

Metilação do gene *NR3C1* em indivíduos com dor crônica: perfil de pacientes em estudo transversal com usuários do sistema público de saúde

Methylation of the NR3C1 gene in individual with chronic pain: patient profile in a cross-sectional study with users of the public health system

Alexandre Lima Castelo-Branco¹, Tamires dos Santos Vieira¹, Flávia Vitorino Freitas¹, Júlia Assis Pinheiro¹, Iuri Drumond Louro¹, Adriana Maria Álvares-da-Silva¹

DOI 10.5935/2595-0118.20220056-pt

RESUMO

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS: Estudos sugerem que fatores moleculares compartilhados podem afetar simultaneamente diferentes síndromes de dor crônica. Compreender os mecanismos epigenéticos de várias doenças que estão associadas à dor crônica é essencial para entender sua aparência e progressão. O objetivo deste estudo foi avaliar a associação entre metilação do DNA do gene *NR3C1*, receptor de glicocorticoides, com a presença e intensidade de dor crônica, bem como os fatores preditivos considerando também fatores socioeconômicos, de saúde e de estilo de vida correlacionados com tal associação em pacientes adultos usuários do Sistema Único de Saúde (SUS) em um município do sudeste brasileiro.

MÉTODOS: Trata-se de um estudo observacional transversal, cuja coleta de dados foi realizada através de entrevistas para investigação do *status* socioeconômico, condições de estilo de vida e de saúde, além de avaliações antropométricas e coletas de sangue. Os dados foram analisados por meio de ensaios quantitativos de metilação do DNA e análise estatística.

RESULTADOS: Foi observado que 123 participantes (44,1%) apresentaram metilação da região estudada do gene *NR3C1*. Análises estatísticas univariadas e multivariada mostraram que as variáveis idade e nível de cortisol estão significativamente associadas com a metilação do gene e a presença de dor crônica.

CONCLUSÃO: Os achados sugerem envolvimento epigenético na metilação do gene *NR3C1* em associação com dor crônica e sugerem a necessidade de se buscar novas evidências em relação aos mecanismos que explicam a dor crônica, sobretudo do ponto de vista epigenético, pois as mesmas poderão trazer subsídios para prevenção e controle da dor crônica visando pacientes com o perfil encontrado nesse estudo.

Descritores: Dor crônica, DNA metilação, Estilo de vida, Fatores socioeconômicos.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVES: Studies suggest that shared molecular factors can simultaneously affect different chronic pain syndromes. Understanding the epigenetic mechanisms of various diseases that are associated with chronic pain is essential to comprehend its appearance and progression. The objective of this study is to evaluate the association between DNA methylation of the *NR3C1* gene with the presence and intensity of chronic pain, as well as predictive factors also considering socioeconomic, health and lifestyle factors correlated with this association, in adult individuals using the Brazilian Unified Health System (*Sistema Único de Saúde* - SUS) in a municipality in Southeast Brazil.

METHODS: This is a cross-sectional study, whose data collection was carried out through interviews to investigate socioeconomic status, lifestyle and health conditions, in addition to anthropometric assessments and blood samples. Data were analyzed by quantitative DNA methylation assays and statistical analysis.

CONCLUSION: The findings suggest epigenetic involvement in *NR3C1* gene methylation in association with chronic pain and suggest the need to seek new evidence in relation to the mechanisms that explain chronic pain, especially from an epigenetic point of view, as they may provide subsidies for the prevention and control of chronic pain targeting individuals with the profile found in this study.

Keywords: Chronic pain, DNA methylation, Lifestyle, Socioeconomic factors.

INTRODUÇÃO

Segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), dor é uma experiência sensitiva e emocional desagradável associada, ou semelhante àquela associada, a uma lesão tecidual real ou po-

Alexandre Lima Castelo-Branco – <https://orcid.org/0000-0002-1704-9877>;
Tamires dos Santos Vieira – <https://orcid.org/0000-0002-3899-3664>;
Flávia Vitorino Freitas – <https://orcid.org/0000-0003-3722-9987>;
Júlia Assis Pinheiro – <https://orcid.org/0000-0002-4699-9396>;
Iuri Drumond Louro – <https://orcid.org/0000-0001-5160-9615>;
Adriana Maria Álvares-da-Silva – <https://orcid.org/0000-0002-8078-0304>.

1. Universidade Federal do Espírito Santo, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Alegre, ES, Brasil.

Apresentado em 02 de agosto de 2022.

Aceito para publicação em 15 de novembro de 2022.

Conflito de interesses: não há – Fontes de fomento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES), com financiamento do projeto de pesquisa PPSUS (Editais 10/2013 e 05/2015).

DESTAQUES

- Sugere envolvimento epigenético em associação com dor crônica.
- Identifica perfil de indivíduos acometidos por dor crônica.
- Evidencia subsídios para prevenção e controle da dor crônica.

Correspondência para:

Alexandre Lima Castelo-Branco

E-mail: alexandre.branco@estacio.br xande.fisio@hotmail.com

© Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor

tencial¹. Quanto à duração, a dor pode ser classificada como aguda (surge de forma súbita, pontual, resultante de traumas ou associada a doenças, com durabilidade inferior a seis meses) ou crônica (persiste no tempo, com duração superior a seis meses). As dores crônicas afetam uma grande parcela da população mundial, tanto em países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento. Investigações têm examinado a relação das dores crônicas e o estresse, um processo psicobiológico relativamente importante^{1,2}.

Quando um indivíduo é exposto a situações que levam a um estresse, surge no eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) uma cascata molecular iniciada pelo hipotálamo, com secreção do hormônio liberador de corticotrofina (CRH), que, por sua vez, provoca a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na hipófise, levando à produção de glicocorticoides no córtex adrenal. Receptores de glicocorticoides desligam essa resposta ao estresse através de *feedback* negativo, que fica prejudicado sob situações de estresse³.

A epigenética é uma área emergente de pesquisa que estuda como as influências ambientais podem afetar a expressão dos genes de um indivíduo. Processos epigenéticos como acetilação e metilação de histonas podem estar envolvidos na patogênese de dor crônica (DC). Estudos sugerem que fatores moleculares compartilhados podem afetar simultaneamente diferentes síndromes de DC. Compreender os mecanismos epigenéticos de várias doenças que estão associadas à DC é essencial para entender a aparência e progressão da doença. Esforços têm sido feitos na descoberta de genes que podem ser responsáveis pelo início da dor, porém, é importante que se considere não apenas genes individuais relacionados à dor, mas que também se considere uma abordagem mais holística que considere mecanismos epigenéticos^{4,5}.

