

Dor crónica musculoesquelética: papel das purinas como biomarcadores de diagnóstico e severidade da dor miofascial associada à fibromialgia

M

Autor: Mariana da Cunha Pereira Ribeiro

Orientador: Professor Doutor Paulo Correia de Sá, MD, PhD

Laboratório de Farmacologia e Neurobiologia

Center for Drug Discovery and Innovative Medicines (MedInUP)

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar- Universidade do Porto

2024





Agradecimentos

Agradeço....

....ao meu orientador Professor Paulo Correia de Sá pela confiança, por toda a orientação e por todos os ensinamentos nesta área que ainda tem tanto para descobrir!

.....à Professora Carina Herman de Sousa por todo o apoio e ajuda, tendo sido um dos pilares na realização de todas as etapas deste trabalho.

.....ao Professor Manuel Quartilho por me permitir estudar as doentes seguidas na sua Consulta de Doenças Psicossomáticas do CHUC assim como ao Professor Marco Sampaio na Unidade de Sangue do CHUdSA.

.....Por último, a todas as doentes não só pelo seu contributo físico como pelo seu tempo nas entrevistas

.....A todos os que me apoiaram na realização deste trabalho.

Obrigada!

Financiamento

Este trabalho foi parcialmente financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia através dos seguintes projetos: UIDB/04308/2020 e UIDP/04308/2020. A Agência financiadora não teve qualquer papel no desenho do estudo, colheita e análise dos dados, preparação do manuscrito e, eventual, decisão de publicação.

Resumo

A fibromialgia (FM) é uma doença extremamente incapacitante que afeta pelo menos 2% da população mundial com idades compreendidas entre os 20 e os 50 anos. A FM manifesta-se através de dor e hipersensibilidade cutânea, muscular e articular generalizada, fadiga, dificuldades de concentração, insónia, depressão/ansiedade, cefaleias e sintomas típicos de disfunção do sistema nervoso autónomo. O diagnóstico de FM é desafiante devido à falta de exames laboratoriais específicos e à sobreposição de sintomas com outros quadros clínicos. Na ausência de dados clínicos objetivos, a avaliação da severidade da doença e da resposta ao tratamento constituem grandes obstáculos ao controlo da dor crónica resistente em cuidados paliativos. Neste contexto, a pesquisa de novos biomarcadores com valor diagnóstico e/ou prognóstico pode ser de grande importância clínica para a avaliação da dor miofascial associada à FM. Estudos recentes sugerem que a adenosina, o produto final do catabolismo extracelular do ATP, pode estar envolvida na fisiopatologia da dor miofascial associada à FM.

Neste trabalho quantificaram-se os níveis séricos de adenosina e de adenosina desaminase (ADA) em mulheres com FM para avaliar a possibilidade destas determinações constituírem marcadores fidedignos de diagnóstico e prognóstico desta doença. Foram analisadas amostras de sangue de 27 mulheres caucasianas com FM (média de 59,4 anos; intervalo de 40 a 70) e 26 controlos do mesmo género e idade (dadoras de sangue). Os tubos de colheita de todas as amostras de sangue continham uma solução de bloqueio (STOP) constituída por dipiridamol, EHNA e EDTA e foram congelados imediatamente em azoto líquido para prevenir a inativação da adenosina. Os níveis de ADO e de ADA séricas foram quantificados por RP-HPLC-DAD e ELISA, respetivamente. Todas as mulheres do grupo FM foram submetidas às entrevistas individualizadas para colheita da história clínica, incluindo dados sobre a progressão da sintomatologia, tratamentos farmacológicos e não farmacológicos. Durante a entrevista foram aplicados questionários específicos de avaliação da FM. O Questionário de Impacto da Fibromialgia autoadministrado (pontuação FIQ; 100 pontos) foi utilizado em conjunto com outras escalas para avaliar a atividade funcional, as perturbações psiquiátricas e a sintomatologia dolorosa.

