de processamento da dor e o SMDD através da rs-fMRI em pacientes com FM, conforme os grupos de respondedores e não respondedores ao teste CPM.

- Investigar se o padrão de conectividade entre o córtex somatossensorial primário (área envolvida no componente sensorio-discriminativo da neuromatriz da dor) e a PAG

(principal área envolvida no SMDD) relaciona-se aos sintomas clínicos em pacientes respondedores ou não respondedores ao teste CPM.

REFERÊNCIAS

1. International Association for the Study of Pain (IASP). Terminology. [Internet]. 2013 [acesso em Ago 2022]. Disponível em: http://www.iasp-pain.org/AM/Template.cfm?Section=Pain_Definitions
2. Arnold LM, Fan J, Russell IJ, Yunus MB, Khan MA, Kushner I, et al. The fibromyalgia family study: a genome-wide linkage scan study. *Arthritis Rheum.* 2013;65(4):1122-8.
3. Cagnie B, Coppieters I, Denecker S, Six J, Danneels L, Meeus M. Central sensitization in fibromyalgia? A systematic review on structural and functional brain MRI. *Semin Arthritis Rheum.* 2014;44(1):68-75.
4. Lee YC, Nassikas NJ, Clauw DJ. The role of the central nervous system in the generation and maintenance of chronic pain in rheumatoid arthritis, osteoarthritis and fibromyalgia. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(2):211.
5. Clauw DJ. Fibromyalgia: a clinical review. *JAMA.* 2014;311(15):1547-55.
6. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol.* 2002;66(6):355-474.
7. Fields HL, Rowbotham M, Baron R. Postherpetic neuralgia: irritable nociceptors and deafferentation. *Neurobiol Dis.* 1998;5(4):209-27.
8. Kobayashi S. Organization of neural systems for aversive information processing: pain, error, and punishment. *Front Neurosci.* 2012;6:136.
9. Mobbs D, Marchant JL, Hassabis D, Seymour B, Tan G, Gray M, et al. From threat to fear: the neural organization of defensive fear systems in humans. *J Neurosci.* 2009;29(39):12236-43.
10. Camarata PJ, Yaksh TL. Characterization of the spinal adrenergic receptors mediating the spinal effects produced by the microinjection of morphine into the periaqueductal gray. *Brain Res.* 1985;336(1):133-42.
11. Yaksh TL. Direct evidence that spinal serotonin and noradrenaline terminals mediate the spinal antinociceptive effects of morphine in the periaqueductal gray. *Brain Res.* 1979;160(1):180-5.
12. Yaksh TL, Tyce GM. Microinjection of morphine into the periaqueductal gray evokes the release of serotonin from spinal cord. *Brain Res.* 1979;171(1):176-81.
13. Pertovaara A. Noradrenergic pain modulation. *Prog Neurobiol.* 2006;80(2):53-83.
14. Julius D, Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. *Nature.* 2001;413(6852):203-10.
15. Le Bars D, Dickenson AH, Besson JM. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). II. Lack of effect on non-convergent neurones, supraspinal involvement and theoretical implications. *Pain.* 1979;6(3):305-27.
16. Le Bars D, Dickenson AH, Besson JM. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurones in the rat. *Pain.* 1979;6(3):283-304.
17. Yarnitsky D. Conditioned pain modulation (the diffuse noxious inhibitory control-like effect): its relevance for acute and chronic pain states. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2010;23(5):611-5.

19. Lefebvre C, Fisher K, Cahill CM, Coderre TJ. Evidence that DHPG-induced nociception depends on glutamate release from primary afferent C-fibres. *Neuroreport*. 2000;11(8):1631-5.
20. Ossipov MH, Morimura K, Porreca F. Descending pain modulation and chronification of pain. *Curr Opin Support Palliat Care*. 2014;8(2):143-51.
21. Popescu A, LeResche L, Truelove EL, Drangsholt MT. Gender differences in pain modulation by diffuse noxious inhibitory controls: a systematic review. *Pain*. 2010;150(2):309-18.
22. Nahman-Averbuch H, Nir RR, Sprecher E, Yarnitsky D. Psychological factors and conditioned pain modulation: a meta-analysis. *Clin J Pain*. 2016;32(6):541-54.
23. Lee MH, Smyser CD, Shimony JS. Resting-state fMRI: a review of methods and clinical applications. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2013;34(10):1866-72.
24. Ichesco E, Schmidt-Wilcke T, Bhavsar R, Clauw DJ, Peltier SJ, Kim J, et al. Altered resting state connectivity of the insular cortex in individuals with fibromyalgia. *J Pain*. 2014;15(8):815-26 e1.
25. Mhalla A, de Andrade DC, Baudic S, Perrot S, Bouhassira D. Alteration of cortical excitability in patients with fibromyalgia. *Pain*. 2010;149(3):495-500.
26. Narvid J, Rehani B, Talbott JF. Diagnostic Performance of brain MRI in Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome. *J Neuroimaging*. 2016;26(3):303-8.
27. Mills EP, Di Pietro F, Alshelh Z, Peck CC, Murray GM, Vickers ER, et al. Brainstem pain-control circuitry connectivity in chronic neuropathic pain. *J Neurosci*. 2018;38(2):465-73.
28. Schmidt-Wilcke T, Ichesco E, Hampson JP, Kairys A, Peltier S, Harte S, et al. Resting state connectivity correlates with drug and placebo response in fibromyalgia patients. *Neuroimage Clin*. 2014;6:252-61.
29. Mokhtar M, Singh P. Neuroanatomy, Periaqueductal Gray. 2021 Jul 31. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan. PMID: 32119278. [acesso em 2020 Maio 24]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32119278>
30. Liu J, Chen L, Chen X, Hu K, Tu Y, Lin M, et al. Modulatory effects of different exercise modalities on the functional connectivity of the periaqueductal grey and ventral tegmental area in patients with knee osteoarthritis: a randomised multimodal magnetic resonance imaging study. *Br J Anaesth*. 2019;123(4):506-18.
31. Wolfe F, Clauw DJ, Fitzcharles MA, Goldenberg DL, Hauser W, Katz RL, et al. 2016 Revisions to the 2010/2011 fibromyalgia diagnostic criteria. *Semin Arthritis Rheum*. 2016;46(3):319-29.
32. Vincent K, Warnaby C, Stagg CJ, Moore J, Kennedy S, Tracey I. Dysmenorrhoea is associated with central changes in otherwise healthy women. *Pain*. 2011;152(9):1966-75.
33. Yunus MB. Role of central sensitization in symptoms beyond muscle pain, and the evaluation of a patient with widespread pain. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2007;21(3):481-97.
34. Cardinal TM, Antunes LC, Brietzke AP, Parizotti CS, Carvalho F, De Souza A, et al. 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. *Front Hum Neurosci.* 2019;13:138.
35. Kantermann T, Theadom A, Roenneberg T, Cropley M. Fibromyalgia syndrome and chronotype: late chronotypes are more affected. *J Biol Rhythms.* 2012;27(2):176-9.
 36. Franco AL, Fernandes G, Goncalves DA, Bonafe FS, Camparis CM. Headache associated with temporomandibular disorders among young Brazilian adolescents. *Clin J Pain.* 2014;30(4):340-5.
 37. Neumann L, Buskila D. Epidemiology of fibromyalgia. *Curr Pain Headache Rep.* 2003;7(5):362-8.
 38. Schmidt-Wilcke T, Clauw DJ. Fibromyalgia: from pathophysiology to therapy. *Nat Rev Rheumatol.* 2011;7(9):518-27.
 39. Julien N, Goffaux P, Arsenault P, Marchand S. Widespread pain in fibromyalgia is related to a deficit of endogenous pain inhibition. *Pain.* 2005;114(1-2):295-302.
 40. Schmidt-Wilcke T, Diers M. New Insights into the Pathophysiology and Treatment of Fibromyalgia. *Biomedicines.* 2017;5(2).
 41. Sprenger C, Eichler IC, Eichler L, Zollner C, Buchel C. Altered Signaling in the Descending Pain-modulatory System after Short-Term Infusion of the mu-Opioid Agonist Remifentanyl. *J Neurosci.* 2018;38(10):2454-70.
 42. Wikner J, Hirsch U, Wetterberg L, Rojdmarm S. Fibromyalgia--a syndrome associated with decreased nocturnal melatonin secretion. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1998;49(2):179-83.
 43. Crofford LJ, Young EA, Engleberg NC, Korszun A, Brucksch CB, McClure LA, et al. Basal circadian and pulsatile ACTH and cortisol secretion in patients with fibromyalgia and/or chronic fatigue syndrome. *Brain Behav Immun.* 2004;18(4):314-25.
 44. Martinez-Martinez LA, Mora T, Vargas A, Fuentes-Iniestra M, Martinez-Lavin M. Sympathetic nervous system dysfunction in fibromyalgia, chronic fatigue syndrome, irritable bowel syndrome, and interstitial cystitis: a review of case-control studies. *J Clin Rheumatol.* 2014;20(3):146-50.
 45. Beggs S, Salter MW. The known knowns of microglia-neuronal signalling in neuropathic pain. *Neurosci Lett.* 2013;557 Pt A:37-42.
 46. Kowianski P, Lietzau G, Czuba E, Waskow M, Steliga A, Morys J. BDNF: A key factor with multipotent impact on brain signaling and synaptic plasticity. *Cell Mol Neurobiol.* 2018;38(3):579-93.
 47. Schroeter ML, Abdul-Khaliq H, Krebs M, Diefenbacher A, Blasig IE. Serum markers support disease-specific glial pathology in major depression. *J Affect Disord.* 2008;111(2-3):271-80.
 48. Steiner J, Bernstein HG, Bielau H, Berndt A, Brisch R, Mawrin C, et al. Evidence for a wide extra-astrocytic distribution of S100B in human brain. *BMC Neurosci.* 2007;8:2.
 49. Schroeter ML, Sacher J, Steiner J, Schoenknecht P, Mueller K. Serum S100B represents a new biomarker for mood disorders. *Curr Drug Targets.* 2013;14(11):1237-48.
 50. Stefani LC, Torres IL, de Souza IC, Rozisky JR, Fregni F, Caumo W. BDNF as an effect modifier for gender effects on pain thresholds in healthy subjects. *Neurosci Lett.*

2012;514(1):62-6.

51. Deitos A, Dussan-Sarria JA, Souza A, Medeiros L, Tarrago Mda G, Sehn F, et al. Clinical value of serum neuroplasticity mediators in identifying the central sensitivity syndrome in patients with chronic pain with and without structural pathology. *Clin J Pain*. 2015;31(11):959-67.
52. Fregni F, Boggio PS, Nitsche M, Berman F, Antal A, Feredoes E, et al. Anodal transcranial direct current stimulation of prefrontal cortex enhances working memory. *Exp Brain Res*. 2005;166(1):23-30.
53. Lefaucheur JP, Antal A, Ayache SS, Benninger DH, Brunelin J, Cogiamanian F, et al. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of transcranial direct current stimulation (tDCS). *Clin Neurophysiol*. 2017;128(1):56-92.
54. Brighina F, Curatolo M, Cosentino G, De Tommaso M, Battaglia G, Sarzi-Puttini PC, et al. Brain modulation by electric currents in fibromyalgia: a structured review on non-invasive approach with transcranial electrical stimulation. *Front Hum Neurosci*. 2019;13:40.
55. Latremoliere A, Woolf CJ. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *J Pain*. 2009;10(9):895-926.
56. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol*. 2002;66(6):355-474.
57. Meyr AJ, Steinberg JS. The physiology of the acute pain pathway. *Clin Podiatr Med Surg*. 2008;25(3):305-26.
58. Arcourt A, Lechner SG. Peripheral and spinal circuits involved in mechanical allodynia. *Pain*. 2015;156(2):220-1.
59. Moayed M, Salomons TV, Atlas LY. pain neuroimaging in humans: a primer for beginners and non-imagers. *J Pain*. 2018;19(9):961 e1- e21.
60. Hoffman GA, Harrington A, Fields HL. Pain and the placebo: what we have learned. *Perspect Biol Med*. 2005;48(2):248-65.
61. Vanegas H, Schaible HG. Descending control of persistent pain: inhibitory or facilitatory? *Brain Res Brain Res Rev*. 2004;46(3):295-309.
62. Ossipov MH, Dussor GO, Porreca F. Central modulation of pain. *J Clin Invest*. 2010;120(11):3779-87.
63. Ossipov MH. The perception and endogenous modulation of pain. *Scientifica (Cairo)*. 2012;2012:561761.
64. Odeh F, Antal M. The projections of the midbrain periaqueductal grey to the pons and medulla oblongata in rats. *Eur J Neurosci*. 2001;14(8):1275-86.
65. Llorca-Torralba M, Borges G, Neto F, Mico JA, Berrocoso E. Noradrenergic Locus Coeruleus pathways in pain modulation. *Neuroscience*. 2016;338:93-113.
66. Wilder-Smith CH. The balancing act: endogenous modulation of pain in functional gastrointestinal disorders. *Gut*. 2011;60(11):1589-99.
67. Linnman C, Beucke JC, Jensen KB, Gollub RL, Kong J. Sex similarities and differences in pain-related periaqueductal gray connectivity. *Pain*. 2012;153(2):444-54.
68. Huynh V, Lutolf R, Rosner J, Luechinger R, Curt A, Kollias S, et al. Descending pain

modulatory efficiency in healthy subjects is related to structure and resting connectivity of brain regions. *Neuroimage*. 2022;247:118742.

69. Coulombe MA, Erpelding N, Kucyi A, Davis KD. Intrinsic functional connectivity of periaqueductal gray subregions in humans. *Hum Brain Mapp*. 2016;37(4):1514-30.
70. Coulombe MA, Lawrence KS, Moulin DE, Morley-Forster P, Shokouhi M, Nielson WR, et al. Lower functional connectivity of the periaqueductal gray is related to negative affect and clinical manifestations of fibromyalgia. *Front Neuroanat*. 2017;11:47.
71. Ossipov MH, Dussor GO, Porreca F. Central modulation of pain. *J Clin Invest*. 2010;120(11):3779-87.
72. Alomar S, Bakhaidar M. Neuroimaging of neuropathic pain: review of current status and future directions. *Neurosurg Rev*. 2018;41(3):771-7.
73. Schnitzler A, Ploner M. Neurophysiology and functional neuroanatomy of pain perception. *J Clin Neurophysiol*. 2000;17(6):592-603.
74. Harte SE, Harris RE, Clauw DJ. The neurobiology of central sensitization. *J Appl Biobehav Res*. 2018;23(2):e12137.
75. Walitt B, Ceko M, Gracely JL, Gracely RH. Neuroimaging of central sensitivity syndromes: key insights from the scientific literature. *Curr Rheumatol Rev*. 2016;12(1):55-87.
76. Stefani LC, Leite FM, da Graca LTM, Zanette SA, de Souza A, Castro SM, et al. BDNF and serum S100B levels according the spectrum of structural pathology in chronic pain patients. *Neurosci Lett*. 2019;706:105-9.
77. Helfenstein Junior M, Goldenfum MA, Siena CAF. Fibromialgia: aspectos clínicos e ocupacionais. *Rev Assoc Med Bras*. 2012;58(3):358-65.
78. Napadow V, Kim J, Clauw DJ, Harris RE. Decreased intrinsic brain connectivity is associated with reduced clinical pain in fibromyalgia. *Arthritis Rheum*. 2012;64(7):2398-403.
79. Michael GJ, Averill S, Nitkunan A, Rattray M, Bennett DL, Yan Q, et al. Nerve growth factor treatment increases brain-derived neurotrophic factor selectively in TrkA-expressing dorsal root ganglion cells and in their central terminations within the spinal cord. *J Neurosci*. 1997;17(21):8476-90.
80. Schaible HG, Ebersberger A, Natura G. Update on peripheral mechanisms of pain: beyond prostaglandins and cytokines. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(2):210.
81. Maugars Y, Berthelot JM, Le Goff B, Darrieutort-Laffite C. Fibromyalgia and associated disorders: from pain to chronic suffering, from subjective hypersensitivity to hypersensitivity syndrome. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:666914.
82. Straube T, Schmidt S, Weiss T, Mentzel HJ, Miltner WH. Sex differences in brain activation to anticipated and experienced pain in the medial prefrontal cortex. *Hum Brain Mapp*. 2009;30(2):689-98.
83. Caumo W, Antunes LC, Elkfury JL, Herbstrith EG, Busanello Sipmann R, Souza A, et al. The Central Sensitization Inventory validated and adapted for a Brazilian population: psychometric properties and its relationship with brain-derived neurotrophic factor. *J Pain Res*. 2017;10:2109-22.
84. Nir RR, Yarnitsky D. Conditioned pain modulation. *Curr Opin Support Palliat Care*.

2015;9(2):131-7.

85. Kunz M, Scholl KE, Schu U, Lautenbacher S. GABAergic modulation of diffuse noxious inhibitory controls (DNIC): a test by use of lorazepam. *Exp Brain Res.* 2006;175(2):363-71.

86. Yarnitsky D, Arendt-Nielsen L, Bouhassira D, Edwards RR, Fillingim RB, Granot M, et al. Recommendations on terminology and practice of psychophysical DNIC testing. *Eur J Pain.* 2010;14(4):339.

87. Villanueva L, Cadden SW, Le Bars D. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC): evidence for post-synaptic inhibition of trigeminal nucleus caudalis convergent neurones. *Brain Res.* 1984;321(1):165-8.

88. Normandin A, Luccarini P, Molat JL, Gendron L, Dallel R. Spinal mu and delta opioids inhibit both thermal and mechanical pain in rats. *J Neurosci.* 2013;33(28):11703-14.

89. Popescu A, LeResche L, Truelove EL, Drangsholt MT. Gender differences in pain modulation by diffuse noxious inhibitory controls: a systematic review. *Pain.* 2010;150(2):309-18.

90. Martel MO, Wasan AD, Edwards RR. Sex differences in the stability of conditioned pain modulation (CPM) among patients with chronic pain. *Pain Med.* 2013;14(11):1757-68.

91. Schestatsky P, Stefani LC, Sanches PR, Silva Junior DP, Torres IL, Dall-Agnol L, et al. Validation of a Brazilian quantitative sensory testing (QST) device for the diagnosis of small fiber neuropathies. *Arq Neuropsiquiatr.* 2011;69(6):943-8.

92. Jarrahi B, Martucci KT, Nilakantan AS, Mackey S. Cold water pressor test differentially modulates functional network connectivity in fibromyalgia patients compared with healthy controls. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc.* 2018;2018:578-82.

93. Botelho LM, Morales-Quezada L, Rozisky JR, Brietzke AP, Torres IL, Deitos A, et al. A framework for understanding the relationship between descending pain modulation, motor corticospinal, and neuroplasticity regulation systems in chronic myofascial pain. *Front Hum Neurosci.* 2016;10:308.

94. Granovsky Y, Yarnitsky D. Personalized pain medicine: the clinical value of psychophysical assessment of pain modulation profile. *Rambam Maimonides Med J.* 2013;4(4):e0024.

95. Napadow V, Harris RE. What has functional connectivity and chemical neuroimaging in fibromyalgia taught us about the mechanisms and management of 'centralized' pain? *Arthritis Res Ther.* 2014;16(5):425.

96. Pascual-Leone A, Amedi A, Fregni F, Merabet LB. The plastic human brain cortex. *Annu Rev Neurosci.* 2005;28:377-401.

97. Alexander AL, Lee JE, Lazar M, Field AS. Diffusion tensor imaging of the brain. *Neurotherapeutics.* 2007;4(3):316-29.

98. Morton DL, Sandhu JS, Jones AK. Brain imaging of pain: state of the art. *J Pain Res.* 2016;9:613-24.

99. Kurata J. Neural mechanisms of offset analgesia. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1099:141-6.

100. Lanting CP, de Kleine E, Langers DR, van Dijk P. Unilateral tinnitus: changes in connectivity and response lateralization measured with fMRI. *PLoS One.*

2014;9(10):e110704.