Existem relatos na literatura de associação entre DC e alterações na expressão e regulação de genes. Desta forma, a dor pode alterar epigeneticamente genes como *SCN9A*, *ZFX2*, *5HT2A*, *COMT*⁶⁻⁸.

O gene *NR3C1*, também denominado gene receptor de glicocorticoides, ou simplesmente GR, codifica o receptor de glicocorticoide humano, que é um fator de transcrição dependente de ligante e ativa a transcrição de genes responsivos a glicocorticoides por meio da ligação direta a elementos de resposta a glicocorticoides em sua região promotora, ou modulando a atividade transcricional de outros fatores de transcrição através de interações proteína-proteína. Está implicado em um amplo espectro de funções bioquímicas fisiológicas que são essenciais para a vida e têm um papel fundamental na manutenção da homeostase basal e relacionada ao estresse. O aumento da metilação prejudica a plasticidade na expressão do gene *NR3C1* e, conseqüentemente, a gama de respostas futuras de adaptação ao estresse, resultando possivelmente em risco aumentado para doenças crônicas de início na idade adulta⁹.

O objetivo deste estudo foi avaliar os fatores preditivos e a associação entre metilação do DNA do gene *NR3C1* com presença e intensidade de DC, considerando também fatores socioeconômicos, de saúde e de estilo de vida em indivíduos adultos.

MÉTODOS

Realizou-se um estudo observacional transversal, seguindo as recomendações da *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology* (STROBE)¹⁰, composto por 386 pacientes, recru-

tados no Sistema Único de Saúde (SUS) brasileiro do município de Alegre-ES, sudeste do Brasil. Deste total, 279 pacientes foram selecionados a partir dos seguintes critérios de elegibilidade para participação no estudo: possuir faixa etária entre 20 e 59 anos, ser o único indivíduo residente no domicílio a participar da pesquisa e possuir condições cognitivas para responder aos questionários.

Os indivíduos foram convidados pelos pesquisadores a participar da pesquisa através de visita domiciliar, acompanhados pelo agente comunitário de saúde de localidades das zonas urbana e rural do município no período entre 2014 e 2016.

Variáveis e instrumentos de medida

Foram estudadas variáveis independentes por meio de entrevistas individuais. Posteriormente, os pacientes foram categorizados com relação ao sexo, idade, renda *per capita* (Fundação Getúlio Vargas, 2014), escolaridade, ter ou não filhos, relato de comorbidades, estresse e ansiedade autorreferidos, autorreferência da saúde, segurança alimentar e nutricional, excesso de peso, consumo de bebida alcoólica, hábito tabagista, autorreferência de uso de fármacos contínuos (para depressão, dormir, pressão arterial, diabetes, cardiopatia), prática de atividade física e consumo de bebida alcoólica. A variável dependente foi a intensidade de dor e considerou-se o escore do Inventário Breve da Dor (BPI) entre 1 e 3,9 para dor leve; entre 4 e 6,9 para dor moderada; e entre 7 e 10 para dor intensa¹¹.

A avaliação antropométrica foi realizada entre 7 h e 8 h da manhã, com os participantes em jejum mínimo de 8 horas. A estatura foi aferida com estadiômetro (Altuxexata[®], Belo Horizonte, MG, Brasil) e o peso corporal aferido em balança eletrônica (Tanita[®], modelo BC601, São Bernardo do Campo, SP, Brasil). O índice de massa corporal (IMC) foi calculado e classificado seguindo a referência para adultos (20-59 anos)¹².

A Segurança Alimentar e Nutricional (SAN) foi avaliada utilizando a Escala Brasileira de Insegurança Alimentar (EBIA)¹³⁻¹⁵. A EBIA é composta por 14 perguntas com pontuação final resultante do somatório das respostas afirmativas. A partir do somatório, são fornecidos dados sobre o grau relativo à insegurança alimentar (leve, moderada e grave), referentes à preocupação com a falta de alimento no domicílio e o fato de algum morador ter passado fome por um período de um dia nos últimos três meses. As respostas foram classificadas em “SIM” entre os que apresentaram SAN (EBIA=0) e “NÃO” entre os que apresentaram grau leve, moderado ou grave de insegurança alimentar (INSAN, EBIA>0).

Avaliação de dor crônica

Os sintomas sugestivos de DC foram investigados por meio do BPI, cujos valores obtidos foram adequados aos *scores* totais categorizados. O BPI avalia a presença da dor em qualquer parte do corpo e a intensidade da dor. Para avaliação da intensidade da dor, considerou-se o BPI entre 1 e 3,9 para dor leve; entre 4 e 6,9 para dor moderada; e entre 7 e 10 para dor intensa¹¹.

Avaliação de depressão

Os sintomas sugestivos de depressão foram investigados por meio do Inventário de Depressão de Beck-II – BDI-II, uma escala de autorrelato capaz de avaliar a presença e intensidade dos sintomas depressivos, amplamente utilizado na clínica e em pesquisa com a popula-

ção em geral¹⁶. O BDI-II consiste em um questionário contendo 21 itens que avaliam sentimentos da pessoa nas últimas duas semanas, conforme o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-IV), classificados em uma escala de 4 pontos, que varia entre 0 e 3, sendo a pontuação máxima possível de 63 pontos¹⁷. A partir do score de cada paciente, a variável desfecho estudada foi denominada “sintomas depressivos”, com triagem positiva definida por escore BDI-II ≥ 17 ¹⁸.

Amostras de sangue, dosagem de cortisol e extração do DNA

Foram coletadas, por punção venosa, amostras de 10 mL de sangue periférico, transportadas em caixas térmicas até o Laboratório de Biotecnologia da UFES para processamento. Transferiram-se 3 mL da amostra para um tubo com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) para realização de análise molecular e 2 mL para um tubo contendo anticoagulante NaF (fluoreto de sódio). O restante da amostra foi transferido para um tubo sem anticoagulante, contendo gel separador para determinação dos níveis de cortisol. A análise do cortisol sérico foi realizada pelo método de quimiluminescência (valores de referência: 6,7 a 22,6 $\mu\text{g/dL}$), categorizando-se o cortisol como baixo: $< 6,7 \mu\text{g/dL}$ e cortisol acima do normal $\geq 6,7 \mu\text{g/dL}$ (Laboratório Hermes Pardini³, Belo Horizonte, MG, Brasil). A extração do DNA foi realizada pelo método *Salting-Out* com precipitação salina¹⁹. A qualidade e concentração do DNA foi verificada utilizando NanoDrop[®] (São Paulo, SP, Brasil).