As doentes com FM apresentavam dor generalizada com uma duração média de 16 ± 12 anos associada a um score FIQ de 60 ± 15 (escala 0-100). As mulheres com FM apresentavam Índices de Dor Generalizada (WPI) e pontuações na Escala de Gravidade dos Sintomas (SS) de 10 ± 3 e 9 ± 2 , respetivamente. Os níveis séricos de ADO encontravam-se mais elevados ($P < 0,05$) nas mulheres com FM ($3,49 \pm 0,48 \mu\text{M}$) comparativamente com o grupo controlo ($1,94 \pm 0,27 \mu\text{M}$). O soro das doentes com FM continha níveis de ADA mais reduzidos ($505,4 \pm 72,2 \text{ pg/ml}$; $P < 0,05$) que os do grupo controlo ($732,1 \pm 135,3 \text{ pg /ml}$). As curvas ROC (Receiver Operating Characteristics) obtidas mostram que os níveis séricos de ADO ($\text{AUC} = 0,77$; $\text{IC } 95\% = 0,60-0,93$; $P < 0,05$) e de ADA ($\text{AUC} = 0,73$; $\text{IC } 95\% = 0,55-0,92$; $P < 0,05$) podem ser considerados biomarcadores FM sensíveis e específicos de doença ligeira (FIQ: 23-40) a moderada (FIQ: 40-63).

Em conclusão, este trabalho mostra pela primeira vez que a elevação da concentração sérica de ADO e/ou a redução dos níveis de ADA podem ser considerados no diagnóstico clínico como biomarcadores sensíveis e específicos de FM em mulheres com sintomatologia leve a moderada (associação com o questionário FIQ) face a uma população controlo saudável.

Abstract

Fibromyalgia (FM) is an extremely disabling disease that affects at least 2% of the world's population aged between 20 and 50 years. FM manifests itself through generalized skin, muscle and joint pain and hypersensitivity, fatigue, attention deficits, insomnia, depression/anxiety, headache and symptoms of autonomic nervous system dysfunction. The diagnosis of FM is challenging due to the lack of specific laboratory tests and to the overlap of symptoms with other clinical conditions. In the absence of objective clinical data, the assessment of disease severity and response to treatment are major hurdles to the management of resistant chronic pain in palliative care. In this context, the search for new biomarkers with diagnostic and/or prognostic value may be of great clinical importance for the evaluation of myofascial pain associated with FM. Recent studies suggest that adenosine, the product of extracellular ATP catabolism, may be involved in the pathophysiology of myofascial pain associated with FM.

In this work, we measured the serum levels of adenosine and adenosine deaminase (ADA) in women with FM to evaluate the possibility of these determinations constituting reliable markers for the diagnosis and prognosis of this disease. We analyzed blood samples from 27 Caucasian women with FM (mean 59.4 years; range 40 to 70) and 26 age- and gender-matched controls (blood donors). Collection tubes for all blood samples contained a blocking (STOP) solution comprising dipyrindamole, EHNA, and EDTA, which were immediately frozen in liquid nitrogen to prevent inactivation of adenosine. We used RP-HPLC-DAD and ELISA to quantify ADO and ADA levels in the serum, respectively. All women in the FM group underwent individualized interviews to collect the clinical history, including data on the progression of symptoms, pharmacological and non-pharmacological treatments. During the interview, specific FM assessment questionnaires were administered. The self-administered Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ score; 100 points) was used in conjunction with other scales to assess functional activity, psychiatric disorders, and pain symptomatology.