101. Chen T, Taniguchi W, Chen QY, Tozaki-Saitoh H, Song Q, Liu RH, et al. Top-down descending facilitation of spinal sensory excitatory transmission from the anterior cingulate cortex. *Nat Commun.* 2018;9(1):1886.
102. Lopes PSS, Campos ACP, Fonoff ET, Britto LRG, Pagano RL. Motor cortex and pain control: exploring the descending relay analgesic pathways and spinal nociceptive neurons in healthy conscious rats. *Behav Brain Funct.* 2019;15(1):5.
103. Liu Y, Latremoliere A, Li X, Zhang Z, Chen M, Wang X, et al. Touch and tactile neuropathic pain sensitivity are set by corticospinal projections. *Nature.* 2018;561(7724):547-50.
104. Huang J, Gadotti VM, Chen L, Souza IA, Huang S, Wang D, et al. A neuronal circuit for activating descending modulation of neuropathic pain. *Nat Neurosci.* 2019;22(10):1659-68.
105. Yucel MA, Aasted CM, Petkov MP, Borsook D, Boas DA, Becerra L. Specificity of hemodynamic brain responses to painful stimuli: a functional near-infrared spectroscopy study. *Sci Rep.* 2015;5:9469.
106. Jorge LL, Amaro E, Jr. Brain imaging in fibromyalgia. *Curr Pain Headache Rep.* 2012;16(5):388-98.
107. Gore JC. Principles and practice of functional MRI of the human brain. *J Clin Invest.* 2003;112(1):4-9.
108. Buxton RB. Introduction to functional magnetic resonance imaging : principles and techniques. Cambridge: University Press; 2009.
109. Stippich C. Clinical functional MRI: presurgical functional neuroimaging (medical radiology). Springer; 2022.
110. Mazzola AA. Ressonância magnética: princípios de formação da imagem e aplicações em imagem funcional. *Rev Bras Física Médica.* 2009;3(1):117-29.
111. Nichols TE, Das S, Eickhoff SB, Evans AC, Glatard T, Hanke M, et al. Best practices in data analysis and sharing in neuroimaging using MRI. *Nat Neurosci.* 2017;20(3):299-303.
112. Salimi-Khorshidi G, Smith SM, Nichols TE. Adjusting the neuroimaging statistical inferences for nonstationarity. *Med Image Comput Comput Assist Interv.* 2009;12(Pt 1):992-9.
113. Bunge SA, Kahn I. Cognition: an overview of neuroimaging techniques. *Encyclopedia of Neuroscience.* 2009:1063-7.
114. Lv H, Wang Z, Tong E, Williams LM, Zaharchuk G, Zeineh M, et al. Resting-state functional MRI: everything that nonexperts have always wanted to know. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2018;39(8):1390-9.
115. Desmond JE, Glover GH. Estimating sample size in functional MRI (fMRI) neuroimaging studies: statistical power analyses. *J Neurosci Methods.* 2002;118(2):115-28.
116. Whitfield-Gabrieli S, Nieto-Castanon A. Conn: a functional connectivity toolbox for correlated and anticorrelated brain networks. *Brain Connect.* 2012;2(3):125-41.
117. Schirner M, Rothmeier S, Jirsa VK, McIntosh AR, Ritter P. An automated pipeline for constructing personalized virtual brains from multimodal neuroimaging data. *Neuroimage.*

2015;117:343-57.

118. de Tommaso M, Federici A, Santostasi R, Calabrese R, Vecchio E, Lapadula G, et al. Laser-evoked potentials habituation in fibromyalgia. *J Pain*. 2011;12(1):116-24.

119. Kim JY, Kim SH, Seo J, Kim SH, Han SW, Nam EJ, et al. Increased power spectral density in resting-state pain-related brain networks in fibromyalgia. *Pain*. 2013;154(9):1792-7.

120. Napadow V, LaCount L, Park K, As-Sanie S, Clauw DJ, Harris RE. Intrinsic brain connectivity in fibromyalgia is associated with chronic pain intensity. *Arthritis Rheum*. 2010;62(8):2545-55.

121. Kim J, Loggia ML, Cahalan CM, Harris RE, Beissner FDPN, Garcia RG, et al. The somatosensory link in fibromyalgia: functional connectivity of the primary somatosensory cortex is altered by sustained pain and is associated with clinical/autonomic dysfunction. *Arthritis Rheumatol*. 2015;67(5):1395-405.

122. Goksan S, Baxter L, Moultrie F, Duff E, Hathway G, Hartley C, et al. The influence of the descending pain modulatory system on infant pain-related brain activity. *Elife*. 2018;7.

123. Harper DE, Ichresco E, Schrepf A, Hampson JP, Clauw DJ, Schmidt-Wilcke T, et al. Resting functional connectivity of the periaqueductal gray is associated with normal inhibition and pathological facilitation in conditioned pain modulation. *J Pain*. 2018;19(6):635 e1- e15.

124. Argaman Y, Kisler LB, Granovsky Y, Coghill RC, Sprecher E, Manor D, et al. The endogenous analgesia signature in the resting brain of healthy adults and migraineurs. *J Pain*. 2020;21(7-8):905-18.

125. Harper DE, Ichresco E, Schrepf A, Hampson JP, Clauw DJ, Schmidt-Wilcke T, et al. Resting functional connectivity of the periaqueductal gray is associated with normal inhibition and pathological facilitation in conditioned pain modulation. *J Pain*. 2018;19(6):635 e1- e15.

126. Toga W. *Brain mapping: an encyclopedic reference*. London: Academic Press; 2015.

127. Glass JM. Review of cognitive dysfunction in fibromyalgia: a convergence on working memory and attentional control impairments. *Rheum Dis Clin North Am*. 2009;35(2):299-311.

128. Baliki MN, Geha PY, Apkarian AV, Chialvo DR. Beyond feeling: chronic pain hurts the brain, disrupting the default-mode network dynamics. *J Neurosci*. 2008;28(6):1398-403.

129. Vanneste S, Ost J, Van Havenbergh T, De Ridder D. Resting state electrical brain activity and connectivity in fibromyalgia. *PLoS One*. 2017;12(6):e0178516.

130. Kim H, Kim J, Loggia ML, Cahalan C, Garcia RG, Vangel MG, et al. Fibromyalgia is characterized by altered frontal and cerebellar structural covariance brain networks. *Neuroimage Clin*. 2015;7:667-77.

131. Kucyi A, Moayed M, Weissman-Fogel I, Goldberg MB, Freeman BV, Tenenbaum HC, et al. Enhanced medial prefrontal-default mode network functional connectivity in chronic pain and its association with pain rumination. *J Neurosci*. 2014;34(11):3969-75.

132. Napadow V, LaCount L, Park K, As-Sanie S, Clauw DJ, Harris RE. Intrinsic brain connectivity in fibromyalgia is associated with chronic pain intensity. *Arthritis Rheum*. 2010;62(8):2545-55.

133. 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;11:270.
134. Yuan J, Chan S, Mortimer D, Nguyen H, Goodhill GJ. Optimality and saturation in axonal chemotaxis. *Neural Comput.* 2013;25(4):833-53.
135. Fallon N, Chiu Y, Nurmikko T, Stancak A. Functional connectivity with the default mode network is altered in fibromyalgia patients. *PLoS One.* 2016;11(7):e0159198.
136. Chen JL, Schlaug G. Increased resting state connectivity between ipsilesional motor cortex and contralesional premotor cortex after transcranial direct current stimulation with physical therapy. *Sci Rep.* 2016;6:23271.
137. Vachon-Preseau E, Tetreault P, Petre B, Huang L, Berger SE, Torbey S, et al. Corticolimbic anatomical characteristics predetermine risk for chronic pain. *Brain.* 2016;139(Pt 7):1958-70.
138. Kamen LB. Central sensitization, central sensitization syndromes, and chronic neuropathic pain. In: Freedman M, Gehret JA, Young G, Kamen L, editors. *Challenging neuropathic pain syndromes evaluation and evidence-based treatment.* Elsevier; 2018.
139. Napadow V, LaCount L, Park K, As-Sanie S, Clauw DJ, Harris RE. Intrinsic brain connectivity in fibromyalgia is associated with chronic pain intensity. *Arthritis Rheum.* 2010;62(8):2545-55.
140. Kaplan CM, Schrepf A, Vatansever D, Larkin TE, Mawla I, Ichesco E, et al. Functional and neurochemical disruptions of brain hub topology in chronic pain. *Pain.* 2019;160(4):973-83.
141. Jensen KB, Loitole R, Kosek E, Petzke F, Carville S, Fransson P, et al. Patients with fibromyalgia display less functional connectivity in the brain's pain inhibitory network. *Mol Pain.* 2012;8:32.
142. Staud R, Craggs JG, Perlstein WM, Robinson ME, Price DD. Brain activity associated with slow temporal summation of C-fiber evoked pain in fibromyalgia patients and healthy controls. *Eur J Pain.* 2008;12(8):1078-89.
143. Jensen KB, Kosek E, Petzke F, Carville S, Fransson P, Marcus H, et al. Evidence of dysfunctional pain inhibition in Fibromyalgia reflected in rACC during provoked pain. *Pain.* 2009;144(1-2):95-100.
144. Burgmer M, Pogatzki-Zahn E, Gaubitz M, Wessoleck E, Heuft G, Pfliegerer B. Altered brain activity during pain processing in fibromyalgia. *Neuroimage.* 2009;44(2):502-8.
145. Gracely RH, Geisser ME, Giesecke T, Grant MA, Petzke F, Williams DA, et al. Pain catastrophizing and neural responses to pain among persons with fibromyalgia. *Brain.* 2004;127(Pt 4):835-43.
146. Burgmer M, Pogatzki-Zahn E, Gaubitz M, Stuber C, Wessoleck E, Heuft G, et al. Fibromyalgia unique temporal brain activation during experimental pain: a controlled fMRI Study. *J Neural Transm (Vienna).* 2010;117(1):123-31.
147. Kim JY, Kim SH, Seo J, Kim SH, Han SW, Nam EJ, et al. Increased power spectral density in resting-state pain-related brain networks in fibromyalgia. *Pain.* 2013;154(9):1792-7.

148. Kong J, Huang Y, Liu J, Yu S, Ming C, Chen H, et al. Altered functional connectivity between hypothalamus and limbic system in fibromyalgia. *Mol Brain*. 2021;14(1):17.
149. Berna C, Leknes S, Holmes EA, Edwards RR, Goodwin GM, Tracey I. Induction of depressed mood disrupts emotion regulation neurocircuitry and enhances pain unpleasantness. *Biol Psychiatry*. 2010;67(11):1083-90.
150. van Ettinger-Veenstra H, Boehme R, Ghafouri B, Olausson H, Wicksell RK, Gerdle B. Exploration of functional connectivity changes previously reported in fibromyalgia and their relation to psychological distress and pain measures. *J Clin Med*. 2020;9(11).
151. Kong J, Wolcott E, Wang Z, Jorgenson K, Harvey WF, Tao J, et al. Altered resting state functional connectivity of the cognitive control network in fibromyalgia and the modulation effect of mind-body intervention. *Brain Imaging Behav*. 2019;13(2):482-92.
152. Lorenz J, Minoshima S, Casey KL. Keeping pain out of mind: the role of the dorsolateral prefrontal cortex in pain modulation. *Brain*. 2003;126(Pt 5):1079-91.
153. Ceko M, Bushnell MC, Fitzcharles MA, Schweinhardt P. Fibromyalgia interacts with age to change the brain. *Neuroimage Clin*. 2013;3:249-60.
154. Lee J, Protsenko E, Lazaridou A, Franceschelli O, Ellingsen DM, Mawla I, et al. Encoding of self-referential pain catastrophizing in the posterior cingulate cortex in fibromyalgia. *Arthritis Rheumatol*. 2018;70(8):1308-18.
155. Jensen KB, Srinivasan P, Spaeth R, Tan Y, Kosek E, Petzke F, et al. Overlapping structural and functional brain changes in patients with long-term exposure to fibromyalgia pain. *Arthritis Rheum*. 2013;65(12):3293-303.
156. Jarrahi B, Martucci KT, Nilakantan AS, Mackey S. Cold water pressor test differentially modulates functional network connectivity in fibromyalgia patients compared with healthy controls. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*. 2018;2018:578-82.
157. Sommer C, Hauser W, Alten R, Petzke F, Spath M, Tolle T, et al. [Drug therapy of fibromyalgia syndrome. Systematic review, meta-analysis and guideline]. *Schmerz*. 2012;26(3):297-310.
158. Schmidt-Wilcke T, IchESCO E, Hampson JP, Kairys A, Peltier S, Harte S, et al. Resting state connectivity correlates with drug and placebo response in fibromyalgia patients. *Neuroimage Clin*. 2014;6:252-61.
159. Oliva V, Gregory R, Brooks JCW, Pickering AE. Central pain modulatory mechanisms of attentional analgesia are preserved in fibromyalgia. *Pain*. 2022;163(1):125-36.
160. Sankarasubramanian V, Cunningham DA, Potter-Baker KA, Beall EB, Roelle SM, Varnerin NM, et al. Transcranial direct current stimulation targeting primary motor versus dorsolateral prefrontal cortices: proof-of-concept study investigating functional connectivity of thalamocortical networks specific to sensory-affective information processing. *Brain Connect*. 2017;7(3):182-96.
161. Cummiford CM, Nascimento TD, Foerster BR, Clauw DJ, Zubieta JK, Harris RE, et al. Changes in resting state functional connectivity after repetitive transcranial direct current stimulation applied to motor cortex in fibromyalgia patients. *Arthritis Res Ther*. 2016;18:40.
162. Biswal B, Yetkin FZ, Haughton VM, Hyde JS. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn Reson Med*. 1995;34(4):537-41.

163. Lopez-Sola M, Pujol J, Wager TD, Garcia-Fontanals A, Blanco-Hinojo L, Garcia-Blanco S, et al. Altered functional magnetic resonance imaging responses to nonpainful sensory stimulation in fibromyalgia patients. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(11):3200-9.
164. Lopez-Sola M, Woo CW, Pujol J, Deus J, Harrison BJ, Monfort J, et al. Towards a neurophysiological signature for fibromyalgia. *Pain.* 2017;158(1):34-47.
165. Boyer N, Dallel R, Artola A, Monconduit L. General trigeminospinal central sensitization and impaired descending pain inhibitory controls contribute to migraine progression. *Pain.* 2014;155(7):1196-205.

ARTIGO 1

Soldatelli MD, Siepmann T, Illigens BM-W, et al. Mapping of predictors of the disengagement of the descending inhibitory pain modulation system in fibromyalgia: an exploratory study. *British Journal of Pain*. 2021;15(2):221-233. doi:10.1177/2049463720920760



Article

Mapping of predictors of the disengagement of the descending inhibitory pain modulation system in fibromyalgia: an exploratory study

British Journal of Pain
2021, Vol 15(2) 221–233
© The British Pain Society 2020
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/2049463720920760
journals.sagepub.com/home/bjpp
SAGE

Matheus Dorigatti Soldatelli^{1,2,3}, Timo Siepmann^{2,4}, Ben Min-Woo Illigens^{2,5}, Vinicius Souza dos Santos³, Iraci Lucena da S Torres^{1,6}, Felipe Fregni⁵ and Wolnei Caumo^{1,3,6,7}

Abstract

Background: The main symptoms of fibromyalgia comprise diffuse pain, disability, depressive symptoms, catastrophizing, sleep disruption and fatigue, associated with dysfunction of the descending pain-modulating system (DPMS).

Objectives: We aimed to identify patterns of main symptoms of fibromyalgia and neuroplasticity biomarkers (i.e., brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and S100B protein) in non-responders to the conditioned pain modulation task (CPM-task) induced by immersion of hand in cold water (0–1°C). Furthermore, we evaluated if these patterns predict responsiveness to CPM-task.

Methods: This cross-sectional study included 117 women with fibromyalgia ($n = 60$) non-responders and ($n = 57$) responders), with age ranging from 30 to 65 years old. We analysed changes in numerical pain scale (NPS-10) during the CPM-task using a standardized protocol.

Results: A hierarchical multivariate logistic regression analysis was used to construct a propensity score-adjusted index to identify non-responders compared to responders to CPM-task. The following variables were retained in the models: analgesic use four or more times per week, heat pain threshold (HPT), poor sleep quality, pain catastrophizing, serum levels of BDNF, number of psychiatric diagnoses and the impact of symptoms of fibromyalgia on quality of life. Receiver operator characteristics (ROC) analysis showed non-responders can be discriminated from responders by a composite index of more frequent symptoms of fibromyalgia and neuroplasticity markers (area under the curve (AUC) = 0.83, sensitivity = 100% and specificity = 98%).

Conclusion: Patterns of fibromyalgia symptoms and neuroplasticity markers may be helpful to predict responsiveness to the CPM-task which might help personalize treatment and thereby contribute to the care of patients with fibromyalgia.

Keywords

Catastrophizing, brain-derived neurotrophic factor, S100B, chronic pain, conditioned pain modulation-task

¹Graduate Program in Medical Science, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

²Center for Clinical Research and Management Education, Division of Health Care Sciences, Dresden International University, Dresden, Germany

³Laboratory of Pain and Neuromodulation, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

⁴Department of Neurology, University Hospital Carl Gustav Carus Technische Universität, Dresden, Germany

⁵Department of Neurology, Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School, Boston, MA, USA

⁶Pain and Palliative Care Service at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil

⁷Surgery Department, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

Corresponding author:

Wolnei Caumo, Laboratory of Pain and Neuromodulation, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Ramiro Barcelos Street, Porto Alegre, RS 90035-003, Brazil. Email: wcaumo@hcpa.edu.br

Introduction

Fibromyalgia is characterized by chronic pain with symptoms disproportionate to the evidence of tissue injury or anatomical damage. Although its pathophysiology is not fully elucidated, the most accepted mechanism to evoking pain hypersensitivity in fibromyalgia is the central sensitization syndrome (CSS).¹ It encompasses the impaired functioning of neurons and circuits in nociceptive pathways, with an increase in neuronal excitability and synaptic efficacy and reduced inhibition.^{2,3} Preclinical studies showed that astrocytic and microglial activation triggers the increase in brain-derived neurotrophic factor (BDNF). It alters the transmembrane anion gradient by downregulating K⁺-Cl⁻ cotransporter 2 (KCC2), which increases in intracellular Cl⁻, which leads to changes in GABA- and glycine-evoked responses from inhibitory to excitatory.^{4–6}

This hyperexcitability pattern is a primary underpin mechanism of the CSS. It comprises a cluster of symptoms, such as psychological distress, sleep disturbances, fatigue, pain, allodynia, hyperalgesia and expansion of the receptive field.^{7,8} To identify symptoms related to CSS, a screening tool has been used, which is denominated by Central Sensitization Inventory (CSI). A higher score on the CSI for chronic pain was positively associated with the inefficiency of the descending pain-modulating system (DPMS).⁹ The disinhibition on DPMS indicates a defective of DPMS according to a spectrum of responders and non-responders to conditioned pain modulating (CPM)-task in different chronic pain conditions.

The S100B protein can be actively released from glial cells, namely, oligodendrocytes and astroglia in the human brain.^{10,11} The glial marker protein S100B is elevated during major depressive episodes and decreased following successful treatment.¹² While the neuronal activity regulates the transcription of the BDNF gene, the transport of BDNF mRNA protein into dendrites and the secretion of BDNF.¹³ According to an earlier study, we found that serum levels of S100B were lowest in fibromyalgia than chronic pain conditions with significant structural damage (e.g. osteoarthritis and endometriosis). In contrast, serum levels of BDNF were higher in chronic pain with scarce tissue damage (e.g. fibromyalgia, chronic tensional headache and myofascial pain).¹⁴ In addition, the dysfunction in the DPMS was more significant in chronic pain with a scarce tissue injury (e.g. fibromyalgia) compared to osteoarthritis.¹⁴

The DPMS can be assessed by the CPM paradigm. During CPM-task, the nociceptive heterotopic stimuli activate the descending inhibitory control (DNIC), and it produces a phenomenon where ‘pain-inhibits pain’.^{15,16} The neurobiological systems involved in the CPM-task includes serotonergic, opioidergic and noradrenergic systems,^{17–19} which are also engaged in the psychological characteristics of chronic pain (i.e. anxiety,^{20–24} depression^{21,23} and pain catastrophizing).²² This interplay among neurobiological pathways underpinning to DPMS with the psychological characteristics may explain at least part of the interpersonal variability in pain perception.²⁵ Although a meta-analysis tried to expand the repertoire of psychological factors in CPM response, the authors recognized as major limitations of their analysis, varied approaches on the CPM paradigm, the mix of pain conditions with different pathophysiology and non-standardized protocols for diagnosis criteria.²⁶ Thus, it is pertinent to construct a comprehensive and biologically plausible framework to capture the symptoms and clinical signs associated with the disruption of the endogenous pain-inhibitory system.²⁷

Considering the above-mentioned facts, it is reasonable to assess the CPM paradigm according to a spectrum of responders and non-responders, in integrating perspective, to explore the severity of symptoms frequently found in the fibromyalgia (i.e. pain, disability, depressive symptoms, pain catastrophizing, sleep disruption, fatigue, etc.), psychological measures and serum neuro-plasticity biomarkers (BDNF and S100B protein). Our study has two specific aims: (1) to construct a framework that integrates different patterns of symptoms intensity across fibromyalgia and serum markers of neuroplasticity to test the hypothesis that these sets of variables could predict the dysfunction of DPMS and (2) to evaluate the ability of each marker of neuroplasticity (BDNF and S100-B-protein) and a composite index that integrates these measures (symptoms of fibromyalgia, HPT, pain catastrophizing, analgesic use, psychotropic medications, psychiatric disorders, BDNF and S100-B- protein) to differentiate non-responders to CPM-task, compared to responders. The paradigm of CPM was tested by the change in numerical pain scale (NPS scores in the range of 0–10), during the quantitative sensory testing (QST) concurrently with the heterotopic nociceptive stimulus (CPM-task) induced by immersion of hand in cold water (0–1°C) for 60 seconds.