Ensaio quantitativo de metilação do DNA

A partir das amostras de DNA extraído, a conversão de bissulfato de sódio foi realizada usando um *kit* (EpiTect[®] Bisulfite Kit; Qiagen, Valencia, CA), seguindo as recomendações do fabricante. A confirmação da qualidade do produto de PCR e ausência de contaminação foi estabelecida em géis de agarose a 2% usando GelRedTM[®] (Uniscience, Osasco, SP, Brasil).

A região 1F do *NR3C1* contém 410 pares de bases e 47 sítios CpGs^{20,21}. Utilizaram-se *primers* que incluíram a região entre 988 e 1344 (dados de sequência submetidos ao banco de dados GenBank com o número de acesso do NCBI AY436590.1)²². Foi analisada a sequência do *NR3C1*, região 1F que abrange as CpGs 40 a 47²³.

O pirosequenciamento foi realizado usando o PSQ96ID *Pyrosequencer*[®] (Qiagen, Valencia, CA) com o *PyroMark Gold Q96 Reagent Kit*[®] (Qiagen, Valencia, CA), de acordo com o protocolo do fabricante.

Vieses

Todas as entrevistas e coletas de dados foram realizadas em instrumentos padronizados, coletados pelos próprios pesquisadores, bem como a coleta do material para análise do cortisol e do DNA. Os instrumentos de avaliação foram realizados mediante recomendações específicas para eles e as amostras de sangue foram coletadas, armazenadas, transportadas e analisadas mediante padronização descrita.

Tamanho amostral

A amostragem foi baseada no cadastro e-SUS da população de 20 a 59 anos, residente em Alegre, ES, e atendida pela Rede de Atenção Básica, o qual foi previamente fornecido pelos Agentes Comunitários de Saúde (ACS) vinculados ao Programa de Agentes Comuni-

tários de Saúde (PACS) e às Unidades Básicas de Saúde (UBS) do município.

Para o cálculo amostral foi utilizada a fórmula apresentada abaixo, por meio do *software* aberto OpenEpi, versão 3.01, assumindo-se a precisão absoluta de 5%, intervalo de confiança de 95%, efeito de desenho igual a 1 e, na ausência de estudos específicos na região, tomou-se por referência a proporção estimada de excesso de peso de 50%. Por fim, acrescentou-se 10% de perdas. A amostra foi estratificada proporcionalmente por localização rural e urbana, bem como por UBSs e PACS, visando a representatividade da Rede de Atenção Básica Municipal.

$$n = deff \times \frac{Npq}{\frac{d^2}{1.96^2} (N-1) + pq}$$

n = tamanho da amostra; N = população; d = precisão absoluta desejada; p = proporção estimada do evento; q = 1 - p; deff = efeito de desenho.

Fonte: Schaeffer & Mendenhall (1990)

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (CEP/CCS/UFES), em 06 de junho de 2016 sob o CAAE número 52830216.5.0000.5060, aprovado pelo Parecer número 1.574.160. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Análise estatística

A análise descritiva foi realizada para caracterização da amostra, a partir da apresentação das variáveis como médias, desvios-padrão, frequências e proporções. O teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov foi usado para avaliar a normalidade das variáveis quantitativas. Para a análise de regressão de Poisson, a variável de intensidade dor foi categorizada dicotomicamente para leve e moderada/intensa. Considerou-se o resultado de porcentagem dos valores médios de metilação das CpGs 40-47 da região do gene *NR3C1* recategorizado dicotomicamente como não metilado (0%) e metilado (>0%).

A análise de regressão de Poisson com variância robusta foi utilizada para identificar os potenciais fatores preditivos da DC. Inicialmente, foi realizada a análise univariada e as variáveis com o valor de $p \leq 0,20$ foram selecionadas para compor o modelo multivariado. Em seguida, as variáveis preditivas foram inseridas no modelo multivariado, sendo adotada a estratégia de modelagem do tipo *Backward*, em que se retirou uma a uma das variáveis com maior valor de p, até se chegar no modelo final reduzido, em que todas as variáveis que permaneceram apresentaram $p \leq 0,05$. O teste de Hosmer & Lemeshow foi usado para verificar o ajuste do modelo final.

As análises estatísticas foram realizadas no *software* *Stata*[®], versão 14.1 (StataCorp[®] LP, College Station, Texas, EUA) e *SPSS*[®], versão 20.0 (IBM, Munique, Baviera, Alemanha).

RESULTADOS

Considerando os indicadores selecionados e estudados, foi observado que a maior parte dos participantes apresentaram DC e,

Tabela 1. Caracterização da amostra.

Fatores	% (n)	Valor de p	IRR (95% IC)
BPI ≥ 4	63,7 (123)		
Sexo			
Feminino	79,9 (223)	1	
Masculino	20,1 (56)	≤ 0,296	1,25 (0,82 – 1,90)
Idade (anos)			
20 a 40	42,6 (119)	1	
41 a 59	57,4 (160)	≤ 0,001*	1,03 (1,01 – 1,05)
Renda per capita			
Baixa renda	41,2 (115)	1	
Não baixa renda	58,8 (164)	≤ 0,015*	0,77 (0,63 – 0,95)
Escolaridade			
< 9 anos de estudo	82,1 (229)	1	
> 9 anos de estudo	17,9 (50)	≤ 0,007*	0,64 (0,46 – 0,89)
Filhos			
Tem filhos	79,9 (223)	1	
Não tem filhos	20,1 (56)	≤ 0,028*	1,76 (1,06 – 2,91)
Relato de comorbidades			
Não	66,7 (186)	1	
Sim	33,3 (93)	≤ 0,005*	1,54 (1,14 – 2,10)
Estresse e ansiedade autorreferidos			
Não	33,7 (94)	1	
Sim	66,3 (185)	≤ 0,463	1,15 (0,79 – 1,70)
Como avalia sua saúde			
Satisfatória	54,5 (152)	1	
Insatisfatória	45,5 (127)	≤ 0,051*	1,37 (1,00 – 1,87)
Segurança alimentar e nutricional			
Não	45,2 (126)	1	
Sim	54,8 (153)	≤ 0,011*	1,50 (1,10 – 2,04)
Excesso de peso			
Não	35,1 (98)	1	
Sim	64,9 (181)	≤ 0,141*	1,01 (0,99 – 1,04)
Consumo semanal de álcool			
Menos de duas doses	82,1 (229)	1	
Mais de duas doses	17,9 (50)	≤ 0,071*	1,85 (0,95 – 3,63)
Fuma atualmente			
Não	90,1 (253)	1	
Sim	9,9 (26)	≤ 0,124*	1,40 (0,91 – 2,17)
Uso de fármaco contínuo			
Não	45,9 (128)	1	
Sim	54,1 (151)	≤ 0,001*	1,39 (1,16 – 1,66)
Prática de atividade física			
Não	62 (173)	1	
Sim	38 (106)	≤ 0,002*	1,30 (1,10 – 1,53)
Nível baixo de cortisol			
Não	88,9 (248)	1	2,26e-09
Sim	11,1 (31)	≤ 0,001*	(1,00e-09 – 5,12e-09)
Depressão			
Não	84,2 (235)	1	
Sim	15,8 (44)	≤ 0,437	1,15 (0,81 – 1,63)
Metilação CpG42			
Não	60,2 (230)	1	
Sim	39,8 (49)	≤ 0,001*	0,00 (0,00 – 0,01)