□

Patients with FM presented widespread pain with a mean duration of 16 ± 12 years associated with an FIQ score of 60 ± 15 (scale 0-100). Women with FM had Generalized Pain Indexes (WPI) and Symptom Severity Scale (SS) scores of 10 ± 3 and 9 ± 2 , respectively. Serum ADO levels were significantly ($P < 0.05$) higher in women with FM ($3.49 \pm 0.48 \mu\text{M}$) compared to those of the control group ($1.94 \pm 0.27 \mu\text{M}$). □ The serum of FM patients contained lower ADA amounts ($505.4 \pm 72.2 \text{ pg/ml}$; $P < 0.05$) than those of the control group ($732.1 \pm 135.3 \text{ pg/ml}$). The obtained ROC (Receiver Operating Characteristics) curves demonstrate that serum levels of ADO ($\text{AUC} = 0.77$; $95\% \text{ CI} = 0.60-0.93$; $P < 0.05$) and ADA ($\text{AUC} = 0.73$; $95\% \text{ CI} = 0.55-0.92$; $P < 0.05$) can be considered sensitive and specific FM biomarkers of mild (FIQ: 23-40) to moderate (FIQ: 40-63) disease.

In conclusion, this work shows for the first time that the increase in serum ADO concentration and/or the reduction in ADA levels are sensitive and specific clinical biomarkers of FM in women with mild to moderate symptoms (vide FIQ questionnaire) compared to a healthy control population.

Índice de figuras e tabelas

Tabela 1: Características demográficas e clínicas dos indivíduos com FM.....	14
Tabela 2: Características dos indivíduos com FM incluídos no estudo	15
Figura 1: Distribuição dos indivíduos com Fibromialgia conforme a Escala FIQ (Fibromyalgia Impact Questionnaire)	16
Tabela 3: Sintomas associados a FM.....	16
Figura 2: Frequência dos sintomas relatados pelos indivíduos com FM.....	18
Tabela 4: Tratamento farmacológico.....	19
Figura 3: Tratamentos não farmacológicos complementares adotados pelos indivíduos com fibromialgia	22
Figura 4: Concentração sérica de adenosina em pacientes com fibromialgia e em controles saudáveis: A) Comparação entre a concentração sérica de adenosina (μM) em pacientes com fibromialgia ($n=27$) e em controles saudáveis ($n=19$). B) Eficiência na extração da adenosina em pacientes com fibromialgia e em controles saudáveis (% de área do padrão interno) através do método RP-HPLC-DAD. $*P<0,05$ e $**P<0,01$ foram considerados estatisticamente significativos.....	23
Figura 5: Concentração plasmática da desaminase da adenosina (ADA) em pacientes com fibromialgia e em controles saudáveis: Comparação entre a concentração sérica da ADA (U/L) em pacientes com fibromialgia ($n=27$) e em controles saudáveis ($n=26$). $*P<0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.....	23
Figura 6: (A) Representação da curva ROC para a quantificação de adenosina sérica CTRL, $n=19$; FM, $n=27$ (B) Representação da curva ROC para a quantificação de adenosina sérica em CTRL, $n=19$; e FM, $n=14$ estratificados pela Escala FIQ como tendo a doença ligeira e moderada (C) Representação da curva ROC para a quantificação de adenosina desaminase sérica CTRL, $n=26$ e FM, $n=19$ considerando o “cut-off” $\leq 71,30$ (D) Representação da curva ROC para a quantificação de adenosina desaminase sérica em CTRL, $n=26$; e FM, $n=8$ estratificados pela Escala FIQ como tendo a doença grave e muito grave....	25
Figura 7 (A) Representação da curva ROC para a quantificação de adenosina CTRL, $n=19$; FM Escala FIQ grave e muito grave, $n=13$ (B). Representação da curva ROC para a quantificação de adenosina desaminase CTRL, $n=26$; FM Escala FIQ ligeira e moderada, $n=11$	26



Agradecimentos	1
Financiamento	2
Resumo.....	3
Índice de Figuras e tabelas	5
1. Introdução.....	8
2. Estado da arte	9
3. Metodologia.....	11
a) Desenho do estudo	11
b) População do estudo.....	11
c) Colheita e processamento das amostras de sangue	12
d) Quantificação da adenosina plasmática por RP-HPLC-DAD	12
e) Quantificação da desaminase da adenosina (ADA)	13
f) Apresentação dos dados e análise estatística	13
g) Considerações éticas	13
4. Resultados	13
a) Características demográficas e clínicas dos doentes com fibromialgia	13
b) Sintomas associados à Fibromialgia	16
c) Tratamento Farmacológico	18
d) Tratamento não farmacológico.....	21
e) Níveis plasmáticos de adenosina (ADO) e da desaminase da adenosina (ADA).....	22
f) Curvas ROC	24
5. Discussão	26
6. Conclusão.....	30
7. Referências	31