Material and methods

Procedure and participants

The methods and results sections are reported according to the Strengthening The Reporting of OBServational Studies in Epidemiology (STROBE) guidelines. All subjects provided oral and written informed consent before participating in this cross-sectional study. The study followed the guidelines and regulations for clinical research and was approved by the Research Ethics Committee at our institution.

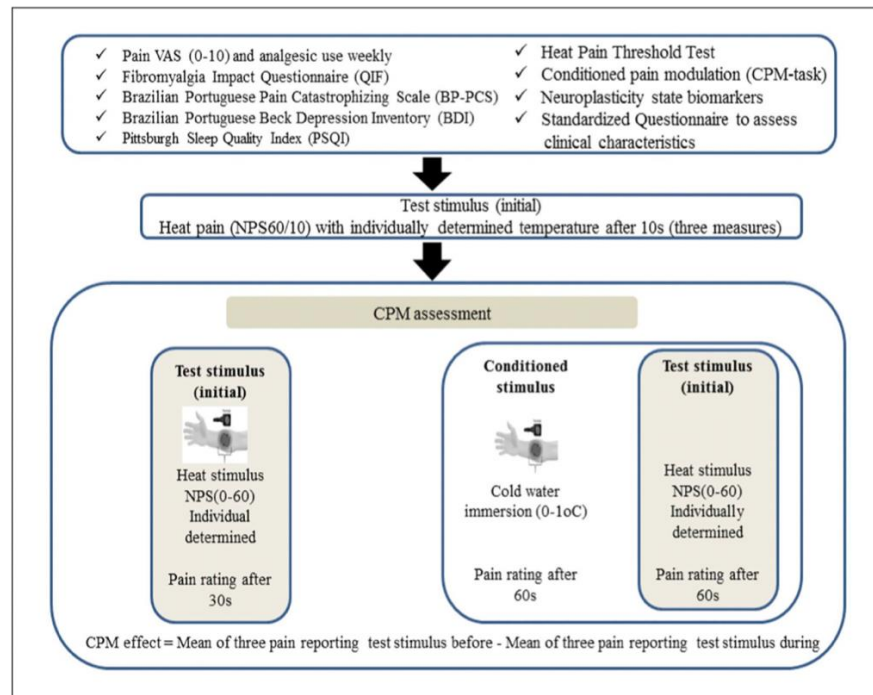


Figure 1. Timeline assessments.

Recruitment, inclusion and exclusion criteria

All patients were recruited by directly contacting them from the institutional chronic pain clinic, by referrals from other clinic units and from a community that is situated in an urban circumscribed geographic area that constitutes the catchment area of the Basic Health Unit linked to the (name of Institution), which serves a population of approximately 8000 living nearby. Recruitment was undertaken in the time from August 2016 to December 2017. Patients were contacted by phone and answered a screening questionnaire. If they met the inclusion criteria, they were invited for medical evaluation, history collection and detailed description of their symptoms. The diagnosis was established by a board-certified pain specialist to (name of country) Board with more than 10 years of experience in patients' pain care. We included only women, because fibromyalgia is more prevalent in females.²⁸ Women aged between 30 and 65 years who were able to read and write and had a confirmed diagnosis of fibromyalgia according

to the criteria of the American College of Rheumatology (2010–2016) were included. Pain score needed to be equal to or greater than six on NPS 0–10 on most days for the last 3 months. We excluded pregnant women and patients with a history of alcohol or drug abuse in the last 6 months, neurological diseases, history of decompensated systemic diseases or any chronic inflammatory disease (e.g. lupus, rheumatoid arthritis and Reiter’s syndrome). Furthermore, we excluded patients with uncompensated hypothyroidism or history of cancer.

Instruments and assessments

Dependent and independent variables of main interest.

The dependent variable (outcome) was the ‘score on NPS (0–10)’ during the CPM classified as non-responders and responders to CPM-task. The timeline of assessments is presented in Figure 1. The main interest factors in this study were the following: Brazilian Portuguese pain catastrophizing scale (BP-PCS), fibromyalgia impact questionnaire (FIQ), visual analogue pain scale (VAS), heat pain threshold (HPT), beck depression inventory II (BDI-II), Pittsburgh sleep quality index (PSQI), BDNF and S100-B calcium protein.

Psychophysical measures

1. HPT test: This measure uses the method of limits with a computer Peltier-based contact thermode ($30 \times 30 \text{ mm}^2$)^{29,30} attached to the skin on the ventral aspect of the mid-forearm. A computerized version of thermotest (developed by our group) was used to determine the HPT on the volar side of the non-dominant forearm. When heat is set at 32°C , the thermostat is heated at a rate of $1.0^\circ\text{C}/\text{second}$ to a maximum of 52°C , when the temperature begins to drop. The HPT is the minimum temperature at which the stimuli become painful. It was obtained by the mean of three assessments performed with an inter-stimuli interval of 40 seconds.²⁹

2. CPM-task: The sequence of procedures to determine the DPMS was the following: First, we used the same computerized version of thermotest described above on HPT measures to define the average of three temperatures by the QST for patients’ report score 6/10 (NPS, 0–10). The position of the thermode on the non-dominant forearm was slightly altered between trials (although it remained on the left ventral forearm). Second, after 5 minutes, subjects were requested to immerse their dominant hand up to the wrist into the water at a temperature of 0 up to 1°C for 1 minute, and the QST was introduced after 30 seconds. Thus, the pain score on NPS (0–10) in the area of the thermotest was assessed. Third, the CPM was calculated by the difference between the pain score on NPS (0–10) during the cold-water

immersion (QST + CPM) at the temperature they set 6/10 on NPS (0–10) during the initial time (T0). Non-responders showed a difference in the count on NPS (HPT1 – HPT0) equal to zero or higher, and for responders, these values would be lower than zero.³¹

Pain measures, sleep quality, pain catastrophizing, depressive symptoms, demographic data and medical comorbidities. All instruments have been validated for the (name of country) population. Two evaluators with specific training were responsible for all assessments.

FIQ32 was used to evaluate the impact of symptoms on quality of life. The FIQ consists of 10 domains and items comprising questions to assess the patient's ability to perform routine activities of daily living, fatigue, morning, stiffness, mood, anxiety and depression. Higher scores indicate worst conditions, and the maximum score is 100.^{32,33}

VAS ranged from no pain (0 mm) to worst pain possible (100 mm),³⁴ according to participants' pain score in most days in the last 3 months.

Analgesic use was defined by an average of analgesic used per week during the previous month. For data analysis, analgesic use was included as a dichotomous variable (the use of analgesics at least four or fewer days per week or the use for more than 4 days per week). This approach was chosen because patients with chronic pain rescue analgesic use change each week, depending on their level of pain.

BP-PCS33 was used to evaluate the pain catastrophizing. The BP-PCS is a self-administered questionnaire that consists of 13 items. It is divided into three dimensions of catastrophizing in response to pain: rumination, magnification and helplessness.³⁵ The BP-PCS total score ranges from 0 to 52 points.

BDI was used to evaluate depressive symptoms.³⁶

PSQI was used to measure the quality and patterns of sleep over the last month.³⁷

Standardized questionnaire: a standardized query was used to assess demographic data and medical comorbidities. Patients were requested to provide information about their age, sex, level of education, marital status and lifestyle habits. They also provided information about their health status, including clinical and psychiatric diagnoses, the latter assessed by the Mini-international Neuropsychiatric Interview (MINI).³⁸

Neuroplasticity state biomarkers (BDNF and S100B). To assess the neuroplasticity state biomarkers, we evaluated using serum levels of BDNF and S100B collected in plastic tubes and centrifuged for 10 minutes at 4500 r/min at 4°C in a –80°C freezer for further BDNF assays. All samples were assayed in duplicate to avoid intra-assay variation. BDNF serum level was

analysed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using monoclonal antibodies specific for BDNF (R&D Systems, MN, USA, catalogue number DY248, BDNF with the lowest detection limit = 11.7 pg/mL). The plates were incubated with capture antibody overnight (room temperature). After incubation, the plates were washed. The samples and standards were added in the plate and incubated by 2 hours and washed again. The detection antibody was added and incubated for 2 hours. After another washing, Streptavidin–horseradish peroxidase (HRP) conjugate was added and after 20 minutes of incubation, the last washing step was done. Thus, the substrate solution was added, and after 20 minutes, the reaction was stopped by the addition of acidic solution. Optical density was measured using an ELISA reader at a wavelength of 450 nm (GloMax®- Multi Microplate Reader; Promega, WI, USA) for the assay measurements.

Human S100B ELISA and enzyme-linked immunosorbent assay kit (EZHS100B-33K; Millipore, MI, USA, the lowest detection limit is 2.7 pg/mL) were used to determine serum levels. The sample was incubated by 2 hours after it was washed and the monoclonal anti-human S100B antibody was added. After another washing, Streptavidin–HRP conjugate was added and after 30 minutes of incubation, the last washing step was done. Thus, the substrate solution was added, and after 20 minutes, the reaction was stopped by the addition of acidic solution. All the S100 measurements were performed at 30 °C. Optical density was measured using an ELISA reader at a wavelength of 450 nm (GloMax®-Multi Microplate Reader; Promega, WI, USA) for the assay measurements. For all experiments, the absorbance is proportional to the concentration of S100B, according to the standard curve used.

Efforts to address potential sources of bias. To reduce assessment bias, two researchers with vast clinical expertise to treat outpatients in pain clinic were responsible for making the diagnostics according to pre-specified criteria. Two evaluators with specific training were responsible for all assessments and to apply the standardized protocol to assess the QST and the CPM-task.

Statistical analysis

An estimated 102 subjects would be needed to provide 80% power for a receiver operating characteristic (ROC) study, assuming the area under the curve (AUC) is 0.7 with a two-sided α of 0.05.³⁹ Finally, considering the likely attrition rate and other unexpected factors, we increased the sample by 15%, and the required sample size was 117 patients.

To summarize the main socio-demographic features of the sample, we used a descriptive statistic. t-tests for independent samples or Wilcoxon–Mann–Whitney, chi-square and Fisher’s exact tests were performed to compare variables between responders and non- responders’ group. To control potential confounding variables on the relationship between changes in NPS (0-10) during CPM test, classified as responder and non-responders, we performed a forward stepwise hierarchical binary logistic regression model (Table 3).^{2,40} A p value of less than 0.10 was required for a factor to be included in a hierarchical regression model. Considering that several variables can affect the DPMS, we constructed a propensity score-adjusted index.²² This multivariate analysis considered the hierarchical relationships between the proposed factors. The first hierarchical model included demographic data that could directly or indirectly determine all the variables analysed in the additional hierarchical levels. The odds ratio (OR) values resulting from the multi- variate analysis were not derived from the full model with all variables, but from the equation corresponding to the level at which the factor of interest was first entered. This avoids the possibility that mediating variables will reduce some of the explanatory power of more distant determinants.

The nonparametric ROC analysis was performed to differentiate the properties of propensity score index in each step according to the spectrum of non-responders and responders to CPM-task. The AUCs with exact binomial 95% confidence intervals (CI) are presented. The cutoff values with the highest Youden index, with 90% sensitivity and with 100% specificity is presented each one of four indexes and all they showed a ROC AUC higher than 0.68. Statistical significance was set to a p value of 0.05, two-tailed. Data were analysed using SPSS software version 22.0 (SPSS, Chicago, IL).

Results

Patient characteristics

We screened 164 potential participants with a diagnosis of fibromyalgia, and we included 117 in the study. Thirty-seven not fulfilling the diagnostic criteria for fibromyalgia or presented pain level on most days for the last 3 months was defined in the protocol (NPS 6/10) and 10 had another clinical diagnosis defined as exclusion criteria (rheumatoid arthritis, lupus, non- compensate hypothyroidism, etc.). All enrolled sub- jects participated in a complete assessment of the study and were included in all analyses (Table 1). All patients presented a detectable level of BDNF and S100B according to their detection limits.

Univariate analysis

Relationships between outcome and spectrum of responder and non-responders to CPM test. Pain catastrophizing, disability and quality of life are related to fibromyalgia, pain scores on the VAS, HPT, depressive symptoms, sleep quality and serum levels of BDNF and S100-B calcium protein according to the spectrum of responders and non-responders to CPM-task (Table 2).

Putative markers of neuroplasticity BDNF and S100-B protein as a tool to detect the failure of DPMS. To explore how the putative markers of neuroplasticity BDNF and S100-B protein are related to CPM dysfunction, their discriminate properties to screen non-responders to CPM-task using their serum levels are presented in Table 3. The respective cutoff points each one of them would offer were at least 90% or higher sensitivity, and they reached 80% or higher in the specificity as shown in Table 3.

The ability of each of these putative markers of neuro- plasticity to discriminate non-responders to CPM-task from responders is presented in Figure 2. By setting the AUC, the ability for BDNF (cutoff point >20.19) to distinguish non-responders to CPM-task was 67%, providing 90% sensitivity and 85% specificity. The ability for S100B protein (cutoff point >7.56) to identify correctly non-responders to the CPM-task was 58%, providing 88% sensitivity and 89% specificity.

Table 1. Demographic and clinical characteristics of the study sample. Values are given as the mean (SD) or frequency ($n = 117$).

	Non-responder ($n = 60$)	Responder ($n = 57$)	p value
Age (years)	48.43 (9.29)	50.54 (7.84)	0.19
Body index	28.38 (4.70)	27.83 (5.02)	0.54
Education (years)	10.28 (4.20)	10.60 (4.12)	0.68
Smoking (Yes/No)	12/48	9/48	0.36
Clinical comorbidity (Yes/No)	25/35	28/29	0.27
Hypertension (Yes)	27	23	
Diabetes (Yes)	7	9	
Hypothyroidism (Yes)	0	1	
Asthma (Yes)	1	0	
Other (Yes)	2	0	
Number of days analgesic used per week in the last 3 months (<4 times/>4 times) **	11/49	20/37	0.03
Acetaminophen/Dipirone (Yes)	29	16	
Dorflex (Yes)	21	16	
NSAID (Yes)	7	5	
Opioid (Yes)	2	0	
Psychiatric disorder according to MINI (Yes/No) *	23/37	20/41	0.43
Major depressive episode with dysthymia	25	21	
Manic-depressive disorder	7	6	
Post-traumatic stress disorder	3	3	
Generalized anxiety disorder	3	3	
Active use of central nervous system active medication (Yes/No) **	22/38	16/41	0.21
Antidepressant ($n/\%$)	14	15	
Anticonvulsant ($n/\%$)	2	2	
Benzodiazepine ($n/\%$)	2	5	

NSAID: nonsteroidal anti-inflammatory drugs; MINI: mini-international Neuropsychiatric Interview.

**Some patients were using more than one type of drug; *Some patients were more than one psychiatric disorder

Table 2. Relationship of the outcomes and the main interest factor according to the spectrum of responders and non-responders to CPM-task. Data are presented as mean and standard error ($n = 117$).

	Non-responders ($n = 60$)	Responders ($n = 57$)	p value
Visual analogue scale ^a	7.49 (1.68)	6.81 (1.58)	0.03
Beck depression inventory II (BDI-II) ^a	25.43 (11.49)	20.09 (8.87)	0.00
Brazilian Portuguese pain catastrophizing scale ^a	35.73 (10.55)	26.95 (12.09)	0.00
Pittsburgh sleep quality index (PSQI) ^a	19.45 (7.01)	15.75 (8.20)	0.01
Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (ng/mL) ^a	50.58 (29.34)	40.61 (21.14)	0.03
S100-B calcium protein (pg/mL) ^a	22.18 (11.04)	17.06 (8.22)	0.02
Fibromyalgia impact questionnaire (FIQ) ^a	69.24 (13.06)	58.75 (13.66)	0.00
Change in numerical pain scale during CPM-task ^b	1.20 (1.02)	-1.90 (1.38)	0.00

CPM: conditioned pain modulation.

^aCompared by t -test for independent sample.

^bCompared by the Mann-Whitney test.

Multiple conditional logistic regression analysis to construct the propensity score-adjusted index to identify factors according to the spectrum of responders and non-responders to CPM-task.

The variables retained in the multiple conditional logistic regression analysis to construct the propensity score-adjusted index to quantifying those likely to be non-

responders to CPM-task. Potential factors related to a greater propensity to the spectrum of responders and non-responders to CPM- task are summarized in Table 4. The OR values resulting from the multivariate analysis were not derived from the full model with all variables, but from the equation corresponding to the level at which the risk factor of interest was first entered.

Table 3. ROC analysis to detect the failure of DPMS according to the serum levels of BDNF and S100B protein (n = 117).

	AUC	95% CI	Cutoffs	Sensitivity	Specificity
Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (ng/mL)					
	0.67	(0.57–0.77)	7.6900	1.000	1.000
			10.2100	1.000	0.982
			11.9250	1.000	0.965
			12.4600	1.000	0.947
			13.9700	0.983	0.977
			16.4850	0.983	0.950
			18.3500	0.983	0.912
			19.2550	0.983	0.895
			19.9050	0.983	0.895
			20.1950	0.983	0.895
Serum S100-B protein (ng/mL)					
	0.58	(0.45–0.66)	3.9600	1.000	1.000
			5.4950	1.000	0.965
			6.1650	0.983	0.947
			6.3450	0.983	0.930
			6.5750	0.933	0.930
			6.9450	0.917	0.912
			7.2900	0.900	0.895
			7.5650	0.883	0.895

AUC: area under the curve; CI: confidence interval; ROC: receiver operator characteristics.

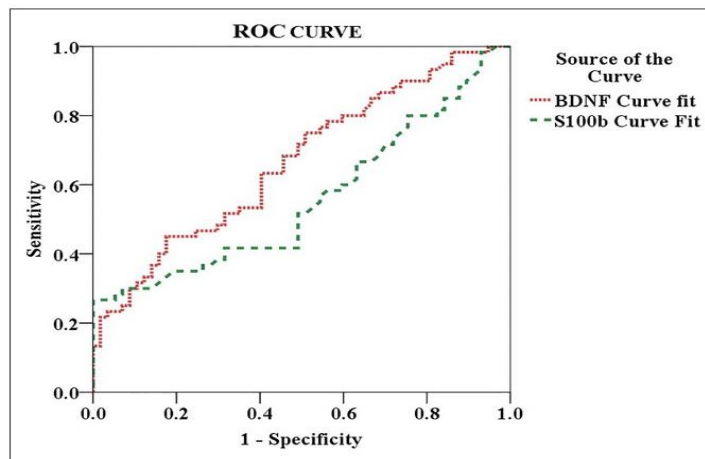


Figure 2. Nonparametric receiver operating characteristics (ROC) analyses. The area under the curve (AUC) with exact binomial 95% confidence intervals (CIs) according to each cutoff point of serum BDNF and S100-B protein is presented in Table 3.

On the first level of the model, the variables such as analgesic use (four or more than four times per week) and the HPT presented a higher risk for non-responders to CPM-task with an OR = 4.33 and OR = 1.18, respectively. Lowering each Celsius degree to detect the HPT increased the risk for non-responders to CPM-task by 18%. On the second level, a higher propensity for non-responders to CPM-task was associated with poor sleep quality (OR = 2.66), higher pain catastrophizing (OR = 3.67) and higher levels of serum BDNF (OR = 3.72). On the third level, compared to the absence of psychiatric with one and two or more psychiatric diagnoses showed a higher risk for nonresponders to CPM-task (OR 4.65 and 6.07, respectively). On the fourth level, a higher impact of symptoms of fibromyalgia on quality of life had a strong association with non-responders to CPM-task (OR = 6.86).

The composite index of symptoms associated with fibromyalgia and putative neuroplasticity markers as a tool to detect the failure of DPMS. To screen non-responders to CPM-task using the scores of each one of these indexes according to each step, variables retained in each level of hierarchical multiple conditional logistic regression analysis are presented in Table 5. These measures with their respective cutoff points each one of them would offer were at least 90% or higher sensitivity and they reached 80% or higher in the specificity as shown in Table 5.

The ability of each set of variables that constitute indexes to discriminate non-responders to CPM-task from responders is presented in Figure 3. Setting the AUC showed that the severity of fibromyalgia symptoms, together with the neuroplasticity biomarkers, permitted us to construct a score that offers 100% sensitivity and 98% specificity to screening patients with a failure of the DPMS upon the paradigm to nonresponders to the CPM-task.

Table 4. Hierarchical multiple conditional logistic regression analysis to assess predictors for responsiveness to CPM-task failure in fibromyalgia ($n = 117$).