BPI = Inventário Breve da Dor; IRR = razão de incidência; IC = intervalo de confiança.

destes, a maioria relatou dor de intensidade moderada/intensa. Dentre os pacientes com dor, a maior parte dos participantes eram mulheres, se encontravam na faixa etária acima de 40 anos, renda *per capita* média, menor escolaridade, com filhos, sem relato de uma ou mais comorbidades, apresentava estresse e ansiedade autorreferidos, avaliou sua saúde de forma satisfatória, apresentou segurança alimentar e nutricional, apresentou excesso de peso, consumia menos de duas doses de bebida alcoólica por semana, não fuma atualmente, faz uso de fármacos contínuos, não praticam atividade física e apresentam cortisol em níveis normais, conforme pode ser observado na tabela 1.

Foi observado que 123 participantes (44,1%) apresentaram metilação da região estudada do gene *NR3C1*, conforme pode ser observado na tabela 2 e na figura 1, que apresenta dados de metilação na amostra de indivíduos com DC, além dos dados de metilação de cada área CpG do gene.

Tabela 2. Prevalência de metilação do gene *NR3C1* na amostra de indivíduos com dor crônica (total e por CpG)

Dados de Metilação	Resultado % (n)
Metilação total	
Não	55,9% (156)
Sim	44,1% (123)
Metilação por sítio CpG	
CpG40	20,3% (25)
CpG41	2,5% (3)
CpG42	39,8% (49)
CpG43	2,5% (3)
CpG44	6,5% (8)
CpG45	5,7% (7)
CpG46	18,6% (23)
CpG47	4,1% (5)

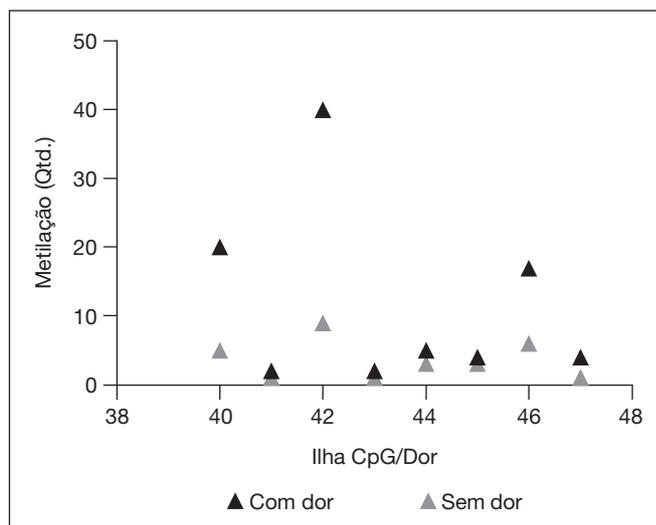


Figura 1. Relação entre metilação versus dor por ilha CpGc.

A análise através de regressão de Poisson univariada resultou na seleção das variáveis que apresentaram valor de $p \leq 0,200$, utilizadas para compor o modelo multivariado seguinte, pelo método Backward, conforme pode ser observado nas tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Variáveis associadas à intensidade de dor moderada/intensa pela análise univariada de regressão de Poisson, com variância robusta

Variáveis independentes	IRR	IC	Valor de p	
Sexo	1,25	0,82	1,90	≤ 0,296
Idade	1,03	1,01	1,05	≤ 0,001*
Renda <i>per capita</i>	0,77	0,63	0,95	≤ 0,015*
Escolaridade	0,64	0,46	0,89	≤ 0,007*
Ter filhos	1,76	1,06	2,91	≤ 0,028*
Relato de comorbidades	1,54	1,14	2,10	≤ 0,005*
Estresse e ansiedade autorreferidos	1,15	0,79	1,70	≤ 0,463
Como avalia sua saúde	1,37	1,00	1,87	≤ 0,051*
Segurança alimentar e nutricional	1,50	1,10	2,04	≤ 0,011*
Excesso de peso	1,01	0,99	1,04	≤ 0,141*
Consumo semanal de álcool	1,85	0,95	3,63	≤ 0,071*
Fuma atualmente	1,40	0,91	2,17	≤ 0,124*
Uso de fármaco contínuo	1,39	1,16	1,66	≤ 0,001*
Prática de atividade física	1,30	1,10	1,53	≤ 0,002*
Cortisol elevado	2,26e-09	1,00e-09	5,12e-09	≤ 0,001*
Depressão	1,15	0,81	1,63	≤ 0,437
CpG42	0,00	0,00	0,01	≤ 0,001*

IRR = razão de incidência; IC = intervalo de confiança.

Tabela 4. Variáveis associadas à intensidade de dor moderada/grave pela análise multivariada de regressão de Poisson, com variância robusta (modelo final reduzido).

Variáveis independentes	IRR	IC	Valor de p	
Idade	1,03	1,01	1,05	≤ 0,001
Cortisol elevado	4,64e-10	1,95e-10	1,10e-09	≤ 0,001
Metilação da CpG42	0,02	0,01	0,02	≤ 0,001

IRR = razão de incidência; IC = intervalo de confiança.