	Beta	SEM	Wald	p	Odds ratio	CI 95%
Analgesic used (<4 times/ \geq 4 times per week)	1.466	0.576	6.480	0.011	4.33 ^a	(1.40–13.38)
Heat pain threshold (HPT)	0.168	0.069	5.959	0.015	1.18 ^a	(1.03–1.36)
Pittsburgh sleep quality index (PSQI, cutoff- $Q_{25} \geq 17$)	0.978	0.496	3.889	0.049	2.66 ^b	(1.06–7.03)
Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) ≥ 58.11 (ng/mL)	1.314	0.549	5.732	0.017	3.72 ^b	(1.27–10.91)
Brazilian Portuguese pain catastrophizing scale ≥ 33	1.300	0.477	7.432	0.006	3.67 ^b	(1.44–9.34)
Number of psychiatric diagnosis						
None			5.827	0.054		
One diagnosis	1.537	0.753	4.163	0.041	4.65 ^c	(1.06–20.36)
Two or more diagnoses	1.804	0.752	5.747	0.017	6.07 ^c	(1.39–26.54)
Fibromyalgia impact questionnaire (FIQ) ≥ 78	1.927	0.775	6.189	0.013	6.86 ^d	(1.50–31.34)

FIQ: fibromyalgia impact questionnaire

Hierarchical multiple regression analysis. Cutoff point at quartile (cutoff- Q).

^aModel 1: *First block* – age, score on VAS (cutoff ≥ 7), analgesic use (four or more than 4 days per week), heat pain threshold (HPT), psychotropic medication (antidepressant and anticonvulsants).

^bModel 2: *Second block* – model I along with catastrophizing pain (cutoff- $Q_{25} = 33$), S100B (cutoff- $Q_{75} = 23.43$), BDNF (cutoff- $Q_{75} = 58.11$) and PSQI (cutoff- $Q_{25} \geq 17$).

^cModel 3: *Third block* – model II along with depressive symptoms by BDI-II, number of psychiatric diagnoses according to the MINI (major depressive episode with dysthymia, mania-depressive disorder and generalized anxiety disorder).

^dModel 4: *Fourth block* – model III along with FIQ (cutoff- $Q_{75} = \geq 78$) to assess the impact of symptoms on quality of life.

Table 5. ROC analysis to detect the failure of DPMS according to the index of propensity score of each step of the hierarchical multiple logistic regression model ($n = 117$).

AUC	95% CI	Cutoffs	Sensitivity	Specificity
Step I – (model I: analgesic use (four or more than 4 days per week) and HPT)				
0.681	(0.58–0.78)	0.2185269	0.982	0.983
		0.2283567	0.965	0.967
		0.2412153	0.965	0.950
		0.2471011	0.965	0.933
		0.2535917	0.947	0.933
		0.2612195	0.947	0.917
Step II – (model II: model I along with catastrophizing pain (cutoff-$Q_{25} = 33$), BDNF (cutoff-$Q_{75} = 58.11$) and PSQI (cutoff-$Q_{75} \geq 17$))				
0.785	(0.70–0.87)	0.0564277	1.000	0.983
		0.0736317	1.000	0.967
		0.0814282	1.000	0.950
		0.0838870	0.982	0.950
		0.0892560	0.982	0.933
		0.0942823	0.982	0.917
		0.0962838	0.982	0.900
Step III – (model III: model II along with number of psychiatric diagnosis according to the MINI (major depressive episode with dysthymia, maniac-depressive disorder and generalized anxiety disorder))				
0.818	(0.74–0.89)	0.0153715	1.000	0.983
		0.0305837	1.000	0.967
		0.0388753	1.000	0.950
		0.0442709	1.000	0.933
		0.0537171	1.000	0.917
		0.0593224	1.000	0.900
		.0610924	0.982	0.900

(Continued)

Table 5. (Continued)

AUC	95% CI	Cutoffs	Sensitivity	Specificity
Step IV – global index (model 4: model III along with FIQ (cutoff- $Q_{75} = \geq 78$)				
0.832	(0.75–0.90)	0.0089371	1.000	0.983
		0.0139259	1.000	0.967
		0.0193599	1.000	0.950
		0.0263755	1.000	0.933
		0.0318990	1.000	0.917
		0.0349366	1.000	0.900

AUC: area under the curve; BDNF: brain-derived neurotrophic factor; CI: confidence interval; ROCs: receiver operator characteristics; FIQ: fibromyalgia impact questionnaire; PSQI: Pittsburgh sleep quality index; HTP: heat pain threshold.

Discussion

We constructed a framework that integrates the severity symptoms related to fibromyalgia with the changes in the neuroplasticity state to comprehend their relationships with the paradigm of the efficiency of DPMS according to the spectrum of the responders and nonresponders to the CPM-task. More precisely, under a conceptual perspective, our findings might explain the pathophysiological processes that underlie the fibromyalgia from a biopsychosocial heuristic model. Thus, they bring attention towards their value to improve the diagnosis with the perspective to the appraisal of some of its mediators in serum could accelerate the translation of results to the bedside. In the sense, CSS is a primary mechanism of the fibromyalgia pathophysiology, characterized to be a continuum phenomenon in which patients may lie at one of its extremes. 41 It is worth noting that as expected that the severity of this cluster of fibromyalgia symptoms can be useful to identify patients prone to have a higher dysfunction of DPMS, which could be used as biofeedback for helping patients engage in therapeutics and rehabilitation interventions. Likewise, it aids in reducing the psychological and economic burden and could steer resources towards cost-effective interventions.

Aligned with this perspective, the reliability of serum BDNF reached 67% according to AUC, that is, its positive predictive value to identify non-responder to CPM-task. This result is supported by an earlier study that found that the inefficiency of DPMS was associated with higher serum BDNF in the myofascial pain syndrome 31 and likewise, results were observed in patients with different conditions of musculoskeletal pain. 42 Although the BDNF effect on pain processing may be specific of each region of the central nervous system (i.e. spine, brainstem, hippocampus, cortex, etc.), 43 our findings suggest that it can be a proxy marker to

indicate the imbalance of DPMS. According to preclinical study, the BDNF at the brainstem DPMS, either periaqueductal grey (PAG) or rostral ventromedial medulla (RVM) is originated from neurons in PAG, and the activation of TrkB signalling by BDNF in RVM induces facilitation in the descending pain pathway.⁴⁴ Likewise, the BDNF activates specific nucleons of raphe magnus (NRM) responsible for facilitation in the DPMS. Although the serum levels of BDNF are an indirect measure of the BDNF in the brain, the literature data show that the brain contributes to 70–80% of circulating BDNF.^{2,3,45} Thus, changes in serum BDNF can indicate a dysfunction of the central nervous system, given the growing literature showing a lower serum BDNF in patients with major depression, whereas in fibromyalgia, its levels are high.^{46,47} These differences suggest that the serum BDNF indicates that a neuroplasticity process underpins the pathophysiological mechanisms of each of the two conditions, which is over-activated in chronic pain. However, we need parsimony in the interpretation of these results, and more data are required to conclude that the generation of BDNF is a compensatory mechanism related to the physiopathology of fibromyalgia.

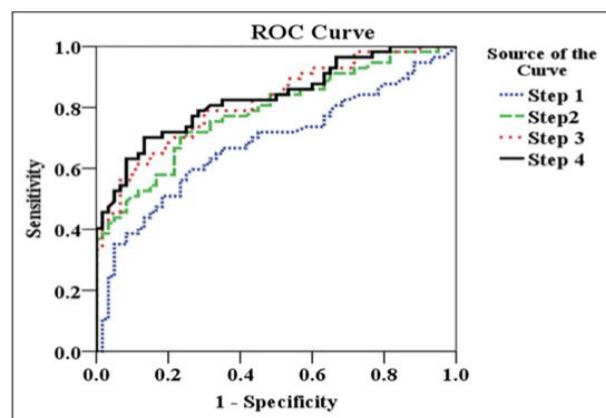


Figure 3. Nonparametric receiver operating characteristics (ROC) analyses. The area under the curve (AUC) with exact binomial 95% confidence intervals (CIs) according to each step of hierarchical multiple regression analysis is presented in Table 4. The ROC shows the discriminant properties of the set of variables retained in each block. Variable retained in step I: analgesic use (four or more than 4 days per week) and heat pain threshold (HPT). Step II: step I along with catastrophizing pain (cutoff- Q_{25} = 33), BDNF (cutoff- Q_{75} = 58.11) and PSQI (cutoff- Q_{25} > 17). Step III: step II along with the number of psychiatric diagnoses according to the MINI (major depressive episode with dysthymia, manic-depressive disorder and generalized anxiety disorder). Step IV: step III along with FIQ (cutoff- Q_{75} =>78) to assess the impact of symptoms on quality of life.

According to the AUC of S100B protein, its reliability properties to identify non-responder to CPM-task is closer to 0.50, which is mildly better than chance. Although a higher level of 100B protein in brain regions has been associated with pain signalling, this is the first study to extent data of its relationship with the DPMS function. According to a study using mice models with S100B, overexpressing decreased significantly the tactile threshold in comparison to wild-type mice. Whereas, S100B knockout mice did not develop mechanical hypersensitivity after spinal nerve transection. Likewise, a clinical study found that higher serum S100-B was associated with lower pain pressure threshold in fibromyalgia. 48 Also, in healthy females, the serum S100B was correlated with the concentration in oligodendrocytes, particularly in the frontal, parietal, corpus callosum, dorsolateral prefrontal and temporal white matter, 10,49 and, to a lesser degree, in the dorsolateral prefrontal and temporal cortices. 10 Increased S100B in minor depression has been suggested early glial pathology that precedes specific neuronal changes such as in major depression. 50 Overall, these data suggest that its serum level can be a proxy marker of white matter structural changes, and it could indirectly indicate the role of neuroglia in the physiopathology of chronic pain. Given the close link between neuroinflammation and chronic pain and the limited reliability of serum levels of S100B to discriminate the dysfunction of DPMS, we could consider that the S100B protein may have a critical role in mediating central pain sensitization and this process can include the dysfunction of DPMS.

Our study showed that the dysfunction of DPMS is associated with the emotional burden (e.g. depressive symptoms, number of psychiatric diagnoses, pain catastrophizing and disability due to pain). This result is aligned with what we observe in a clinical setting, where the severity of psychological symptoms is a factor associated with the severity of the disease, and it has been demonstrated that it can be a predictive factor of treatment response. 51–53 The multivariate model showed that these symptoms are positively correlated to dysfunction in the DPMS. Thus, this result confirms our hypothesis that the severity of fibromyalgia symptoms, related to psychological characteristics, may indicate the failure of DPMS.

Scores equal or higher than the value of the cutoff point to identify non-responders to CPM-task in the composite index showed a [AUC] = 0.83, sensitivity = 100% and specificity = 98%. Noteworthy, these results confirm our hypothesis that the dysfunction of DPMS is correlated with the fibromyalgia symptoms' severity and that it interferes with functional disability. They permit clinicians to identify patients with a higher propensity to have a failure

of DPMS based on the impact of fibromyalgia symptoms on personal and professional relationships, physical activity, work and social commitments. The relevance of these findings is even more significant because they indicate that only the intensity of diffuse pain does not provide support to identify the severity of the inefficacy of the DPMS, which may be an intermediate signal to enable more effective diagnosis and better management of symptoms.

Scores higher than 0.056 on index in the step II (PSQI indicating bad sleep quality, higher level of pain catastrophizing and high levels of BDNF), together with use of analgesic (four or more than four days per week) determined to identify dysfunction of DPMS by the spectrum of the non-responders to CPM-task showing [AUC] = 0.78, sensitivity = 100% and specificity = 98%. According to previous studies, better functioning of pain inhibition was positively associated with sleep efficiency and with the sleep duration in different pain conditions (i.e. temporomandibular joint disorders, 54 rheumatoid arthritis 55 and fibromyalgia).56 On neurobiological grounds, these findings may be explained by common neurotransmitters involved in sleep, depressive symptoms and DPMS function, including noradrenaline (NA), serotonin (5HT) and dopamine (DA). As far pain modulation, according to preclinical studies, the DPMS depends on endogenous opioids in the PAG and noradrenergic projections from the locus coeruleus 57–59 which dampens nociceptive afferents at the spinal dorsal horn; 60 noteworthy, the PAG matter – a fundamental DPMS structure 27,61 has also been shown to be correlated with sleep effectiveness. 62 In this line, an experimental study using functional magnetic resonance imaging (fMRI) showed that, relative to controls, fibromyalgia patients deactivated the rostral anterior cingulate cortex (rACC).63 This functional imaging study suggests that in fibromyalgia brainstem dysfunctional structures involved in pain inhibition are also included in sleep regulation, depressive symptoms and pain catastrophizing. In humans, it seems that the perceived level of the conditioned stimulus pain can be affected by cognitive manipulation. These results suggest that the mood can influence the CPM response rather than solely on its physical intensity. 26 Although the design of this study does not permit to determine the causal directionality, it is possible that impaired DPMS engenders pain catastrophizing, depressive symptoms and sleep disturbances in fibromyalgia patients.

Previous studies have demonstrated that pain catastrophizing is processed in brain areas less activated during the CPM test, such as the secondary somatosensory cortex, the dorsolateral prefrontal cortex, the anterior cingulate cortex and the cerebellum. 64–67 In addition, another

study showed that pain catastrophizing was positively correlated with blood pressure 68 and a similar correlation was observed between blood pressure levels and the CPM responses. 69,70 According to meta-analysis, a positive correlation of pain catastrophizing with electrical-based CPM could be mediated by the autonomic nervous system. 26 Also, a higher pain catastrophizing could lead to enhanced pain perception, with a higher CPM efficiency by the attention bias. 71 From a treatment perspective, a better therapeutic approach (i.e. cognitive therapy, antidepressant, mindfulness, etc.) might restore the DPMS efficacy and the cluster of fibromyalgia symptoms. Although further prospective studies will need to sort out the directionality of this relationship between the failures of DPMS with these main symptoms of fibromyalgia, their relevance is their potential as a marker of therapeutic efficacy.

Concerns are related to the design and interpretation of these results. The downward negative spiral of DPMS dysfunction has severe clinical consequences, as follows: first, we included only women because it is recognized that exist sex differences in the pain threshold, pain processing in the brain and in the circuitry of descending pain modulation (from midbrain to brainstem to spinal cord) has been found to be robustly sexually dimorphic. 72 Besides, the majority of studies described higher CPM responses in males. 73 Although a more homogeneous sample reduces the potential for confounding bias, it limits the external validity. Second, we include young and middle-aged adults since it has demonstrated an age-dependent decline in CPM responses (i.e. middle-aged adults showed decreased CPM responses compared with younger adults but not with older adults). 73 Third, AUC corresponds to the probability of correctly identifying the condition of interest from 'noise' and is generally accepted as satisfactory when >0.7 . The ROC curve is the inherent validity of a test for identifying a condition of nonresponders to CPM-task requires analysis of the tradeoff between sensitivity and specificity. Finally, we constructed a propensity score-adjusted index to adjust the relationship between dependent variables according to the spectrum of the responders and nonresponders to CPM-task and all patients received a standardized stimulus in order not to bias towards the paradigm to measure CPM-task.

These results showed in an integrative perspective that in fibromyalgia the severity of main symptoms might identify patients prone to the inefficiency of DPMS according to the spectrum of responders and non-responders to CPM-task. Also, they highlight that the neuroplasticity mediators, such as BDNF and S100-B protein, could corroborate to validate the CPM-task as a test that allows for inference regarding the loss of descending pain inhibition.

Thus, the CPMtask is a simple, useful test to help in the individualized clinical decision-making process based on its potential predictive properties for patient's response to therapy.

Contributorship

Matheus Dorigatti Soldatelli, Vinicius Souza dos Santos, Iraci Lucena da S. Torres, Felipe Fregni and Wolnei Caumo were involved in the study concept and design, acquisition of data or analysis and interpretation of data; Matheus Dorigatti Soldatelli, Timo Siepman, Bem Min-Woo Illigens, Felipe Fregni and Wolnei Caumo contributed to drafting/revising the manuscript for important intellectual content; and all the authors contributed to the approval of the final version to be published.

Conflict of interest

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship and/or publication of this article.

Funding

The author(s) disclosed receipt of the following financial support for the research, authorship and/or publication of this article: This research was supported by grants and material support from the following Brazilian agencies: Committee for the Development of Higher Education Personnel – CAPES – PNPD/CAPES (material support); National Council for Scientific and Technological Development – CNPq (grants to Dr Wolnei Caumo and Dr Iraci Lucena da S. Torres); Postgraduate Research Group at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (material support); Foundation for Support of Research at Rio Grande do Sul (FAPERGS) (material support); and Brazilian Innovation Agency (FINEP), Process No. 1245/12 (Dr Wolnei Caumo).

Guarantor

W.C. is the guarantor of this article.

ORCID iD

Wolnei Caumo

<https://orcid.org/0000-0002-5083-4658>

References

1. Asmundson GJ, Norton PJ and Norton GR. Beyond pain: the role of fear and avoidance in chronicity. *Clin Psychol Rev* 1999; 19(1): 97–119.
2. Pan W, Banks WA, Fasold MB, et al. Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood-brain barrier. *Neuropharmacology* 1998; 37(12): 1553–1561.
3. Poduslo JF and Curran GL. Permeability at the blood-brain and blood-nerve barriers of the neurotrophic factors: NGF, CNTF, NT-3, BDNF. *Brain Res Mol Brain Res* 1996; 36(2): 280–286.
4. Coull JAM, Beggs S, Boudreau D, et al. BDNF from microglia causes the shift in neuronal anion gradient underlying neuropathic pain. *Nature* 2005; 438(7070): 1017–1021.
5. Latremoliere A and Woolf CJ. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *J Pain* 2009; 10(9): 895–926.
6. Inoue K and Tsuda M. Microglia in neuropathic pain: cellular and molecular mechanisms and therapeutic potential. *Nat Rev Neurosci* 2018; 19(3): 138–152.
7. Yunus MB. Fibromyalgia and overlapping disorders: the unifying concept of central sensitivity syndromes. *Semin Arthritis Rheum* 2007; 36(6): 339–356.
8. Yunus MB. Central sensitivity syndromes: a new paradigm and group nosology for fibromyalgia and overlapping conditions, and the related issue of disease versus illness. *Semin Arthritis Rheum* 2008; 37(6): 339–352.
9. Caumo W, Antunes LC, Elkfury JL, et al. The central sensitization inventory validated and adapted for a Brazilian population: psychometric properties and its relationship with brain-derived neurotrophic factor. *J Pain Res* 2017; 10: 2109–2122.
10. Steiner J, Bernstein HG, Bielau H, et al. Evidence for a wide extra-astrocytic distribution of S100B in human brain. *BMC Neurosci* 2007; 8: 2.
11. Schroeter ML, Abdul-Khaliq H, Krebs M, et al. Serum markers support disease-specific glial pathology in major depression. *J Affect Disord* 2008; 111(2–3): 271–280.
12. Schroeter M, Sacher J, Steiner J, et al. Serum S100B represents a new biomarker for mood disorders. *Curr Drug Targets* 2013; 14(11): 1237–1248.
13. Kowianski P, Lietzau G, Czuba E, et al. BDNF: a key factor with multipotent impact on brain signaling and synaptic plasticity. *Cell Mol Neurobiol* 2018; 38(3): 579–593.
14. Stefani LC, Torres IL, de Souza IC, et al. BDNF as an effect modifier for gender effects on pain thresholds in healthy subjects. *Neurosci Lett* 2012; 514(1): 62–66.
15. Yarnitsky D, Arendt-Nielsen L, Bouhassira D, et al. Recommendations on terminology and practice of psychophysical DNIC testing. *Eur J Pain* 2010; 14: 339–339.
16. Le Bars D, Dickenson AH and Besson JM. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurones in the rat. *Pain* 1979; 6: 283–304.
17. Baba Y, Kohase H, Oono Y, et al. Effects of dexmedetomidine on conditioned pain modulation in humans. *Eur J Pain* 2012; 16(8): 1137–1147.

18. Treister R, Pud D and Eisenberg E. The dopamine agonist apomorphine enhances conditioned pain modulation in healthy humans. *Neurosci Lett* 2013; 548: 115–119.
19. Lindstedt F, Berrebi J, Greayer E, et al. Conditioned pain modulation is associated with common polymorphisms in the serotonin transporter gene. *PLoS ONE* 2011; 6(3): e18252.
20. Laurito CE, Baughman VL, Becker GL, et al. The effectiveness of oral clonidine as a sedative/anxiolytic and as a drug to blunt the hemodynamic responses to laryngoscopy. *J Clin Anesth* 1991; 3: 186–193.
21. Hughes JW, Watkins L, Blumenthal JA, et al. Depression and anxiety symptoms are related to increased 24-hour urinary norepinephrine excretion among healthy middle-aged women. *J Psychosom Res* 2004; 57(4): 353–358.
22. Horjales-Araujo E, Demontis D, Lund EK, et al. Polymorphism in serotonin receptor 3B is associated with pain catastrophizing. *PLoS ONE* 2013; 8(11): e78889.
23. Karg K, Burmeister M, Shedden K, et al. The serotonin transporter promoter variant (5-HTTLPR), stress, and depression meta-analysis revisited. *Arch Gen Psychiatry* 2011; 68(5): 444–454.
24. Caumo W, Schmidt AP, Schneider CN, et al. Risk factors for postoperative anxiety in adults. *Anaesthesia* 2001; 56(8): 720–728.
25. Racine M, Tousignant-Laflamme Y, Kloda LA, et al. A systematic literature review of 10 years of research on sex/gender and experimental pain perception – Part 1: are there really differences between women and men. *Pain* 2012; 153(3): 602–618.
26. Nahman-Averbuch H, Nir R-R, Sprecher E, et al. Psychological factors and conditioned pain modulation. *Clin J Pain* 2016; 32: 541–554.
27. Boyer N, Dallel R, Artola A, et al. General trigeminospinal central sensitization and impaired descending pain inhibitory controls contribute to migraine progression. *Pain* 2014; 155(7): 1196–1205.
28. Schmidt-Wilcke T and Clauw DJ. Fibromyalgia: from pathophysiology to therapy. *Nat Rev Rheumatol* 2011; 7: 518–527.
29. Schestatsky P, Valls-Sole J, Costa J, et al. Skin autonomic reactivity to thermoalgesic stimuli. *Clin Auton Res* 2007; 17(6): 349–355.
30. Schestatsky P, Stefani LC, Sanches PR, et al. Validation of a Brazilian quantitative sensory testing (QST) device for the diagnosis of small fiber neuropathies. *Arq Neuropsiquiatr* 2011; 69(6): 943–948.
31. Botelho LM, Morales-Quezada L, Rozisky JR, et al. A framework for understanding the relationship between descending pain modulation, motor corticospinal, and neuroplasticity regulation systems in chronic myofascial pain. *Front Hum Neurosci* 2016; 10: 308.
32. Marques P, Barsante Santos AM, Matsutani LA, et al. Validation of the Brazilian version of the fibromyalgia impact questionnaire (FIQ). *Rev Bras Reum* 2006; 46: 4570.
33. Sehn FF, Chachamovich EMDP, Vidor LP, et al. Cross-cultural adaptation and validation of the Brazilian Portuguese version of the pain catastrophizing scale. *Pain Med* 2012; 13(11): 1425–1435.
34. Kersten P, White PJ and Tennant A. Is the pain visual analogue scale linear and responsive to change? An exploration using Rasch analysis. *PLoS ONE* 2014; 9(6): e99485.

35. Sullivan MJL, Bishop SR and Pivik J. The pain catastrophizing scale: development and validation. *Psychol Assess* 1995; 7: 524–532.
36. Gomes-Oliveira MH, Gorenstein C, Lotufo Neto F, et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the beck depression inventory-II in a community sample. *Braz J Psychiatry* 2012; 34(4): 389–394.
37. Bertolazi AN, Fagundes SC, Hoff LS, et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Pittsburgh sleep quality index. *Sleep Med* 2011; 12(1): 70–75.
38. Amorim P. Mini international neuropsychiatric interview (MINI): validation of a short structured diagnostic psychiatric interview. *Rev Bras Psiquiatr* 2000; 22: 106–115.
39. Hanley JA and McNeil BJ. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology* 1982; 143: 29–36.
40. Manuscript A, Plasticity CN, Latremoliere A, et al. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *J Pain* 2009; 10: 895–926.
41. Wolfe F and Walitt B. Culture, science and the changing nature of fibromyalgia. *Nat Rev Rheumatol* 2013; 9(12): 751–755.
42. Caumo W, Deitos A, Carvalho S, et al. Motor cortex excitability and BDNF levels in chronic musculoskeletal pain according to structural pathology. *Front Hum Neurosci* 2016; 10: 357.
43. Spezia Adachi LN, Quevedo AS, de Souza A, et al. Exogenously induced brain activation regulates neuronal activity by top-down modulation: conceptualized model for electrical brain stimulation. *Exp Brain Res* 2015; 233(5): 1377–1389.
44. Guo W, Robbins MT, Wei F, et al. Supraspinal brain-derived neurotrophic factor signaling: a novel mechanism for descending pain facilitation. *J Neurosci* 2006; 26(1): 126–137.
45. Laske C and Eschweiler G. Brain-derived neurotrophic factor: from nerve growth factor to modulator of brain plasticity in cognitive processes and psychiatric diseases. *Nervenari* 77: 523–537.
46. Molendijk ML, Bus BAA, Spinhoven P, et al. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in major depressive disorder: state-trait issues, clinical features and pharmacological treatment. *Mol Psychiatry* 2011; 16(11): 1088–1095.
47. Stefani LC, Leite FM, da Graça L, et al. BDNF and Serum S100B levels according the spectrum of structural pathology in chronic pain patients. *Neurosci Lett* 2019; 706: 105–109.
48. Zanette SA, Dussan-Sarria JA, Souza A, et al. Higher serum S100B and BDNF levels are correlated with a lower pressure-pain threshold in fibromyalgia. *Mol Pain* 2014; 10: 46.
49. Streitburger DP, Arelin K, Kratzsch J, et al. Validating serum S100B and neuron-specific enolase as biomarkers for the human brain – a combined serum, gene expression and MRI study. *PLoS ONE* 2012; 7(8): e43284.
50. Polyakova M, Sander C, Arelin K, et al. First evidence for glial pathology in late life minor depression: S100B is increased in males with minor depression. *Front Cell Neurosci* 2015; 9: 406.
51. Schreiber KL, Loggia ML, Kim J, et al. Painful aftersensations in fibromyalgia are linked to catastrophizing and differences in brain response in the medial temporal lobe. *J Pain* 2017; 18(7): 855–867.

52. de Heer EW, Vriezekolk JE and van der Feltz-Cornelis CM. Poor illness perceptions are a risk factor for depressive and anxious symptomatology in fibromyalgia syndrome: a longitudinal cohort study. *Front Psychiat* 2017; 8: 217.
53. Lawson K. Emerging pharmacological strategies for the treatment of fibromyalgia. *Emerging pharmacological strategies for the treatment of fibromyalgia. World J Pharmacol* 2017; 6: 1–10.
54. Edwards RR, Grace E, Peterson S, et al. Sleep continuity and architecture: associations with pain-inhibitory processes in patients with temporomandibular joint disorder. *Eur J Pain* 2009; 13(10): 1043–1047.
55. Lee YC, Lu B, Edwards RR, et al. The role of sleep problems in central pain processing in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2013; 65(1): 59–68.
56. Keskindag B and Karaaziz M. The association between pain and sleep in fibromyalgia. *Saudi Med J* 2017; 38: 465–475.
57. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 2002; 66: 355–474.
58. Isaac SO and Berridge CW. Wake-promoting actions of dopamine D1 and D2 receptor stimulation. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 307(1): 386–394.
59. Lu J, Zhou TC and Saper CB. Identification of wakeactive dopaminergic neurons in the ventral periaqueductal gray matter. *J Neurosci* 2006; 26(1): 193–202.
60. Suzuki R, Rygh LJ and Dickenson AH. Bad news from the brain: descending 5-HT pathways that control spinal pain processing. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25(12): 613–617.
61. Willer JC, Bouhassira D and Le Bars D. Bases neurophysiologiques du phénomène de contre-irritation: les contrôles inhibiteurs diffus induits par stimulations nociceptives. *Neurophysiol Clin Neurophysiol* 1999; 29: 379–400.
62. Sastre JP, Buda C, Kitahama K, et al. Importance of the ventrolateral region of the periaqueductal gray and adjacent tegmentum in the control of paradoxical sleep as studied by muscimol microinjections in the cat. *Neuroscience* 1996; 74(2): 415–426.
63. Jensen KB, Kosek E, Petzke F, et al. Evidence of dysfunctional pain inhibition in Fibromyalgia reflected in rACC during provoked pain. *Pain* 2009; 144(1–2): 95–100.
64. Sprenger C, Bingel U and Buchel C. Treating pain with pain: supraspinal mechanisms of endogenous analgesia elicited by heterotopic noxious conditioning stimulation. *Pain* 2011; 152(2): 428–439.

ARTIGO 2 – SUBMETIDO

Resting-state functional connectivity as a marker of the dysfunction of the descending pain modulatory system in fibromyalgia. The Korean Journal of Pain.

Primary somatosensory cortex and periaqueductal gray functional connectivity as a marker of the dysfunction of the descending pain modulatory system in fibromyalgia

ABSTRACT

Background: Resting-state functional connectivity (rs-FC) may aid in understanding the link between pain-modulating brain regions and the descending pain modulatory system (DPMS) in fibromyalgia (FM). So, we investigated rs-FC patterns between pain processing brain networks and periaqueductal gray matter (PAG). Additionally, if the rs-FC between the primary somatosensory cortex (S1) and PAG is related to the clinical symptoms, based on who responders and non-responders to the conditioned pain modulation test (CPM-test).

Methods: Cross-sectional study, 33 women with FM. rs-FC was assessed by functional magnetic resonance imaging. Change in the numerical pain scale during the CPM-test assessed the DPMS function. Subjects classified either as non-responders (DPMS dysfunction) (n=13) or responders (n=20) to CPM-test. Group analysis using a generalized linear model (GLM) and a ROC analysis were performed to check the accuracy of the rs-FC to differentiate each group.

Results: Non-responders showed a decreased rs-FC between the S1 and the PAG (S1-PAG) [$\chi^2 = 10.41$, DF = 1 $p < 0.001$]. The S1-PAG rs-FC in the left-brain hemisphere was positively correlated with a central sensitization symptom and negatively correlated with sleep quality and pain scores. A ROC analysis showed that S1-PAG rs-FC offers sensitivity and specificity of 85% or higher [AUC 0.78, confidence interval (CI) 95%, 0.63-0.94] to discriminate who does/does not respond to the CPM-test.

Conclusions: These results support using the resting-state FC patterns in the left S1-PAG as a marker for predicting CPM-task response, which may aid in the treatment individualization in FM patients.

Keywords: Fibromyalgia; Magnetic Resonance Imaging, Functional; Neural Interconnection; Chronic pain; Psychophysics; Pain Perception; Somatosensory Cortex; Functional Neuroimaging.

INTRODUCTION

Fibromyalgia (FM) is a chronic pain condition that comprises a widespread pain index and emotional distress, fatigue, sleep disorders, depression, catastrophizing thinking, and cognitive compromise. Although its pathophysiology remains unclear, several studies found altered activations of several brain regions, such as thalamic nuclei, somatosensory cortices, anterior cingulate, insular, and prefrontal cortices (1–3). A review of structural and functional rearrangements in chronic pain indicates more active neural networks in pain, including the thalamus, anterior cingulate cortex (ACC), primary and secondary somatosensory cortices (S1 and S2, respectively), and insular cortex (4).

Data of functional magnetic resonance imaging (fMRI) suggest that the ventrolateral-periaqueductal gray matter (PAG) has indirect connections with both central lateral and medial pain pathways and with the ACC and upper pons/medulla (5). The PAG relates to somatosensory and affective-attentional pain components (2,6), with downward projections to spinal dorsal horn neurons to modulate pain transmission information (7). These pathways constitute the descending pain modulatory system (DPMS), whose dysfunction is frequent in chronic pain syndromes (8).

The conditioned pain modulation test (CPM-test) assesses the function of the DPMS based on the phenomenon of "pain suppresses pain"(9). The CPM-test activates a cortical spinal-bulb-spinal loop responsible for diffuse noxious inhibitory control (DNIC). The stimulation parameters, test sites, and study population influence the reliability of the CPM-test and conditioning stimuli (10). A meta-analysis found fifty percent of intersession reliability intraclass correlation coefficient (ICC) rated as good (ICC 0.60 to 0.75) or excellent (ICC > 0.75) (10). The CPM-test permits the evaluation of the function in the DPMS. Its dysfunction in FM has been correlated with serum biomarkers of neuroplasticity, such as the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and S100-B protein (11). Furthermore, the dysfunction of DPMS is related to hyperinhibition at the cortical level (12) and increased scores in the Central Sensitization Inventory (13).

The resting-state functional magnetic resonance imaging (rs-fMRI) permits the evaluation of the resting-state functional connectivity (rs-FC) between different brain regions. This approach is practical when investigating the existence of a specific brain's functional signature and coherence patterns associated with specific patient groups across chronic pain(14). Regions with synchronous activity tend to correlate when blood oxygen level-dependent (BOLD) activity is measured. However, studies have found no information on the intrinsic functional connectivity (IFC) of pain processing areas with the severity of dysfunction of DPMS.

FM is a disease that courses with central sensitization syndrome (CSS), likely related to a deteriorated function of the neural networks involved in pain processing. However, a gap in the literature persists regarding understanding the connection between pain processing brain networks and the main structure involved in the propagation and modulation of the pain of DPMS. Thus, we aimed to answer the following questions: *(i)* to examine if there are differences in rs-FC patterns between the pain processing brain networks in patients who do/do not respond to the CPM-test. *(ii)* to evaluate if these differences in activation patterns are related to the clinical symptoms, based on who responds or does not respond to the conditioned pain modulation test (CPM-test). We hypothesized that the connection between the networks involved in the pain neuromatrix and in the DPMS might be a suitable marker for discriminating patients with more clinical symptoms.

Study design and eligibility

The Institutional Review Board (IRB, CAAE 2018-0353) at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) approved the protocol of this cross-sectional study, which was conducted according to Helsinki's declaration. Participants provided verbal and written informed consent before participating and did not receive payment in exchange for their participation. Recruitment was undertaken from January 2018 to December 2019.

Recruitment, inclusion, and exclusion criteria

We included 33 adult females, right-handed, aged 30 to 65, who could read and write. Patients from the Pain Outpatient Clinic of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) were invited to the study. Other participants became aware of the study through local newspaper

publicity. All included subjects met the diagnostic criteria of FM by the standard assessment protocol criteria for the diagnosis of FM (according to the American College of Rheumatology - 2016), applied by senior physicians with more than fifteen years of experience in chronic pain care. In addition, they should present daily disability for the routine activities due to FM during the three months preceding the enrollment and report a score of at least 60 mm on the Numerical Pain Scale (NPS, 0-10).

Furthermore, we used the following exclusion criteria: a positive history of rheumatoid arthritis, lupus, any other autoimmune disease, neurologic or oncological disease, any uncompensated clinical disease (i.e., ischemic heart disease, chronic kidney disease, and hepatic disease), history of neurosurgery, current pregnancy, and illicit drug use during the last six months. We also excluded all subjects that presented any of the following contraindications to undergoing fMRI scanning: metallic brain implant, aneurysm clip, cardiac pacemaker, cochlear prosthesis, ear implants, metallic fragments, or prosthesis, claustrophobia. All enrolled subjects participated in a complete study assessment and were included in all analyses.

Sample size justification

We define the sample size, expecting results that could reveal if the relationship between fs-FC and severity of dysfunction in the DPMS would be a reliable measure to infer the severity of clinical symptoms. So, we defined the sample size expecting a large effect size (f^2) of 0.35 for multiple regression analysis, allowing for five predictors. The sample size of 31 patients was estimated for error types I and II, with values of 0.05 and 0.20, respectively (Post-hoc Statistical Power Calculator for Hierarchical Multiple Regression: <http://www.danielsoper.com/statcalc3/calc.aspx>(15)). To account for unexpected factors that could decrease study power, such as increased variability or missing data, we increased the sample by 10%, and the required sample size was 33 patients.

Instruments and Assessments

All psychological tests used in this study have been validated for the Brazilian population. We used the following instruments to assess psychological symptoms and sleep quality: the Beck Depression Inventory-II(16), the Brazilian Pain Catastrophizing Scale(17),

and the Brazilian Portuguese version of the Profile of Chronic Pain: Screen (B-PCP:S)(13). In addition, the State-Trait Anxiety Inventory (STAI)(18).

Outcomes’ assessment

The dependent variables were the rs-FC in the S1 and the PAG. The main interest factor was the score on NPS (0–10 during the CPM classified as non-responders and responders to the CPM-test. Independent variables: age, education, pain catastrophizing, disability due to pain, symptoms, sleep quality, pain scores, anxiety, number of psychiatric diagnoses, analgesic use, and heat pain threshold, among others. The timeline of assessments is shown in Figure 1.

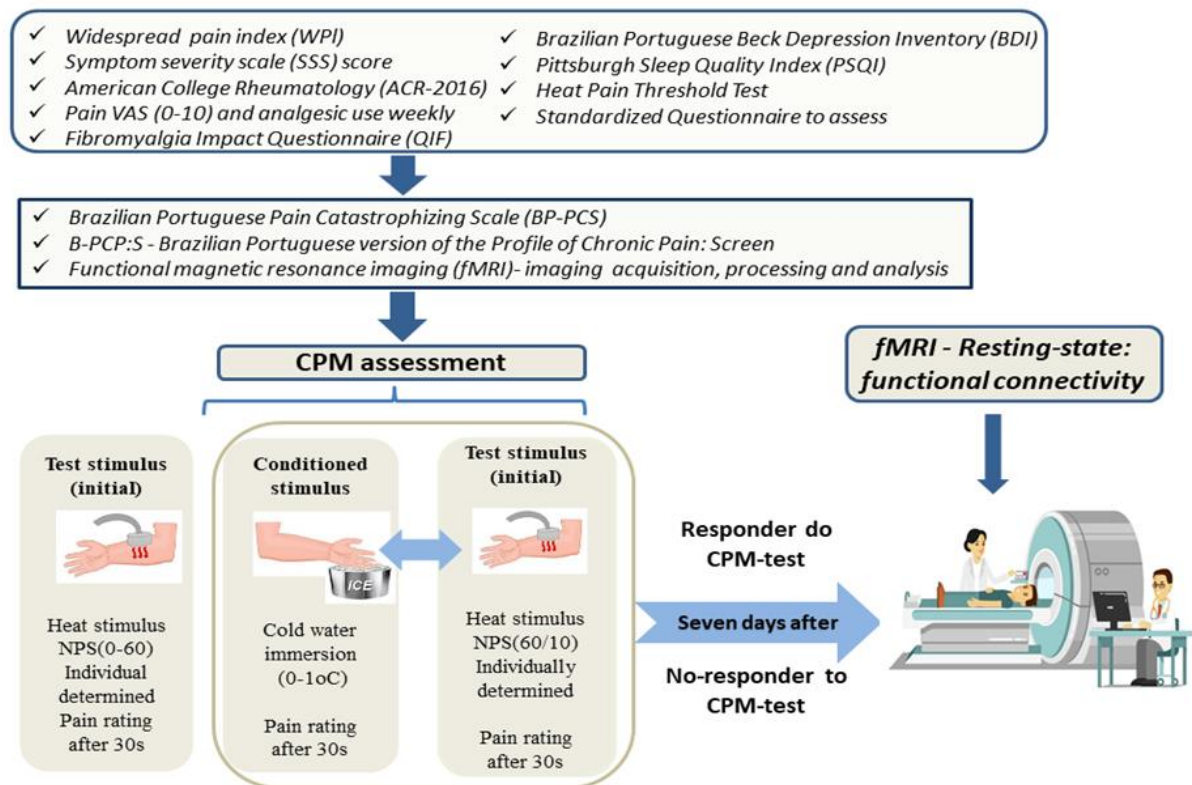


Fig 1. Timeline assessments.

Functional magnetic resonance imaging (fMRI)- imaging acquisition, processing, and analysis

Imaging acquisition

Structural and functional images were acquired with a 3T Philips Ingenia scanner, using a 15-channel head coil. The rs-fMRI was a single-shot T2*-weighted fast-field echo, echo-planar imaging sequence (TR = 2000 ms, TE = 30 ms, Matrix = 80 x 80, FOV = 240 mm, flip angle = 90, 3x3x3.5 mm voxel size, 36 slices in ascending order with 0.35 mm gap) with 300 volumes, totaling 10 minutes. Anatomical references were acquired using a T1-weighted gradient-echo sequence (TR/TE = 8.5 /3.9 s, Matrix/FOV = 240/240 mm, flip angle = 8°, 0.94 mm isotropic voxel size, 200 sagittal slices).