DISCUSSÃO

O presente estudo observou que aproximadamente 70% dos participantes incluídos possuem DC, sendo que, aproximadamente, 64% destes apresentaram DC de intensidade moderada/intensa. Fatores genéticos desempenham um papel importante na etiologia das condições de DC, supostamente pela modulação de processos subjacentes, como sensibilidade nociceptiva, bem-estar psicológico, inflamação e resposta autonômica e podem representar como um importante marcador de risco para dor e identificar alvos potenciais para intervenção terapêutica²⁴.

Estudo epidemiológico realizado pela Sociedade Brasileira para Estudo da Dor (SBED), em 2015, mostrou que a incidência de DC no Brasil varia de 28 a 42% nas regiões do país. Dados epidemio-

lógicos sobre DC no mundo apontam evidências de que ela tem um efeito prejudicial na saúde física, atividades de vida diária, saúde mental, condições econômicas e bem-estar²⁵.

A dor é uma situação estressante, logo, configura-se como um mecanismo potencial que pode alterar a regulação do estresse. Nesse contexto, parte da atenção dos pesquisadores é dirigida para o eixo HPA. Embora este não esteja envolvido diretamente com o manejo da dor, sabe-se que neurônios produtores de CRH inervam áreas localizadas no núcleo arqueado do hipotálamo e em áreas que controlam a dor na medula espinal e no rombencéfalo (ponte, cerebelo e bulbo). A ativação do sistema de resposta ao estresse causa secreção de peptídeos induzidos pelo CRH como também de outros peptídeos opioides, o que aumenta a analgesia²⁶.

Mecanismos moleculares epigenéticos que incluem a metilação do DNA estão implicados na modulação do eixo HPA. A metilação do gene *NR3CI* pode ser aumentada mediante situações estressantes^{20,23,27} e, dessa forma, pode estar envolvida com a dor induzida por estresse crônico. O aprofundamento do envolvimento epigenético de genes do eixo HPA na dor pode fornecer uma base para explorar os mecanismos epigenéticos que podem contribuir para a sintomatologia semelhante em diversas doenças que possuem a dor como um dos sintomas²⁸.

Pesquisas sobre epigenética também investigam possíveis biomarcadores para DC e se concentram em estudo do epigenoma, acetilação de histonas e de outros genes não relacionados ao estresse²⁹⁻³¹. Poucos estudos se concentram na avaliação de metilação em genes do eixo HPA em relação à dor, especificamente o gene *NR3CI*. Os autores³² mostraram que o estresse crônico altera a regulação do eixo HPA e aumenta a percepção de dor em ratos, por meio do aumento da metilação do *NR3CI* na região promotora do eixo 1 em neurônios nociceptivos que inervam as vísceras pélvicas. Além disso, o mRNA *NR3CI* e a proteína GR foram diminuídos. Dessa forma, os autores apoiam a interpretação de que os mecanismos reguladores epigenéticos desempenham um papel central na hiperalgesia visceral induzida por estresse crônico, afetando os neurônios nociceptivos de uma maneira específica da região.

De maneira semelhante, a revisão do estudo³³ expõe a relação entre a exposição ambiental, estresse crônico e mudanças epigenéticas. Os autores citam que o estresse crônico pode levar a alterações na metilação do DNA, inclusive do gene *NR3CI*, que desempenha um papel essencial na modulação epigenética da DC, contribuindo para sua cronicidade e intensidade.

Além disso, pacientes com fibromialgia apresentaram alterações na metilação de *NR3CI* e menor expressão mRNA de GR e MR (receptor de mineralocorticóide), e menores níveis de cortisol associados à função prejudicada no eixo HPA³⁴.

Ao contrário do que se esperava, foi encontrada relação inversa entre metilação de *NR3CI* e DC de intensidade moderada/intensa. Este resultado pode ser explicado pelo fato de que o estresse prolongado provocado pela DC pode ter levado a um estado de baixa responsividade ao estresse, como um indicador de estresse crônico, possivelmente relacionado à resposta embotada do eixo HPA³⁵.

A metilação do DNA na região promotora do *NR3CI* pode indicar a redução da transcrição gênica e da expressão do GR no sistema nervoso central e está fortemente associada ao desequilíbrio da modulação do eixo HPA e consequentemente pode indicar alterações

na responsividade ao estresse^{21,36}. Estudos anteriores se concentram na metilação de *NR3CI* em associação ao estresse crônico, como em adversidades pré-natais^{20,37}, adversidades na infância^{21,23,38}, transtornos de estresse pós-traumático^{36,39}, suicídio⁴⁰, depressão^{41,42} e outras situações de estresse prolongado⁴¹.

De fato, esse dado é confirmado pelo resultado da regressão multivariada, em que o cortisol alto também apresentou associação inversa com a DC de intensidade moderada/intensa, considerada a significância em uma relação inversa (quanto mais elevado o nível de cortisol, menor a intensidade da dor), logo, quanto menores os níveis de cortisol, maior a intensidade da dor.

De acordo com a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM), o cortisol é um corticosteroide produzido pelas glândulas adrenais, e a redução na produção do mesmo por uma insuficiência adrenal pode desencadear sintomas como hipotensão, cansaço crônico, fraqueza muscular, dor muscular e nas articulações, tonturas, dor de cabeça, náuseas, vômitos, diarreia, perda de apetite, perda de peso, escurecimento da pele e lábios⁴³.

Na literatura, estudos mostram dados controversos ao evidenciar qual nível de cortisol é predominante em pessoas com DC. Em grande parte, os estudos sugerem ou mostram uma tendência a hipocortisolismo, mas outros não mostram diferença e ainda há os que sugerem haver hipercortisolismo. Segmentos de pacientes que tiveram piora da DC no período superior a um ano evidenciam baixos níveis de cortisol com a evolução da dor, e estudos em mulheres com fibromialgia mostram correlação entre baixos níveis de cortisol, com os sintomas de dor e depressão, o que aponta para uma relação entre a variação diária da liberação de cortisol com a intensidade da sensação dolorosa^{26,44}.

Baixos níveis de cortisol ao acordar e declínio do cortisol ao longo do dia têm sido considerados preditores de fadiga, *burnout* e exaustão vital. Profissionais que trabalham em longas jornadas em diferentes turnos estão especialmente suscetíveis ao estresse e fadiga crônicos, cujas consequências, a longo prazo, incluem a dessincronização do eixo HPA e consequente adoecimento físico e mental, diminuição da capacidade para o trabalho, aumento dos acidentes ocupacionais e absentismo⁴⁵.