All rs-fMRI processing was done using CONN18 (www.nitrc.org/projects/conn)(19), which is a toolbox that uses SPM12 (www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm) commands over MATLAB (MathWorks, Natick, MA, USA) (20,21). The pipeline starts with preprocessing steps (segmenting anatomical volumes in gray matter, white matter, and cerebrospinal fluid, realigning and unwarping, normalizing, and smoothing the functional volumes). CONN's default denoising pipeline combines two general steps: linear regression of potential confounding effects in the BOLD signal and temporal band-pass filtering. We extracted the BOLD signal from each region of interest (ROIs) based on the Harvard-Oxford Atlas predefined within CONN standard settings. Other ROIs were added based on the relevant areas related to the pain connectivity literature (described in more detail below). Factors identified as potential confounding effects to the estimated BOLD signal are estimated and removed separately for each voxel and each subject and functional run/session, using Ordinary Least Squares (OLS) regression to project each BOLD signal time-series to the subspace orthogonal to all potential confounding effects. The temporal preprocessing started to run a regression out of the BOLD signal to control motion artifacts and residual physiological noise, followed by controlling the confounding variables (first-level covariates, the BOLD signal from white matter, CSF, realignment parameters, scrubbing, and the CompCor approach (22)). Twelve potential noise components are defined from the estimated subject-motion parameters to minimize motion-related BOLD variability, three translation, and three rotation parameters plus their associated first-order derivatives. A variable number of noise components (one for each identified outlier scan during the outlier identification preprocessing step) were used as potential confounding effects to remove any influence of these outlier scans on the BOLD signal. Temporal frequencies below 0.008 Hz or above 0.09 Hz are removed from the BOLD signal to focus on slow-frequency fluctuations while minimizing the influence of physiological, head motion, and other noise sources (19).

Then, the BOLD signal from each individual was filtered (0.008 - 0.09 Hz). Filtering is implemented using a discrete cosine transform windowing operation to minimize border effects and is performed after regression to avoid any frequency mismatch in the nuisance regression procedure. Thirdly, each rs-FC correlation measure was calculated from all ROIs concerning each other in an FC matrix. Finally, after extracting the average time course from each ROI, connectivity was estimated from Fischer Z scores.

Head Motion Effects

We applied ART (Artifact detection/identification toolbox) within the CONN(19,22) environment to control for possible spurious correlations brought by head movement artifacts. We chose the conservative threshold within CONN that sets the subject-motion threshold at 0.5 mm.

Resting-state functional connectivity analysis

Spherical ROIs with MNI coordinates were chosen as predefined ROIs based on the Harvard-Oxford Atlas using the CONN-fMRI Functional connectivity toolbox. The used radius was 6 for the PAG and 10 mm for the remaining areas. ROIs were acquired from prior studies as seeds. Together, they were used to create rs-FC maps of specific networks related to chronic pain and FM for each subject, with rs-FC being measured using the following source seeds (see Supplementary Table 1 for coordinates): PAG(6), left (L) and right (R) primary and secondary somatosensory cortex (L_S1, R_S1, L_S2, R_S2)(23), left and right primary motor cortex, (L_M1, R_M1)(24), left and right dorsolateral and ventromedial prefrontal cortexes (L_DLPFC, R_DLPFC, L_MPFC, R_MPFC)(25)(26), left and right anterior e posterior insular cortexes (L_aIC, L_pIC, R_aIC, R_pIC), left and right ACC (L_ACC, R_ACC)(23) left and right ventrolateral and mediodorsal thalamus (L_VLTh, R_VLTh, L_MDTh, R_MDTh)(27,28), left and right hippocampus (L_Hippo, R_Hippo)(29), amygdalae (L_Amyg, R_Amyg)(30), nucleus accumbens (L_NA, R_NA)(31). After calculating the subjects' FC map, the second-level comparison was performed through an ROI-to-ROI analysis. The threshold for bidirectional explorations of FC was $p \leq 0.001$ (i.e., positive, and negative associations). The exploratory analysis results were considered significant if they remained after correction for multiple comparisons (False Discovery Rate - FDR ≤ 0.05).

Assessment of widespread pain index, pain catastrophizing, disability due to pain, and Widespread Pain Index

For the FM diagnosis, the *American College of Rheumatology* (ACR) criteria were applied by a physician. The scale of FM symptoms ranges from 0 to 3 and is composed of the widespread pain index (WPI) and the modified severity scale (SS scale).

The Brazilian Portuguese Pain Catastrophizing Scale (BP-PCS) is a self-administered questionnaire comprising thirteen items to evaluate the presence of pain catastrophizing thoughts. It is composed of a 0-4 score (zero being "not at all" and four being "all the time"). Furthermore, it has subscales divided into the following dominions: magnification, rumination, and helplessness. The summation of all items computes its total score, ranging from 0 to 52 points(13,32).

The Central Sensitization Inventory for the Brazilian Population (CSI-BP) assesses central sensitization symptoms (CS). Higher scores are indicative of severe symptoms. It has 25 items and a total score that ranges from 0 to 100, evaluating the presence of physical signs, emotional distress, headache, and urological symptoms. Part B of the test assesses psychiatric and neurological disorders related to CS (13).

Psychophysical measures

The *heat pain threshold test* (HPT) was evaluated based on the method of limits with a computer Peltier-based contact thermode ($30 \times 30 \text{ mm}^2$) attached to the skin on the ventral aspect of the subject's non-dominant forearm. A computerized version of the thermode determines the HPT on the volar side of the non-dominant forearm. The heat is set at 32°C . The thermostat heats up at a rate of $1.0^\circ\text{C}/\text{second}$ to 52°C . The HPT is the minimum heat stimulus to induce pain, and it was obtained by the average of three assessments performed with an inter-stimulus interval of 40 seconds (33). The thermode (Heat Pain Stimulator – 1.1.10) was manufactured by the Biomedical Engineering Department at our institution and validated in a previous study (34).

CPM-test:

The CPM-test evaluates patients' endogenous DPMS by the psychophysical paradigm of conditioned pain modulation. It was assessed by the same computerized version of the thermode described to determine the HPT. On the non-dominant forearm, we conducted three Quantitative Sensory Testing (QST) assessments with a 40-second interstimulus gap. Firstly, we recorded the thermode place temperature for patients' reported scores of 6/10 (NPS, 0-10) by the Quantitative Sensory Testing (QST). Thus, the temperature used in the test stimulus was calculated as the temperature average (T₀). Secondly, a cold pressor test (CPT) was performed, in which subjects immersed their dominant hand (right hand) into the water at a temperature of around 1°C. The QST was introduced 30 seconds after their hands were in the cold water, and we evaluated the pain score on NPS (0-10) in the thermode (T₁) area. Thirdly, the CPM-test index was calculated, consisting of the difference between the pain score on NPS (0-10) during the CPT (QST+CPM) (T₁) at the temperature subjects reported a 6/10 pain on NPS (T₀). Non-responders would have a difference in the count on NPS (T₁ minus T₀) equal to zero or higher, whereas responders would have it below zero(35). The magnitude of the CPM effect depends on the sensory modality used to deliver the conditioning, test stimuli, and the body area tested(10). According to a meta-analysis, the CPM-test with a thermal test stimulus showed reliability for repeatability by an intraclass correlation coefficient ranging from fair to excellent (ICC 5 0.53; ICC 5 0.64; and ICC 5 0.83)(10). The CPM-test has been proposed as a reliable prognostic factor in experimental and clinical pain studies(10).

Sociodemographic characteristics, health status, medicine use, psychiatric diagnosis, and pain score

Demographic data and medical comorbidities were evaluated using a standardized questionnaire. Psychiatric diagnoses were assessed by the Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI)(36). Weekly analgesic intake in the last three months was recorded. They were dichotomized as <4 times per week or > 4 times per week.

The visual analog scale (VAS) is a visual scale for pain score assessment based on millimeters, which ranges from "no pain" (zero) to "the worst possible pain" (100 mm). Patients had to score their worst pain during the last 24 hours.

Efforts to address potential sources of bias

Subject selection was based on pre-specified criteria assessed by two researchers with prior clinical expertise in chronic pain outpatient treatment. Two evaluators specifically trained for performing all assessments applied standardized protocols (e.g., the CPM test) and questionnaires.

Statistical Analysis

Categorical and continuous variables were summarized using conventional descriptive statistics. Continuous variables were compared with t-tests for independent samples, while chi-square or Fisher's exact tests were used for categorical variables. The Shapiro-Wilk test normality. The univariate analysis presented in Table 1 and the Spearman correlation analysis (Table 4) were used to identify potential confounding variables in the relationship between the S1-PAG rs-FC according to responders and non-responders to the CMP-test. The criterion for a variable to be included and retained in the Generalized Linear Model (GLM) was a p-value equal to or less than 0.05. The multivariate GLM included the following variables: psychiatric diagnosis, central nervous system medication (i.e., antidepressant and anticonvulsant), central sensitization, catastrophizing pain thinking, sleep quality, and the impact of FM symptoms on quality of life. We included one variable at a time in the model to select a minimum number of variables, considering that our sample size is small. However, the final GLM model comprises all variables retained in the final model. We used the following approaches to detect potential multicollinearity: (i) The magnitude of change in the standard errors with each additional factor included in the model. (ii) The changes in the regression coefficients when a factor was added or removed. (iii) We compared whether the beta changed the coefficients' signs when the relationship between the factor and the outcome was examined separately and in combination with other factors. The Cramer's V measured effect size for chi-square tests. We wanted to differentiate properties based on the CPM-test division between non-responders and responders. Thus, a nonparametric receiver operating characteristics (ROC) analysis was performed with exact binomial 95% confidence intervals (CI). Multiple comparisons were adjusted using the Bonferroni test, and two-tailed tests were used. We accepted a type I error of 5%. We used the software SPSS 22.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) for the statistical analysis.

RESULTS

Patient characteristics

We included 33 women with FM out of 50 screened candidates. The clinical and sociodemographic descriptions of the final sample are given in detail in Table 1. Six patients did not fulfill the diagnostic criteria for FM or presented pain levels on most days for the last three months. Five had another clinical diagnosis defined as exclusion criteria. In addition, six had contraindications for fMRI scanning. Compared to responder subjects, non-responders to the CPM-test test have a higher prevalence of psychiatric disorders according to a short-structured diagnostic psychiatric interview (MINI) and higher use of central nervous system medication. Besides, they showed higher levels of pain catastrophizing.

Table 1.

Demographic, clinical characteristics, psychological, and pain measures related to the pain of the study sample. Values are given as the mean (SD) or frequency (n=33).

	Non- responder (n= 13)	Respo- nder (n=20)	valu e
Age (years)	52.11 (6.67)	48.00 (7.98)	.19
Education (years)	11.44 (4.09)	12.55 (5.29)	.58
Time of diagnosis (ys.)	6.78 (0.44)	6.95 (0.22)	.17
Smoking Yes/No	2/11	7/13	.20

Clinical Comorbidity Yes/No	10			
	(76.90%)	/3	14	.49
	(29.10%)		(70%)/6 (30%)	
Hypertension (<i>Yes</i>)	9		4	
Cardiac ischemia (<i>Yes</i>)	2		0	
Diabetes (<i>Yes</i>)	0		2	
Hypothyroidism (<i>Yes</i>)	5		2	
Asthma (<i>Yes</i>)	0		1	
Other (<i>Yes</i>)	2		0	
Number of days analgesic used per week in the last three months (<4 times/ \geq 4 times) **	5		10(50	
	(38.46%)/8 (61.54%)	%)/10 (50%)		.51
Acetaminophen/Dipirone (<i>Yes</i>)	9		8	
Dorflex (<i>Yes</i>) orphenadrine citrate + dipyrone	7		6	
NSAID (<i>Yes</i>)	4		3	
Opioid (<i>Yes</i>)	4		3	
Psychiatric disorder according to MINI (Yes/No) *	11		10	
	(84.6%)/2 (15.4%)	(50%)/10		.04
		(50%)		
Anxiety	4		5	
Major depression	10		12	
Panic Syndrome	1		4	
Obsessive-compulsive disorder	0		1	

Use of central nervous system medication Yes/No**	11 (84.6%)/2 (15.4%)	10 (50%)/10 (50%)	.04
Tricyclic or dual inhibition of monoamine reuptake antidepressants	6	7	
Selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) antidepressant	5	4	
Anticonvulsant drugs	3	4	
Benzodiazepine	2	2	
Pain measures and severity of symptoms			
Visual Analogue Scale (0-10cm)	8.63 (0.97)	8.25 (1.25)	.43
Widespread pain index (WPI)	13.83 (1.99)	12.63 (1.92)	.65
Symptom severity scale (SSS) score	9.58 (1.83)	10.05 (1.62)	.79
American College Rheumatology (ACR-2016)	22.22 (3.86)	22.60 (2.42)	.17
Heat pain threshold – Celsius degree (C)	44.60 (3.33)	45.78 (3.25)	.38
Central sensitization symptoms, sleep quality, and psychological symptoms			
Central Sensitization Inventory	64.30 (14.39)	59.89 (15.43)	.46

Pittsburgh Sleep Quality Index	12.22	13.05	
	(3.884)	(3.69)	.23
Trait-Anxiety Inventory (reduced version)	33.00	27.15	
	(5.70)	(9.93)	.11
State-Anxiety Inventory (reduced version)	28.67	25.75	
	(5.93)	(6.43)	.26
Beck Depression Inventory	21.33	23.55	
	(9.53)	(12.04)	.63
Score on Pain Catastrophizing Scale (PCS)	38.61	30.45	
	(7.17)	(11.35)	.01

*Patients could have none or more than one psychiatric disorder.

**Some patients were using more than one type of drug.

MINI: mini-international Neuropsychiatric Interview.

For data analysis, analgesic use was included as a dichotomous variable (analgesics less than four days per week or more than four days per week). For patients with chronic pain, the rescue analgesic use changes each week depending on their pain level.

ROI-to-ROI Functional Connectivity Analysis

The results from functional connectivity analyses (Z score threshold > 3.96 and seed-level-corrected-FDR $P < 0.05$) and ROIs coordinates (x, y, and z) are shown in Table 2.

Table 2.

Results from functional connectivity analyses (Z score threshold > 3.96 and seed-level-corrected-FDR $P < 0.05$) and ROIs coordinates (x, y, and z).

<i>Regio</i>	<i>Z</i>	<i>p-</i>	<i>p-</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>	<i>Z</i>
<i>n</i>	<i>max</i>	<i>unc</i>	<i>FDR</i>			

	<i>PAG</i>		0.0	0.1	0	-	-
			049	417		32	10
	<i>L_SI</i>	-	0.0	0.0	-50	-	4
		4.46	001	401		28	4
	<i>R_SI</i>	0.	0.4	0.8	48	-	4
		94	968	475		28	6
	<i>L_S2</i>	1.	0.1	0.4	-64	-	1
		74	451	002		26	8
	<i>R_S2</i>	1.	0.1	0.4	50	-	1
		89	139	002		26	6
	<i>L_MI</i>	2.	0.0	0.4	-32	-	5
		00	948	002		16	8
	<i>R_MI</i>	1.	0.1	0.4	34	-	7
		71	518	002		12	4
	<i>L_DL</i>	2.	0.0	0.2	-39	2	2
<i>PFC</i>		83	256	471		9	6
	<i>R_DL</i>	0.	0.9	0.9	42	3	2
<i>PFC</i>		21	789	789		5	6
	<i>L_MP</i>	0.	0.7	0.9	-12	6	-
<i>FC</i>		61	406	338		0	8
	<i>R_MP</i>	0.	0.6	0.9	22	5	-
<i>FC</i>		71	603	244		8	10
	<i>L_aIC</i>	1.	0.1	0.4	-32	1	6
		62	75	23		6	
	<i>L_pIC</i>	1.	0.4	0.8	-39	-	1
		02	445	475		15	
	<i>R_aI</i>	3.	0.0	0.1	32	1	6
<i>C</i>		26	133	933		6	
	<i>R_pI</i>	0.	0.7	0.9	39	-	8
<i>C</i>		54	989	51		15	
	<i>L_aA</i>	1.	0.3	0.8	-2	1	3
<i>CC</i>		10	91	099		4	0
	<i>R_aA</i>	2.	0.0	0.4	2	1	3
<i>CC</i>		09	823	002		2	2
	<i>L_VL</i>	0.	0.4	0.8	-13	-	1
<i>Th</i>		98	701	475		17	
	<i>R_VL</i>	1.	0.1	0.4	14	-	1
<i>Th</i>		83	247	002		17	

<i>DTh</i>	<i>L_M</i>	0.	0.7	0.9	-11	-	3
		66	013	244		22	
<i>DTh</i>	<i>R_M</i>	0.	0.5	0.9	9	-	3
		83	726	225		19	
<i>po</i>	<i>L_Hip</i>	0.	0.6	0.9	-22	-	-
		74	427	244		16	20
<i>ppo</i>	<i>R_Hi</i>	1.	0.1	0.4	22	-	-
		96	02	002		20	16
<i>yg</i>	<i>L_Am</i>	0.	0.8	0.9	-32	2	-
		51	198	51			16
<i>yg</i>	<i>R_Am</i>	1.	0.2	0.5	32	2	1
		38	57	733			6
	<i>L_NA</i>	0.	0.6	0.9	-8	1	1
		68	858	244		2	
	<i>R_NA</i>	0.	0.9	0.9	11	1	1
		22	761	789		1	

The ROI-to-ROI rs-FC analyses comparing non-responders to responders are shown in Figure 2. Non-responders showed a decreased rs-FC between the left S1 and the PAG, as shown in the blue line, compared to the responders. This finding was significant using a threshold of $p \leq 0.001$ for bidirectional explorations of rs-FC and after correction for multiple comparisons (False Discovery Rate – $FDR \leq 0.05$), resulting in a minimum t-value of 4.46. The remaining previously described ROIs did not survive the FDR correction analysis for multiple comparisons. Therefore, we included only the left S1-PAG rs-FC in the subsequent analyses.

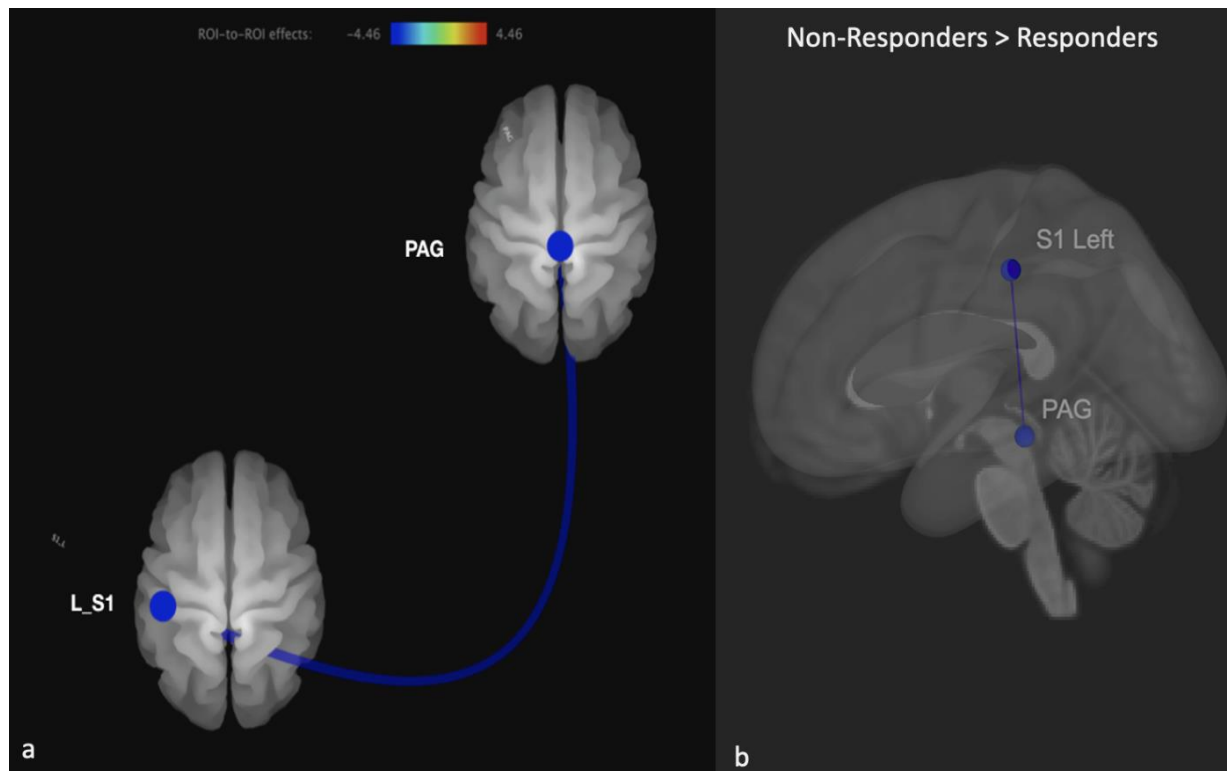


Fig 2.

Visual representation of resting-state fMRI ROI-to-ROI analysis according to connectome ring view (threshold ROI-to-ROI connections – p-FDR (analysis-level correction) and 3D map. The blue line color indicates lower FC between Left S1 and PAG in non-responders compared to responders. S1: primary somatosensory cortex. PAG: periaqueductal gray matter. Maps were made using the CONN-fMRI Functional Connectivity toolbox(51). $p \leq 0.001$, $FDR \leq 0.05$.

Univariate analysis of the relationships between outcomes and the spectrum of responders and non-responders to the CPM-test

The Spearman correlation analysis was used to explore the relationship among left S1-PAG rs-FC (outcome) according to the spectrum of responders and non-responders to the CPM-test and the following covariates: impact of FM symptoms on quality of life, pain catastrophizing, depressive symptoms, central sensitization score, and sleep quality. Non-responders to the CPM-test showed a moderate positive correlation of the left S1-PAG rs-FC with pain catastrophizing, central sensitization score, and quality of life scores. Data are presented in Table 3.

Table 3.

Correlation among pain catastrophizing, depressive symptoms, central sensitization score, sleep quality, and disability due to pain (n= 33).

Variables	Responders to CPM-test(n=20)					Non-responders to CPM-test (n=13)				
	1)	2)	3)	4)	5)	1)	2)	3)	4)	5)
Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ) (1)										
Pain catastrophizing scale (2)	.23					.27				
Beck Depression Inventory (3)	.33	.64**				.25	.49			
Pittsburgh Sleep Quality Index (4)	.44	.62**	.62**			.09	0.13	.27		
Central Sensitization Inventory (5)	.59**	.24	.44*	.40		.74**	.46	.49	.20	
Left S1-PAG rs-FC (6)	0.20	0.25	0.18	0.36	0.09	.58**	.67*	.15	0.17	.60*

* $p < 0.05$

** $p \leq 0.001$

Multivariate analysis of pain and FM clinical scores with S1-PAG rs-FC between groups of responders and non-responders to the CPM-test

The S1-PAG rs-FC marginal means adjusted by GLM and standard error in responders vs. non-responders to the CPM-test was 0.051 (0.026) vs. -0.095 (0.033), [$\chi^2 = 10.41$, $DF = 1$ $p < 0.001$], respectively. GLM (s) revealed a main effect on the S1-PAG rs-FC according to responders and non-responders to the CPM-test after adjusting for opioid analgesic use and the severity of clinical symptoms. The variable pain catastrophizing thinking did not relate statistically with the S1-PAG rs-FC and was excluded from the final model.

The S1-PAG rs-FC connectivity was positively correlated with a central sensitization symptom. In contrast, it was negatively associated with sleep quality, the impact of symptoms on quality of life, and the severity of pain. The effect size (ES) according to the CMP-test group

on the S1-PAG rs-FC was large (ES=0.58), and the ES of clinical symptoms on the S1-PAG rs-FC was moderate (Table 4).

Table 4.

GLM to assess the relationship of DPMS function according to responders and non-responders to CPM-test on the severity of clinical symptoms on the Central Sensitization Inventory, pain catastrophizing, disability due to pain, and left S1-PAG FC (n=33).

		S	CI	ald χ^2	f	ffect size
		td. Error	95%			
Outcome: Left S1-PAG FC						
(Intercept)		(0.	(-		
	.335	1816	0.021 to 0.69)	.394		.065
Responders to CPM-test		(0.	(0.0		
	.145	0457	56 to 0.24)	0.109		.58
Non-responders to CPM-test		1				
		ference				
		e				
Pittsburgh Sleep Quality Index		.	0.	(-		
	0.014	0058	0.026 to	.162		.45
			.003)			
Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ)		.	0.	(-		
	0.002	0010	0.004 to	.417		.38
			0.001)			
Pain severity on Numerical Pain Scale (0-10)		.	0.	(-		
	0.011	0052	0.021 to	.395		.38
			0.001)			
Central Sensitization Inventory		(0.	(0.0		
	.003	0012	01 to 0.005)	.737		.44

*Primary outcome – generalized linear model analyses to compare responders and non-responders. Df = degrees of freedom; *P < 0.05 indicates significant differences between*

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

The S1-PAG rs-FC distinguishes patients with dysfunction of DPMS

Receiver operator characteristics analysis (ROC) showed non-responders could be discriminated from responders using the cutoff point on S1-PAG rs-FC set to -0.24, offering a sensitivity of 95% and a specificity of 85% or higher [AUC 0.78, confidence interval (CI) 95%, 0.63 to 0.94]. The ROC curves are displayed in Figure 3.

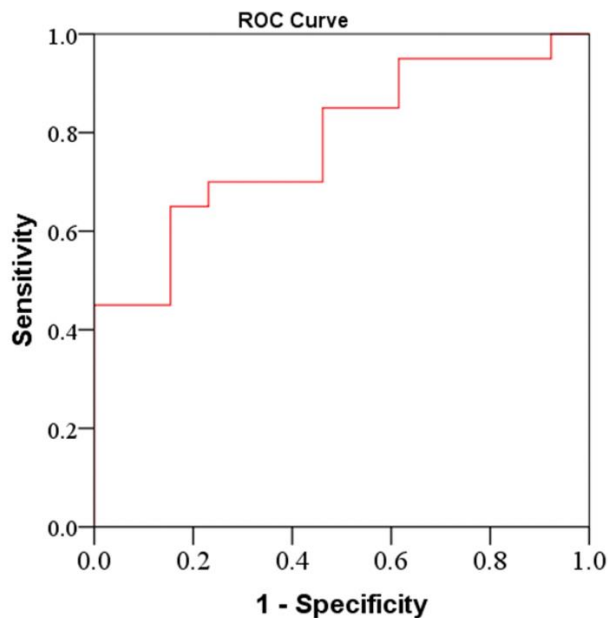


Fig 3.

Nonparametric receiver operating characteristics (ROC) analyses. The area under the curve (AUCs) with exact binomial 95% confidence intervals (CI) of rs-S1-PAG FC.

DISCUSSION

Our study revealed that rs-FC between left S1 and the PAG is significantly related to the dysfunction of the DPMS. These findings indicate that the rs-FC left S1-PAG was negatively correlated with quality of life in FM, sleep quality, and severity of pain. Conversely, it was positively associated with central sensitization. Furthermore, they revealed that rs-FC left S1-PAG shows satisfactory discriminatory properties in screening patients with a failure of the DPMS according to the spectrum of responders and non-responders to the CPM test. To the best of our knowledge, this is the first study that suggests a dysfunction in the cortical area involved in the sensorial-discriminative component of pain (i.e., S1) with the PAG in FM. The relevance of this result is that the rs-FC on the left S1-PAG might be a marker to discriminate FM subjects with higher dysfunction of the DPMS, bringing a perspective of accelerating the translation of surrogate measures to apply them at the bedside.

Although the study design hinders us from causally explaining these associations, it is plausible that they could be a compensatory response to persistent hyperexcitability related to chronic pain adaptation. Hence, this could result in the dysregulation of cortical function and its connection with PAG. This hypothesis supports the PAG neurons' physiological processes, which play a critical role in autonomic, motivated behavior, cortical motor, and perception networks. Besides, it is the primary control center for descending pain modulation(37). Therefore, the increase in connectivity might indicate "pain sensitization" rather than "pain intensity". Given the earlier studies' results, it is plausible that the increased rs-FC between the left S1 and the PAG is related to CSS(11).

The current study found a higher rs-FC between the left S1 and the PAG. This finding is aligned with previous studies in FM that found higher rs-FC between the insula and interconnected networks of the brain's default mode network (DMN), including the medial prefrontal cortex (MPFC), posterior cingulate cortex, precuneus, inferior parietal lobule, hippocampal formation, and lateral temporal cortex(14,38,39). Likewise, an increase in connectivity between the insula and the DMN has been documented in several pain conditions, including chronic low back pain, osteoarthritis, and complex regional pain syndrome(14). In contrast, a previous study found a decreased rs-FC of the PAG with areas associated with motor/executive, DMN, and premotor cortex in FM patients compared to healthy controls(6).

Our results, therefore, add to the evidence about increasing rs-FC between brain areas involving pain processing(40,41). Its significance highlights that the left S1-PAG rs-FC is positively correlated with the symptoms of central sensitization. This implies that increased connectivity between these brain regions may point to decreased function in these neural networks. So, based on the weakening of cortical inhibition, we think the shift in the left S1-PAG may signify up-regulation phenomena of the intracortical inhibitory networks. Neurophysiological results support this idea, as shown by an increase in short intracortical inhibition (SICI)(12). Though the precise mechanism of central sensitization is not fully understood, transmission changes and dysfunctional synaptic strength have been proposed as potential causes of the CSS symptoms. So, the rs-FC might help to comprehend how unfavorable interactions in areas' activity cortical responsible for sensory discrimination, motivation, emotion, motor, attention, arousal, and response selection might arise with symptoms of CSS(42). A critical point to consider in this approach is the limitation of the correlation analysis used to assess the co-activation of different brain areas since it cannot establish a relationship type, cause-effect, or the direction of impact. According to earlier studies, the dynamic processes of rs-FC can change in rest, compared to stimulus, in the way FM displays a substantial imbalance in the connectivity within the pain network during rest(38), as well as the descending pain inhibition might have a ceiling effect that lessens thalamic activity(43). Considering this, it is possible that the left S1-PAG results from increased persistent excitatory input of pain signals between important antinociceptive locations, such as the brainstem, where descending analgesic pathways originate. While several cortical regions have been proposed as possible sources of faulty pain inhibition in FM, the CSS scores reveal abnormal processes in the PFC and motor cortex(44).

Furthermore, we recognize that the connectivity measurements of forebrain regions may only be indirectly related to such brain areas, even though the relationship between rs-FC among target areas involved in pain processing and the severity of clinical symptoms is still up for debate, and further longitudinal studies are required to understand these complex relationships fully. In this situation, connection measures must be seen as proxies; yet this does not limit the use of connection metrics to identify FM patients with more severe clinical symptoms. Overall, these results show that the efficiency of DPMS and cortical dysfunction are related, and they also show the importance of looking into the rs-FC as a possible indicator of

disease severity and its relationship with clinical symptoms (such as pain catastrophizing, central sensitization, sleep quality, pain scores, and quality of life impact).

The increase in the rs-FC between the left S1-PAG might indicate an exhaustion of the endogenous pain modulatory system since both areas are involved in pain modulation. This hypothesis supports our findings in the discriminative analysis by ROC analysis to screen non-responders to the CPM test. The cutoff value of 0.24 provided a good profile in terms of sensitivity, specificity, and an AUC of 0.78 to identify subjects with greater DPMS dysfunction. Thus, these findings suggest that the abnormal rs-FC within these neural networks may be a marker of the dysfunction of the neurobiological systems underpinning FM symptoms. More precisely, from a conceptual perspective, they suggest a deteriorated function of these areas is part of the cascade of events connected to the inefficiency of the descending endogenous pain-modulation system. At the same time, the leftward asymmetry in functional connectivity with the S1 with the PAG neurons could reflect differences in integration and specialization in pain processing or be a severity marker of dysfunction in cortical processing of pain. According to a previous study, the left amygdala lateralization in pain processing is responsible for the main component of the affective-emotional pain pathway related to the DPMS(45). Thus, the asymmetry in the rs-FC left S1-PAG found in the current study may explain this result. We are conscious that more results are needed to allow some conclusion; this result opens a new avenue to investigate if the pain is processing a lateralized in some brain areas. Although many networks are strongly lateralized, such as language and visuals in the left and right hemispheres, the sensorimotor networks' laterality is not yet well established(46).

We found a moderate correlation between pain catastrophizing and rs-S1-PAG rs-FC in univariate analysis. However, this correlation lost statistical significance in the multivariate analysis (Table 3). According to the literature, diverse cortical areas involve the FC and catastrophizing pain thinking, such as S1, S2, DLPFC, mPFC, and ACC. Also, the anterior insula, thalamus, and DMN (mPFC-posterior cingulate cortex (PCC)/precuneus)(47). In light of these mixed results, further studies using a similar paradigm with a large sample size are needed to clarify these differences. Data indicates that pain catastrophizing may contribute to individual differences and susceptibility to subsequent chronic pain disorders. According to an earlier study, cognitive-behavioral therapy to reduce pain catastrophizing reduced FC between S1 and anterior/ medial insular cortex(48).

The negative correlation of quality-of-life scores, sleep quality, and severity of pain with the left rs-S1-PAG gives us support to comprehend the relationship between the dysfunction of cortical processing in target areas involved in pain processing and its connection with a site with a significant role in the DPMS. It is conceivable that the increase of rs-S1-PAG reflects an adaptation to counter-regulate the cortical hyperactivated consequent to the inefficiency of DPMS. This idea finds some ground in a previous study with FM from fMRI that found more significant activity than controls in response to painful stimuli in prefrontal, supplemental motor, insular, and anterior cingulate cortices(49). Also, they agree with previous studies that the severity of clinical symptoms, including pain, is linked to the dysfunction of DPMS(11). So, they align with emerging evidence, suggesting that FM pain is mediated by central nervous system hyperexcitability rather than only peripheral pathology.

We addressed some points concerning study design that should be considered. Firstly, although the literature supports selecting ROIs to study FC, they might not correspond precisely to the broad anatomical spectrum of pain-related areas. Hence, this limitation should be considered in interpreting current findings, especially regarding PAG, due to its small representation area. In addition, to improve the precision of the measure, we performed a ten-minute-long resting-state scan to overcome technical issues related to data acquisition. In contrast, most previous studies use a five or 7-min scan. Secondly, we do not have a control group because our main interest was comparing FM groups according to the DPMS dysfunction. Thirdly, psychiatric disorders are potentially confounding in cortical processing and cannot be adequately controlled, including medication antidepressants, analgesics, mood stabilizers, and antipsychotics. Fourth, we included only females since existing sex differences in pain processing involve physiological and psychological variables, including mechanisms of the DPMS, the capability to endure pain, and pain expectation(50). Finally, FM exhibits substantial variability in somatic and cognitive symptoms. Thus, this heterogeneity translates into fMRI brain phenomenology, limiting the precision and specificity of generalizations' interpretations for other pain conditions.

The rs-FC patterns of the left S1-PAG may help to identify those patients with more severe inhibitory dysfunction of the DPMS. In addition, they support the hypothesis that the DPMS and the somatosensory cortex are involved in maladaptive neuroplasticity processes. Overall, they shed light on how cortical structure and function relate to the pathophysiology of

primary chronic pain. Therefore, they open new avenues to personalizing top-down therapy approaches to improve DPMS effectiveness and cortical areas with a central role in pain processing.

DATA AVAILABILITY

We, the authors, agree with the data availability conditions.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that the research was conducted without any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

FUNDING

The following Brazilian funding agencies supported the present research:

1. Committee for the Development of Higher Education Personnel—CAPES (PROEX). To Wolnei Caumo.
2. National Council for Scientific and Technological Development - CNPq (grant to WC number: 420826/2018-1; 302688/2017-0).
3. Postgraduate Research Group at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, to Wolnei Caumo (FIPE, project number 2018-0353).
4. Foundation for the Support of Research at the Rio Grande do Sul (FAPERGS) Ministry of Science and Technology. National Council for Scientific and Technological Development - (CNPq)/ Health Secretary of state of Rio Grande do Sul, Brazil (SEARS) n. 03/2017 (PPSUS), to Wolnei Caumo. number: 17/2551-0001.
5. Brazilian Innovation Agency (FINEP [Financiadora de Estudos e Projetos]); process number 1245/13 to Iraci LS Torres and Wolnei Caumo).

Wolnei Caumo agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

REFERENCES

1. Sawaddiruk P, Paiboonworachat S, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. Alterations of brain activity in fibromyalgia patients. *J Clin Neurosci*. 2017;38:13–22.
2. Cagnie B, Coppeters I, Denecker S, Six J, Danneels L, Meeus M. Central sensitization in fibromyalgia? A systematic review on structural and functional brain MRI. *Semin Arthritis Rheum*. 2014;44(1):68–75.
3. Bidari A, Parsa BG, Ghalehbaghi B. Challenges in fibromyalgia diagnosis: from meaning of symptoms to fibromyalgia labeling. *Korean J Pain* [Internet]. 2018 Jul 31 [cited 2022 Aug 24];31(3):147–54. Available from: <https://www.epain.org/journal/view.html?doi=10.3344/kjp.2018.31.3.147>
4. Apkarian AV, Bushnell MC, Treede R, Zubieta J. Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *Eur J Pain*. 2005;9(4):463.
5. Coulombe M-A, Erpelding N, Kucyi A, Davis KD. Intrinsic functional connectivity of periaqueductal gray subregions in humans. *Hum Brain Mapp*. 2016;37(4):1514–30.
6. Coulombe MA, Lawrence KS, Moulin DE, Morley-Forster P, Shokouhi M, Nielson WR, et al. Lower functional connectivity of the periaqueductal gray is related to negative affect and clinical manifestations of fibromyalgia. *Front Neuroanat*. 2017 Jun 8;11:47.
7. Ossipov MH, Dussor GO, Porreca F. Central modulation of pain. *J Clin Invest* [Internet]. 2010 Nov 1 [cited 2018 Apr 14];120(11):3779–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21041960>
8. Staud R. Abnormal Pain Modulation in Patients with Spatially Distributed Chronic Pain: Fibromyalgia. Vol. 35, *Rheumatic Disease Clinics of North America*. 2009. p. 263–74.
9. Yarnitsky D, Bouhassira D, Drewes AM, Fillingim RB, Granot M, Hansson P, et al. Recommendations on practice of conditioned pain modulation (CPM) testing. *Eur J Pain (United Kingdom)*. 2015;19(6):805–6.
10. Kennedy DL, Kemp HI, Ridout D, Yarnitsky D, Rice ASC. Reliability of conditioned pain modulation: a systematic review. *Pain* [Internet]. 2016 Aug 19 [cited 2022 Aug 23];157(11):2410. Available from: </pmc/articles/PMC5228613/>
11. Soldatelli MD, Siepmann T, Illigens BM-W, Santos VS dos, Torres IL da S, Fregni F, et al. Mapping of predictors of the disengagement of the descending inhibitory pain modulation system in fibromyalgia: an exploratory study. *Br J Pain*. 2020;204946372092076.
12. Cardinal TM, Antunes LC, Brietzke AP, Parizotti CS, Carvalho F, De Souza A, et al. 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. *Front Hum Neurosci* [Internet]. 2019 Apr 25 [cited 2019 Jun 5];13:138. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31105542>
13. Caumo W, Antunes LC, Elkfury JL, Herbstrith EG, Sipmann RB, Souza A, et al. The Central Sensitization Inventory validated and adapted for a Brazilian population: psychometric properties and its relationship with brain-derived neurotrophic factor. *J Pain Res*. 2017;10:2109–22.
 14. Baliki MN, Mansour AR, Baria AT, Apkarian AV. Functional Reorganization of the Default Mode Network across Chronic Pain Conditions. *PLoS One*. 2014;9(9):e106133.
 15. Soper DS. Post-hoc Statistical Power for Hierarchical Multiple Regression References - Statistics Calculators [Internet]. 2022 [cited 2022 Aug 24]. Available from: <https://www.danielsoper.com/statcalc/references.aspx?id=17>
 16. Gomes-Oliveira MH, Gorenstein C, Lotufo Neto F, Andrade LH, Wang YP. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Beck Depression Inventory-II in a community sample. *Rev Bras Psiquiatr*. 2012;
 17. F. S, E. C, L.P. V, L. D-A, I.C.C. de S, I.L.S. T, et al. Cross-Cultural Adaptation and Validation of the Brazilian Portuguese Version of the Pain Catastrophizing Scale. *Pain Med (United States)*. 2012;
 18. Kaipper MB, Chachamovich E, Hidalgo MPL, da Silva Torres IL, Caumo W. Evaluation of the structure of Brazilian State-Trait Anxiety Inventory using a Rasch psychometric approach. *J Psychosom Res* [Internet]. 2010 Mar;68(3):223–33. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022399909003766>
 19. Whitfield-Gabrieli S, Nieto-Castanon A. *Conn* : A Functional Connectivity Toolbox for Correlated and Anticorrelated Brain Networks. *Brain Connect* [Internet]. 2012;2(3):125–41. Available from: <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/brain.2012.0073>
 20. Bastos AM, Schoffelen J-M. A Tutorial Review of Functional Connectivity Analysis Methods and Their Interpretational Pitfalls. *Front Syst Neurosci* [Internet]. 2016;9(January):1–23. Available from: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fnsys.2015.00175/abstract>
 21. Tzourio-Mazoyer N, Landeau B, Papathanassiou D, Crivello F, Etard O, Delcroix N, et al. Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *Neuroimage*. 2002;15(1):273–89.
 22. Behzadi Y, Restom K, Liu J, Liu TT. A component based noise correction method (CompCor) for BOLD and perfusion based fMRI. *Neuroimage*. 2007 Aug 1;37(1):90–101.