A intensidade de dor varia conforme fatores desencadeantes, com índices prevalentes em pacientes com acúmulo de tarefas e exigências geradoras de estresse cotidiano impactante, evidenciando múltiplos fatores associados tais como ansiedade, depressão e sofrimento emocional, histórico de abuso (físico, psicológico e sexual) e abandono, condição relacionada a estresse pós-traumático com baixa de imunidade com recorrência inflamação e infecção, compressão de nervos, tensão musculoesquelética crônica e histórico de má postura de ordem ocupacional⁴⁶.

Nesse estudo, entre os pacientes que relataram DC moderada/grave, a maioria possui mais de 40 anos. Calcula-se que, quanto maior a idade, sobretudo nos idosos (2/3), mais casos dos que sofrem de dores frequentes ou permanentes nos últimos anos de sua existência, e que a proporção da dor aumenta em até 26% com a idade. Tem aumentado a população de longevos, sendo que muitas vezes o envelhecimento populacional é um problema social diretamente relacionado com programas de saúde pública. Envelhecer faz parte do ciclo vital, sendo, portanto, inevitável. É um processo biológico em que alterações determinam mudanças estruturais e funcionais

do organismo humano, levando a diminuição de algumas funções fisiológicas, além de tornar os reflexos mais lentos, fazendo com que alguns idosos se tornem incapacitados devido à frequência de doenças crônicas, as quais precisam ser tratadas com fármacos de uso contínuo, muitos de alto custo^{47,48}.

Apesar dos progressos terapêuticos, a dor continua a ser insuficientemente tratada, sobretudo em idade mais avançada. As doenças propensas a causar dor aumentam com a idade, como reumatismo, artrose, câncer, entre outras. Pacientes com idade mais avançada também enfrentam problemas de comunicação e memória e não conseguem manifestar, de modo claro, a sua dor. Ademais, muitos acham normal sentir dor na idade avançada e não buscam ajuda²⁵. Por isso, a compreensão de mecanismos epigenéticos em várias doenças associadas à DC torna-se essencial para entendê-la, levando em conta também uma abordagem holística da dor^{3,5}.

Vale salientar que, nesse estudo, embora a variável de estresse autorreferido não tenha composto o modelo final reduzido, a mesma apresentou-se presente em 66,3% dos pacientes participantes. Assim, as relações entre dor, aspectos comportamentais, físicos e qualidade de vida na população que envelhece carecem de evidências a fim de prevenir e tratar a dor nessa faixa etária com mais eficiência, verificando-se a relação dos níveis de dores crônicas com níveis de estresse⁴⁹.

A ligação entre DC e componentes afetivos, como depressão e ansiedade, tem sido estabelecida na literatura ao longo dos anos, com estudos que relatam a presença de dor na depressão, na ansiedade e coexistência de ambas na DC. Entre os transtornos psiquiátricos, a depressão maior foi mais amplamente estudada e sua ocorrência foi mais bem estabelecida em pacientes com DC. Estudos de prevalência de comorbidades psiquiátricas associadas à DC referem em primeiro lugar os transtornos de humor, entre os quais os transtornos depressivos alcançam porcentagens entre 30% e 87% dos casos. Entre os transtornos ansiosos, que chegam a 50% dos casos, os mais frequentes são transtorno do pânico, transtorno de ansiedade generalizada e transtorno de estresse pós-traumático. Como sintoma, a ansiedade está presente em 56% dos casos⁴².

A DC afeta os aspectos físico, psicológico e social dos pacientes, além de gerar prejuízos em diferentes âmbitos da sua vida, ocasionando preocupações, sentimento de incapacidade, incertezas e medos na vida dessas pessoas. Quando a pessoa começa a apresentar grandes níveis de dores e isso se torna crônico, aos poucos esse indivíduo tende a se isolar e viver em busca de tratamentos médicos para os cuidados necessários. A partir desse novo quadro de vida, existe uma grande tendência de o sujeito minimizar suas relações sociais, afastar-se do trabalho, do âmbito familiar e de atividades geradoras de prazer, de forma que isso possa interferir na saúde mental e possivelmente se tornar um preditor do surgimento de possíveis transtornos mentais, tais como a depressão, o estresse e a ansiedade⁵⁰.

Deve-se considerar o aumento da expectativa de vida do brasileiro, já que, quanto maior a idade, há mais casos de doenças propensas a causar DC, bem como uma possível relação entre o hipocortisolismo e a evolução da dor. Todos esses achados podem subsidiar políticas de saúde pública e políticas focadas na atenção às pessoas com DC.

CONCLUSÃO

A DC de intensidade moderada/intensa foi associada à metilação do local CpG42 do gene *NR3C1*, com o aumento da idade e níveis baixos de cortisol.

Assim, os achados sugerem envolvimento epigenético na metilação do gene *NR3C1* em associação com a DC e sugerem a necessidade de se buscar novas evidências em relação aos mecanismos que explicam a DC, sobretudo do ponto de vista epigenético, pois poderão trazer subsídios para prevenção e controle da DC, visando pacientes com o perfil encontrado nesse estudo, que pode ser considerado preditivo para a ocorrência da DC.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Alexandre Lima Castelo-Branco

Coleta de Dados, Conceitualização, Gerenciamento do Projeto, Investigação, Metodologia, Redação - Preparação do original, Visualização

Tamires dos Santos Vieira

Redação - Revisão e Edição

Flávia Vitorino Freitas

Análise estatística, Redação - Revisão e Edição

Júlia Assis Pinheiro

Investigação

Iuri Drumond Louro

Redação - Revisão e Edição, Supervisão

Adriana Maria Álvares-da-Silva

Aquisição de financiamento, Gerenciamento do Projeto, Redação - Revisão e Edição, Supervisão

REFERÊNCIAS

- Srinavasa NR, Carr DB, Cohen M, Finnerup NB, Flor H, Gibson S, Keefe FJ, Mogil JS, Ringkamp M, Sluka KA, Song XJ, Stevens B, Sullivan MD, Tutelman PR, Ushida T, Vader K. Definição revisada de dor pela Associação Internacional para o Estudo da Dor: conceitos, desafios e compromissos. *J Dor*. 2020;74:11-8.
- Cipriano A, Almeida DB, Váll J. Perfil do paciente com dor crônica atendido em um ambulatório de dor de uma grande cidade do sul do Brasil. *Rev Dor*. 2011;12(4):297-300.
- Knaap LJ, Riese H, Hudziak JJ, Verbiest MMPJ, Verhulst FC, Oldehinkel AJ, Oort FVA. Glucocorticoid receptor gene (*NR3C1*) methylation following stressful events between birth and adolescence. *The TRAILS study. Transl Psychiatry* 3014;4(4):1-7.
- Livshits G, Malkin I, Freidin MB, Xia Y, Gao F, Wang J, Spector TD, MacGregor A, Bell JT, Williams FMK. Genome-wide methylation analysis of a large population sample shows neurological pathways involvement in chronic widespread musculoskeletal pain. *Pain*. 2017;158(6):1053-62.
- Carrillo C, Toro M, Bolivar M, Seijas ME, Rotondo J. La epigenética en el tratamiento del dolor. *Rev Soc Esp Dolor*. 2018;25(3):166-9.
- Schmidt AP, Schimdt SRG. Behavior of ion channels controlled by electric potential difference and of Toll-type receptors in neuropathic pain pathophysiology. *Rev Dor* 2016;17(1):43-45.
- HabiB AM, Matasuyama A, Okorokov AL, Santana-Varela S, Bras JT, Aloisi AM, Emery EC, Bogdanov YD, Follenfant M, Gossage SJ, Gras M, Humphrey J, Kolesnikov A, Cann KL, Li S, Minnett MS, Pereira V, Ponsolles C, Sikandar S, Torres JM, Yamaoka K, Zhao J, Komine Y, Yamamori T, Maniatis N, Panov KI, Houlden H, Ramirez JD, Bennett DLH, Marsili S, Bachiocco V, Wood JN, Cox JJ. A novel human pain insensitivity disorder caused by a point mutation in *ZFH2*. *Brain* 2018;141(2):365-76.
- Matsuda JB, Barbosa FR, Morel LJE, França SC, Zingaretti SM, Silva LM, Pereira AMS, Marins M, Fachin AL. Polimorfismos dos genes do receptor de serotonina (5-HT2A) e da catechol-O-metiltransferase (COMT): Fatores desencadeantes da fibromialgia? *Rev Bras Reumatol*. 2010;50(2):141-9.
- Siamatras TD, Stratakis CA. NR3C1 (nuclear receptor subfamily 3, group C, member 1/glucocorticoid receptor). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology e Haematology*. National Institute of Child Health and Development Human (NI-CHFD). 2017.
- von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. STROBE initiative. The strengthening the reporting of observational studies in epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol*. 2008;61(4):344-9.
- Cleeland CS. The Brief Pain Inventory User Guide. University of Texas, 2009. Disponível em: https://www.mdanderson.org/documents/Departments-and-Divisions/Symptom-Research/BPI_UserGuide.pdf
- WHO – World Health Organization. Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. WHO. 2000.
- Pérez-Escamilla R, Segall-Corrêa AM. Food insecurity measurement and indicators. *Rev Nutr*. 2008; 21(Suppl):15s-26s.
- Segall-Corrêa AM, Marin-Leon L. A Segurança Alimentar no Brasil: Proposição e Usos da Escala Brasileira de Medida da Insegurança Alimentar (EBIA) de 2003 a 2009. *Segurança Alimentar e Nutricional*. 2009;16(2):1-19.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério do Planejamento. Orçamento e Gestão. Pesquisa de Orçamentos Familiares – POF 2008/2009. Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, Adolescentes e Adultos no Brasil. 2009. 130p.
- 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. *Braz J Psychiatry*. 2012;34(4):389-94.
- Jackson-Koku G. Beck Depression Inventory. *Occ Med*. 2016;66(2):174-5.
- Conti CL, Borçoi AR, Almança CCJ, Barbosa WM, Archanjo AB, Pinheiro JA, Freitas FV, Oliveira DR, Cardoso LD, Paula H, Álvares-da-Silva AM. Factors associated with depressive symptoms among rural residents from remote areas. *Community Ment Health J*. 2020; 56(7):1292-7.
- Salazar LA, Hirata MH, Cavalli SA, Machado MO, Hirata RD. Optimized procedure for DNA isolation from fresh and cryopreserved clotted human blood useful in clinical molecular testing. *Clin Chem*. 1998;44(8 Pt 1):1748-50.
- Oberlander TF, Weinberg J, Papsdorf M, Grunau R, Misri S, Devlin AM. Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (*NR3C1*) and infant cortisol stress responses. *Epigenetics*. 2008;3(2):97-106.
- Bustamante AC, Aiello AE, Galea S, Ratanatharathorn A, Noronha C, Wildman DE, Uddin M. Glucocorticoid receptor DNA methylation, childhood maltreatment and major depression. *J Affect Disord*. 2016;206:181-8.
- Palma-Gudiel H, Córdova-Palomera A, Leza JC, Fañanás L. Glucocorticoid receptor gene (*NR3C1*) methylation processes as mediators of early adversity in stress-related disorders causality: a critical review. *Neurosci Biobehav Rev*. 2015;55:520-35.
- McGowan PO, Sasaki A, D'Alessio AC, Dymov S, Labonté B, Szyf M, Turecki G, Meaney MJ. Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nat Neurosci*. 2009;12(11):342-8.
- Smith SB, Maixner DW, Greenspan JD, Dubner R, Fillingim RB, Ohrbach R, Knott C, Slade GD, Bair E, Gibson DG, Zaikin DV, Weir BS, Maixner W, Diatchenko L. Potential genetic risk factors for chronic TMD: Genetic associations from the OPPE-RA case control study. *J Pain* 2011;12(1):92-101.
- SBED – Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor (SBED). Campanha Nacional pelo Tratamento e Controle da Dor Aguda e Crônica. São Paulo: SBED, 2018. Disponível em: <https://sbed.org.br/wp-content/uploads/2019/01/CAMPANHA-NACIONAL-PELO-TRATAMENTO-E-CONTROLE-DA-DOR-AGUDA-E-CR%C3%94NICA-3-MB.pdf>
- Nascimento IS, Miziara CSMG. Disfunção do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal na dor crônica generalizada: uma análise da literatura com enfoque pericial. *Saúde, Ética & Justiça*. 2015;20(1):29-36.
- Daskalakis NP, Yehuda R. Site-specific methylation changes in the glucocorticoid receptor exon 1F promoter in relation to life adversity: systematic review of contributing factors. *Front Neurosci*. 2014;8:369.
- Tran L, Chaloner A, Sawalha AH, Greenwood Van-Meerveld B. Importance of epigenetic mechanisms in visceral pain induced by chronic water avoidance stress. *Psychoneuroendocrinology*. 2013;38(6):898-906.
- Massart R, Dymov S, Millescamp M, Suderman M, Gregoire S, Koenigs K, Alvarado S, Tajerian M, Stone LS, Szyf M. Overlapping signatures of chronic pain in the DNA methylation landscape of prefrontal cortex and peripheral T cells. *Sci Rep*. 2016;28;6:19615.
- Denk F, McMahon SB. Chronic pain: emerging evidence for the involvement of epigenetics. *Neuron*. 2012;73(3):435-44.
- Liang L, Lutz BM, Bekker A, Tao YX. Epigenetic regulation of chronic pain. *Epigenomics* 2015;7(2):235-45.
- Hong S, Zheng G, Wiley JW. Epigenetic regulation of genes that modulate chronic stress-induced visceral pain in the peripheral nervous system. *Gastroenterology*. 2015;148(1):148-57.
- Aroke EN, Joseph PV, Roy A, Overstreet DS, Tollefsbol TO, Vance DE, Goodin BR. Could epigenetics help explain racial disparities in chronic pain? *J Pain Res*. 2019;12(1):701-10.
- Macedo JA, Hesse J, Turner JD, Meyer J, Hellhammer DH, Muller CP. Glucocorticoid sensitivity in fibromyalgia patients: Decreased expression of corticosteroid receptors and glucocorticoid-induced leucine zipper. *Psychoneuroendocrinology*. 2008;33(6):799-809.
- Freitas FV, Barbosa WM, Silva LAA, Garozi MJO, Pinheiro JA, Borçoi AR, Conti CL, Arpini JK, de Paula H, de Oliveira MM, Archanjo AB, de Freitas ÉAS, de Oliveira DR, Borloti EB, Louro ID, Álvares-da-Silva AM. Psychosocial stress and central adiposity: a Brazilian study with a representative sample of the public health system users. *PLoS One*. 2018;13(7):e0197699.