23. Tseng M-T, Kong Y, Eippert F, Tracey I. Determining the Neural Substrate for Encoding a Memory of Human Pain and the Influence of Anxiety. *J Neurosci*. 2017;37(49):11806–17.
24. Sours C, Alon G, Roys S, Gullapalli RP. Modulation of resting state functional connectivity of the motor network by transcranial pulsed current stimulation. *Brain Connect [Internet]*. 2014 Apr 1 [cited 2022 Aug 23];4(3):157–65. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24593667/>
25. Tan Y, Wu X, Chen J, Kong L, Qian Z. Structural and Functional Connectivity Between the Amygdala and Orbital Frontal Cortex in Burning Mouth Syndrome: An fMRI Study. *Front Psychol*. 2019;10:1700.
26. Sevel LS, Craggs JG, Price DD, Staud R, Robinson ME. Placebo Analgesia Enhances Descending Pain-Related Effective Connectivity: A Dynamic Causal Modeling Study of Endogenous Pain Modulation. *J Pain*. 2015;16(8):760–8.
27. López-Solà M, Woo CW, Pujol J, Deus J, Harrison BJ, Monfort J, et al. Towards a neurophysiological signature for fibromyalgia. *Pain*. 2017;158(1):34–47.
28. Hazlett EA, Buchsbaum MS, Zhang J, Newmark RE, Glanton CF, Zelmanova Y, et al. Frontal-striatal-thalamic mediodorsal nucleus dysfunction in schizophrenia-spectrum patients during sensorimotor gating. *Neuroimage [Internet]*. 2008 Sep [cited 2022 Aug 23];42(3):1164–77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18588988/>
29. Schreiber KL, Loggia ML, Kim J, Cahalan CM, Napadow V, Edwards RR. Painful After-Sensations in Fibromyalgia are Linked to Catastrophizing and Differences in Brain Response in the Medial Temporal Lobe. *J Pain*. 2017 Jul 1;18(7):855–67.
30. Schmidt-Wilcke T, Ichesco E, Hampson JP, Kairys A, Peltier S, Harte S, et al. Resting state connectivity correlates with drug and placebo response in fibromyalgia patients. *NeuroImage Clin*. 2014;
31. Manning J, Reynolds G, Saygin ZM, Hofmann SG, Pollack M, Gabrieli JDE, et al. Altered Resting-State Functional Connectivity of the Frontal-Striatal Reward System in Social Anxiety Disorder. *PLoS One [Internet]*. 2015 Apr 1 [cited 2022 Aug 23];10(4):e0125286. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0125286>
32. Caumo W, Ruehlman LS, Karoly P, Sehn F, Vidor LP, Dall-Ágnol L, et al. Cross-Cultural Adaptation and Validation of the Profile of Chronic Pain: Screen for a Brazilian Population. *Pain Med (United States) [Internet]*. 2013 [cited 2021 Mar 7];14(1):52–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23171145/>
33. Schestatsky P, Stefani LC, Sanches PR, Silva Júnior DP da, Torres ILS, Dall-Agnol L, et al. Validation of a Brazilian quantitative sensory testing (QST) device for the diagnosis of small fiber neuropathies. *Arq*

- Neuropsiquiatr [Internet]. 2011 [cited 2022 Aug 23];69(6):943–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22297885/>
34. Schestatsky P, Stefani LC, Sanches PR, Silva J?nior DP da, Torres ILS, Dall-Agnol L, et al. Validation of a Brazilian quantitative sensory testing (QST) device for the diagnosis of small fiber neuropathies. *Arq Neuropsiquiatr*. 2011;
 35. Botelho LM, Morales-Quezada L, Rozisky JR, Brietzke AP, Torres ILS, Deitos A, et al. A Framework for Understanding the Relationship between Descending Pain Modulation, Motor Corticospinal, and Neuroplasticity Regulation Systems in Chronic Myofascial Pain. *Front Hum Neurosci* [Internet]. 2016 [cited 2018 Apr 14];10:308. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27445748>
 36. Amorim P. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. *Rev Bras Psiquiatr*. 2000 Sep;22(3):106–15.
 37. Hemington KS, Coulombe M-A. The periaqueductal gray and descending pain modulation: why should we study them and what role do they play in chronic pain? *J Neurophysiol*. 2015;114(4):2080–3.
 38. Napadow V, LaCount L, Park K, As-Sanie S, Clauw DJ, Harris RE. Intrinsic brain connectivity in fibromyalgia is associated with chronic pain intensity. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2010 Aug [cited 2021 Mar 7];62(8):2545–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20506181/>
 39. Malinen S, Vartiainen N, Hlushchuk Y, Koskinen M, Ramkumar P, Forss N, et al. Aberrant temporal and spatial brain activity during rest in patients with chronic pain. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2010 Apr 6 [cited 2021 Mar 7];107(14):6493–7. Available from: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1001504107
 40. Cook DB, Stegner AJ, McLoughlin MJ. Imaging pain of fibromyalgia. *Curr Pain Headache Rep* [Internet]. 2007 Jun [cited 2022 Aug 24];11(3):190–200. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17504646/>
 41. Gracely RH, Petzke F, Wolf JM, Clauw DJ. Functional magnetic resonance imaging evidence of augmented pain processing in fibromyalgia. *Arthritis Rheum*. 2002;46(5):1333–43.
 42. Davis KD, Moayedi M. Central mechanisms of pain revealed through functional and structural MRI. *J Neuroimmune Pharmacol* [Internet]. 2013 Jun [cited 2022 Jul 17];8(3):518–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22825710/>
 43. Gracely RH, Petzke F, Wolf JM, Clauw DJ. Functional magnetic resonance imaging evidence of augmented pain processing in fibromyalgia. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2002 [cited 2021 Dec 30];46(5):1333–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12115241/>

44. Donadel DG, Zortea M, Torres ILS, Fregni F, Caumo W. The mapping of cortical activation by near-infrared spectroscopy might be a biomarker related to the severity of fibromyalgia symptoms. *Sci Reports* 2021 111 [Internet]. 2021 Aug 3 [cited 2022 Aug 23];11(1):1–14. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-94456-2>
45. Ji G, Neugebauer V. Hemispheric lateralization of pain processing by amygdala neurons. *J Neurophysiol.* 2009;102(4):2253–64.
46. Agcaoglu O, Miller R, Mayer AR, Hugdahl K, Calhoun VD. Lateralization of resting state networks and relationship to age and gender. *Neuroimage.* 2015 Jan 1;104:310–25.
47. Galambos A, Szabó E, Nagy Z, Édes AE, Kocsel N, Juhász G, et al. A systematic review of structural and functional MRI studies on pain catastrophizing. 2019 [cited 2020 May 24]; Available from: <http://doi.org/10.2147/JPR.S192246>
48. Lazaridou A, Kim J, Cahalan CM, Loggia ML, Franceschelli O, Berna C, et al. Effects of Cognitive-Behavioral Therapy (CBT) on Brain Connectivity Supporting Catastrophizing in Fibromyalgia. *Clin J Pain.* 2017;33(3):215–21.
49. Cook DB, Lange G, Ciccone DS, Liu W-C, Steffener J, Natelson BH. Functional imaging of pain in patients with primary fibromyalgia. *J Rheumatol.* 2004;31(2).
50. Gasparin A, Zortea M, Santos VS dos, Carvalho F, Torres ILS, Souza A de, et al. Brain-Derived Neurotrophic Factor Modulates the Effect of Sex on the Descending Pain Modulatory System in Healthy Volunteers. *Pain Med.* 2020;21(10):2271–9.
51. Whitfield-Gabrieli S, Nieto-Castanon A. *Conn* : A Functional Connectivity Toolbox for Correlated and Anticorrelated Brain Networks. *Brain Connect* [Internet]. 2012 Jun [cited 2018 Apr 14];2(3):125–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22642651>

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho faz parte da tese de obtenção de Doutorado em Clínica Médica pelo autor principal e está inserido em uma das linhas de pesquisa desenvolvidas pelo Laboratório de Dor & Neuromodulação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre/Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), voltada ao estudo de mecanismos de neurofisiologia da dor, que conta com a participação de dois centros mundiais de excelência: Spaulding Neuromodulation Center da Harvard Medical School, Boston, MA, EUA, e o laboratório IfADo Leibniz Research Center

for Working Environment and Human Factors, Dortmund, Alemanha. O trabalho, portanto, insere-se no projeto temático do Laboratório de Dor & Neuromodulação, que visa a compreender a integração dos diversos mecanismos neurobiológicos, diagnósticos e terapêuticos, com a finalidade de gerar conhecimento para embasar protocolos de assistência e pesquisa.

No primeiro estudo, demonstramos que a disfunção do sistema modulatório descendente da dor está correlacionada com a gravidade dos sintomas da FM e com marcadores séricos de neuroplasticidade, e que o conjunto desses sintomas pode prever a disfunção do sistema, facilitando a avaliação clínica. Ademais, demonstramos que a intensidade da dor difusa medida pela escala análogo visual tem menor precisão diagnóstica do que outros sintomas, como catastrofização, qualidade do sono e impacto da FM.

No segundo estudo, demonstramos que pacientes fibromiálgicas com o sistema modulatório descendente disfuncional apresentam menor CFI entre o córtex somatossensorial e a PAG (áreas envolvidas na neuromatriz da dor e no sistema modulatório descendente, respetivamente) e que essa conectividade, por sua vez, apresentou alta especificidade e sensibilidade para distinguir os dois grupos de pacientes. Ademais, a CF entre essas duas áreas apresentou correlação com os sintomas de sensibilização central, qualidade do sono e escores de dor.

Os resultados obtidos serão divulgados em artigos de repercussão internacional em periódicos de bom impacto, independentemente dos resultados encontrados. Também poderão ser apresentados em eventos científicos, congressos e seminários, com ampla divulgação após a análise e publicação.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Os estudos de neuroimagem para avaliação das alterações encefálicas, especialmente da conectividade funcional intrínseca, são promissores: devem trazer ainda mais informações, como aconteceu nos últimos 20 anos. Estudos de RM com fMRI, com protocolos de avaliação mais avançados e com sobreposição com dados de técnica de tensores de difusão em grandes bases de dados, como os “connectomes”, poderão fornecer maior embasamento para a compreensão da síndrome de sensibilização central.

Desta forma, o progresso no conhecimento dos diferentes mecanismos de CFI e do sistema modulatório descendente em indivíduos com FM e sua correlação com variáveis clínicas possibilita um refinamento na abordagem diagnóstica e terapêutica. Assim, abre oportunidades para explorar o impacto de terapêuticas. De fato, como perspectivas futuras, objetivamos avaliar o impacto da neuromodulação nos mecanismos de conectividade cerebral e avaliar os diferentes resultados clínicos que essa abordagem poderá proporcionar.

ANEXOS

ANEXO 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nº do projeto GPPG ou CAAE _____

Título do Projeto: A DISFUNÇÃO DO SISTEMA MODULATÓRIO DESCENDENTE EM PACIENTES COM FIBROMIALGIA E SUA CORRELAÇÃO COM VARIÁVEIS CLÍNICAS E COM A CONECTIVIDADE CEREBRAL AVALIADA POR ESTUDO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL EM ESTADO DE REPOUSO

A senhora já aceitou participar do projeto de pesquisa “COMPARAÇÃO ENTRE A APLICAÇÃO DA NEUROMODULCAO TRANSCRANIANA DE CORRENTE CONTÍNUA SOBRE OS CÓRTEX MOTOR PRIMÁRIO E PRÉ-FRONTAL DORSOLATERAL NA CONECTIVIDADE CEREBRAL INTRÍNSECA AVALIADA POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL (fMRI) NA FIBROMIALGIA: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO CONTROLADO”, CAAE: 80762717.1.0000.5327. Gostaríamos de convidá-la a participar de outro projeto relacionado, do mesmo grupo de pesquisa. Este novo projeto inclui uma avaliação adicional em relação ao projeto do qual a senhora é participante, com o objetivo de entender melhor a fibromialgia. Este projeto é também realizado pelo Laboratório e Dor & Neuromodulação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Se a senhora aceitar participar da pesquisa, além de autorizar a utilização dos dados coletados pelo projeto ao qual a senhora já aceitou participar, também realizará um exame de ressonância magnética, em que você deverá vir ao Serviço de Radiologia do Hospital, em data previamente agendada com a senhora. Durante o exame de ressonância magnética, a senhora se deitará em uma cama e permanecerá com a cabeça em um tubo vazado (o tubo não é fechado em nenhum lado e possui ventilação normal) por 30 minutos, sem se mexer. O exame é indolor e seguro e, diferentemente de exames de Raio X e Tomografia, não utiliza radiação ionizante. Não é necessária injeção de nenhuma substância ou contraste. O principal desconforto durante o exame é o ruído emitido pela máquina, que será minimizado com utilização de espumas colocadas em cada lado da cabeça e o fato de ter que permanecer parada, sem trocar de posição.

A participação na pesquisa não trará benefícios diretos aos participantes, porém, contribuirá para o aumento do conhecimento sobre o assunto estudado, e, poderá beneficiar futuros pacientes. 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, porém, poderá ser ressarcido por despesas decorrentes de sua participação (ex.: despesas de transporte e alimentação), cujos custos serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

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 Profº Dr. Wolnei Caumo ou com o pesquisador Dr. Matheus Soldatelli, pelo telefone (51) 3359-6377, 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: _____

ANEXO 2 - STROBE CHECKLIST ESTUDO 1

Checklist conforme declaração Strengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology (STROBE)

	Item No	Recommendation
Title and abstract	1	(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
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses
Methods		
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection
Participants	6	(a) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable
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
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias
Study size	10	Explain how the study size was arrived at

Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding
		(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions
		(c) Explain how missing data were addressed
		(d) If applicable, describe analytical methods taking account of sampling strategy
		(e) Describe any sensitivity analyses
Results		
Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed
		(b) Give reasons for non-participation at each stage
		(c) Consider use of a flow diagram
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (e.g. 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*	Report numbers of outcome events or summary measures
Main results	16	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (e.g., 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	Report other analyses done—e.g. analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses

Discussion		
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives
Limitations	19	Discuss limitations of the study, considering sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence
Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results
Other information		
Funding	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based

*Give information separately for exposed and unexposed groups.

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

ANEXO 3 - STROBE CHECKLIST ESTUDO 2

Checklist conforme declaração Strengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology (STROBE)

	Item No	Recommendation
Title and abstract	1	(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
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses
Methods		
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection
Participants	6	(a) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable
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
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias
Study size	10	Explain how the study size was arrived at

Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding
		(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions
		(c) Explain how missing data were addressed
		(d) If applicable, describe analytical methods taking account of sampling strategy
		(e) Describe any sensitivity analyses
Results		
Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed
		(b) Give reasons for non-participation at each stage
		(c) Consider use of a flow diagram
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (e.g. 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*	Report numbers of outcome events or summary measures
Main results	16	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (e.g., 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	Report other analyses done—e.g. analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses

Discussion		
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives
Limitations	19	Discuss limitations of the study, considering sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence
Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results
Other information		
Funding	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based

*Give information separately for exposed and unexposed groups.

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

ANEXO 4 - PRINCIPLES AND PRACTICE OF CLINICAL RESEARCH.

Curso Principles and Practice of Clinical Research (PPCR) da Harvard School of Public Health (HSPH), EUA, realizado de forma online em Porto Alegre em 2017.



ANEXO 5 - OUTSTANDING TEACHING ASSISTANT PRINCIPLES AND PRACTICE OF CLINICAL RESEARCH.

Atuação como professor assistente no curso Principles and Practice of Clinical Research (PPCR) da Harvard School of Public Health (HSPH), EUA, em 2018.



*Principles and Practice of Clinical Research
Harvard T.H. Chan School of Public Health
Center for Executive and Continuing Professional Education*

Awards

Matheus Dorigatti Soldatelli

as a 2018

Outstanding Teaching Assistant I

For being a top performer Teaching Assistant in 2018 PPCR program.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "F. Fregni".

*Felipe Fregni, MD, PhD, MPH, MEd
Associate Professor, Harvard Medical School
PPCR Course Director*

**ANEXO 6 - PRÊMIO DE MELHOR CASO DE NEURORRADIOLOGIA
CONFERIDO PELO AMERICAN COLLEGE OF RADIOLOGY (ACR) E
AMERICAN INSTITUTE FOR RADIOLOGIC PATHOLOGY (AIRP)**

Premiação ocorrida em Washington, DC, EUA, em 2018, durante o curso realizado na mesma cidade, com duração de um mês.



ANEXO 7 - MASTER OF SCIENCE (M.SC.) DEGREE.

Título de Mestre em Ciências conferido pela Dresden International University (DIU), Dresden, Alemanha, em 2019. Validado no Brasil como mestrado acadêmico.



ANEXO 8 - VALIDAÇÃO DO TÍTULO DE MÉDICO EM PORTUGAL.

Obtido após provas oral e escrita, através da Universidade do Algarve (UAlg).



UNIVERSIDADE DO ALGARVE



MARIA ISABEL CORREIA BORGES PEREIRA SIMÕES, Diretora dos Serviços Académicos da Universidade do Algarve, certifica, em face dos respetivos registos existentes nesta Universidade, que:

Em cumprimento do despacho exarado no requerimento que fica arquivado nestes Serviços, que o título de "Médico", obtido na "Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul" - (Brasil), por **Matheus Dorigatti Soldatelli**, portador do passaporte nº FO429261, foi, em doze de junho de dois mil e dezanove, por deliberação do respetivo júri, considerado equivalente ao grau de Mestre em Medicina, com a classificação de dezoito (18) valores, pela Universidade do Algarve, através do Departamento de Ciências Biomédicas e Medicina

Consta do termo lavrado para o efeito

A presente certidão vai autenticada com o selo branco desta Universidade

Faro, 26 de julho de 2019

A Diretora dos Serviços

Isabel Simões
(Isabel Simões)

Em. Certidão: 30,00 €
Conferido:

João Mealha
M^o João Mealha
Técnica Superior

ANEXO 9 - RESIDÊNCIA EM RADIOLOGIA E DIAGNÓSTICO POR IMAGEM.

De 2017 a 2020, no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS, Brasil.



ANEXO 10 - FELLOWSHIP EM NEURORRADIOLOGIA E RADIOLOGIA DE CABEÇA E PESCOÇO.

De 2020 a 2021, no Hospital da Beneficência Portuguesa de São Paulo, SP, Brasil.

	A Beneficência Portuguesa de São Paulo		Medicina Diagnóstica
CERTIFICADO Certificamos que a Doutor			
<i>Matheus Dorigatti Soldatelli</i>			
CRM: 210.629 e CPF: 029.784.920-40, concluiu o Curso de Fellowship em Radiologia e Diagnóstico Por Imagem na subespecialidade de Neurrorradiologia e Cabeça e Pescoço , cursado na Real e Benemerita Associação Portuguesa de Beneficência de São Paulo - Hospital BP, no período de 01/03/2020 a 28/02/2021, perfazendo o total de 2.880 horas /ano.			
São Paulo, 28 de Fevereiro de 2021.			
 Dr. Matheus Dorigatti Soldatelli			
 Dr. Douglas Jorge Razy Coordenador Científico	 Dr. Lázaro Luis Faria do Amaral Preceptor	 Dr. Raíner Gallherine Haefliger Preceptor	 Dr. Luiz Eduardo Loureiro Bettarello Diretor Executivo Médico e de Desenvolvimento Técnico

ANEXO 11 - ATUAÇÃO COMO NEURORRADIOLOGISTA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO (UNIFESP) E NA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE SÃO PAULO (SCMSP).

Atuação como médico contratado voluntário e preceptor no período de 2021 a 2022.



DIRETORIA
DE RECURSOS
HUMANOS

DECLARAÇÃO DE VOLUNTARIADO

Declaramos para os devidos fins, que o(a) **Dr(a). Matheus Dorigatti Soldatelli, CRM nº 210629,** participou como voluntário na Unidade de Diagnóstico por Imagem na área de Cabeça e Pescoço da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, - às quartas-feiras - 08:00 as 12:00 no período de 01/04/2021 a 20/01/2022.

São Paulo, 28 de janeiro de 2022.


Vania Neves Felgueiras
Diretora de Recursos Humanos

ANEXO 12 - DIPLOMA EUROPEU EM NEURORRADIOLOGIA.

Diploma obtido em setembro de 2022, após realização e aprovação em 4 módulos (semestrais) e prova final, oral e escrita. Conferido pela European Society of Neuroradiology (ESNR).



ANEXO 13 - CLINICAL FELLOWSHIP IN PEDIATRIC NEURORADIOLOGY.

Clinical Fellowship em curso no The Hospital for Sick Children (SickKids), Toronto, Canadá, com duração de 1 ano, iniciado em julho de 2022.



July 7, 2022

American Society of Neuroradiology (ASNR)

To Whom It May Concern:

RE: DR. MATHEUS D. SOLDATELLI

Dr. Matheus D. Soldatelli is a registered clinical fellow in paediatric neuroradiology in the Department of Diagnostic Imaging at The Hospital for Sick Children from July 1, 2022 to June 30, 2023.

It would be greatly appreciated if he is registered in the American Society of Neuroradiology (ASNR) as an in-training member.

Sincerely,

A handwritten signature in black ink, appearing to be "Oscar Navarro". The signature is written over a large, faint, stylized outline of a person's head and shoulders.

Dr. Oscar Navarro
Director of Paediatric Radiology Fellowship Program
Department of Diagnostic Imaging
The Hospital for Sick Children

cc: Savannah Clancey