36. Perroud N, Rutembesa E, Paoloni-Giacobino A, Mutabaruka J, Mutesa L, Stenz L, Malafosse A, Karege F. The Tutsi genocide and transgenerational transmission of maternal stress: epigenetics and biology of the HPA axis. *World J Biol Psychiatry*. 2014;15(4):334-45.
37. Braithwaite EC, Kundakovic M, Ramchandani PG, Murphy SE, Champagne FA. Maternal prenatal depressive symptoms predict infant NR3C1 1F and BDNF IV DNA methylation. *Epigenetics*. 2015;10(5):408-17.
38. Weaver ICG, Cervoni N, Champagne FA, D'Alessio AC, Sharma S, Seckl JR, Dymov S, Szyf M, Meaney MJ. Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci*. 2004;7(1):847-54.
39. Perroud N, Paoloni-Giacobino A, Prada P, Olié E, Salzmann A, Nicastro R, Guillaume S, Mouthon D, Stouder C, Dieben K, Huguélet P, Courtet P, Malafosse A. Increased methylation of glucocorticoid receptor gene (*NR3C1*) in adults with a history of childhood maltreatment: a link with the severity and type of trauma. *Transl Psychiatry*. 2011;1(12):e59.
40. Labonté B, Yerko V, Gross J, Mechawar N, Meaney MJ, Szyf M, Turecki G. Differential glucocorticoid receptor exon 1(B), 1(C), and 1(H) expression and methylation in suicide completers with a history of childhood abuse. *Biol Psychiatry*. 2012;72(1):41-8.
41. Borçoi AR, Mendes SO, Moreno IAA, Santos JG, Freitas FV, Pinheiro JA, Oliveira MM, Barbosa WM, Arpini JK, Archanjo AB, Hollais AW, Couto CVMS, David CVC, Quaioto BR, Sorroche BP, Louro ID, Arantes LMRB, Álvares-da-Silva AM. Food and nutritional insecurity is associated with depressive symptoms mediated by *NR3C1* gene promoter 1F methylation. *Stress*. 2021;24(6):814-21.
42. Pinheiro RC, Uchida RR, Mathias LAST, Perez MV, Cordeiro Q. Prevalência de sintomas depressivos e ansiosos em pacientes com dor crônica. *J Bras Psiquiatr*. 2014;63(3):213-9.
43. SBEM – Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. Nota de Esclarecimento sobre “Fadiga Adrenal”. SBEM Nacional, 2017. Disponível em: https://www.endocrino.org.br/media/uploads/fadiga_adrenal_-_sbem_2016_-_final.pdf.
44. Ribeiro SS, Motta EAP. Associação entre a síndrome de Burnout e o hormônio cortisol. *Rev Ciênc Saúde*. 2014;16(2):87-93.
45. Assis DC, Resende DV, Marziale MHP. Associação entre turnos de trabalho, níveis de cortisol salivar, estresse e fadiga em enfermeiros: revisão integrativa. *Esc Anna Nery*. 2018;22(1):1-7.
46. Igantti C. Resultados parciais da aplicação de toque terapêutico em portadores de dores crônicas. *Braz J Heart*. 2018;1(1):193-200.
47. Ferretti F, Castanha AC, Padoan ER, Lutinski J, Silva MR. Quality of life in the elderly with and without chronic pain. *BrJP*. 2018;1(2):111-5.
48. Willemann JR, Marques FR, Portugal MEG, Souza SJP, Weigert SP, Piemonte MR. Análise da qualidade de vida em idosos com dor crônica. *Gestão e Saúde*. 2016;14(2):20-7.
49. Silva Sobrinho AC, Almeida ML, Rodrigues GS, Bueno Júnior CR. Associação de dor crônica com força, níveis de estresse, sono e qualidade de vida em mulheres acima de 50 anos. *Fisioter Pesqui*. 2019;26(2):170-7.
50. Messias CR, Cunha FA, Cremasco GS, Baptist MN. Dor crônica, depressão, saúde geral e suporte social em pacientes fibromiálgicos e oncológicos. *Psicol Saúde*. 2020;12(4):41-51.