1. Introdução

A fibromialgia (FM) é uma doença extremamente incapacitante que afeta pelo menos 2% da população mundial com idades compreendidas entre os 20 e os 50 anos. As mulheres são 9 vezes mais atingidas que os homens (Costa, 2005). Esta doença manifesta-se através de dor e hipersensibilidade cutânea, muscular e articular generalizada, fadiga, dificuldades de concentração, insónia, depressão/ansiedade, cefaleias e sintomas típicos de disfunção do sistema nervoso autónomo (como intestino irritável, bexiga hiperativa e dificuldades na regulação da temperatura corporal). Estudos recentes mostram que as dores difusas podem ter origem nos tecidos moles (tecido celular subcutâneo, músculos, tendões, ligamentos) sem, contudo, haver uma relação direta com patologias osteoarticulares específicas.

Diversas teorias apontam para uma relação entre a dor crónica e alterações na atividade microglial, designadamente na libertação de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α . Para além das funções conhecidas na sinalização intercelular (e.g. neurotransmissão), a adenosina trifosfato (ATP) é libertada em grandes quantidades e exerce funções autócrinas e/ou parácrinas nas células gliais ativadas (e.g. micróglia) durante processos inflamatórios ou outros causadores de dano celular no Sistema Nervoso Central (SNC). A resposta da microglia ao ATP está aumentada em doentes com fibromialgia, facto que por si só pode promover o aumento da libertação de TNF- α e a resposta inflamatória do SNC (Ohgidani et al., 2017). A disfunção mitocondrial tem sido outro dos aspetos relacionados com a fisiopatologia da FM. A deficiente capacidade de produção de ATP pelas mitocôndrias limita a capacidade de resposta das células a situações de stresse, favorece a produção de ATP por vias menos eficazes independentes do O₂ e o seu catabolismo em adenosina, e potencia fenómenos de stresse oxidativo. A hipoxia celular promove a transcrição de genes dependentes do HIF-1 (hypoxia-inducible factor-1) aumentando a síntese de enzimas da via glicolítica, de fatores angiogénicos e de outras proteínas (e.g. ectonucleotidases, transportadores de nucleótidos/nucleósidos, purinocetores) relacionadas com a sinalização purinérgica.

Estudos recentes demonstraram que a adenosina, o produto final do catabolismo extracelular do ATP, pode estar envolvida na fisiopatologia da dor miofascial associada à FM (Herman-de-Sousa et al., 2020). Em situações fisiológicas, a adenosina através da ativação de recetores A_{2A} controla a vasodilatação local e a reparação do tecido celular subcutâneo, prevenindo a excitabilidade nervosa sensível por ação direta em recetores neuronais do subtipo A₁. Porém, este equilíbrio altera-se drasticamente durante fenómenos de isquemia, inflamação e/ou deformação persistente do tecido celular subcutâneo que podem estar na base da FM. Estes fenómenos promovem o recrutamento de células inflamatórias expressando a desaminase da adenosina (ADA) na membrana plasmática, que contribui para a redução dos níveis extracelulares de adenosina e, conseqüente, formação do seu metabolito, inosina. O resultado final traduz-se num aumento da excitabilidade neuronal, formação de neovasos e aumento da fibrose subcutânea. Estes fatores estão muitas vezes associados ao aparecimento de dores de natureza miofascial de difícil tratamento pelos métodos habituais.

A ausência de biomarcadores para o diagnóstico da FM representa um desafio tanto para os pacientes

quanto para os profissionais de saúde. O diagnóstico pode levar anos a ser estabelecido, e envolve em média 3,7 consultas com médicos distintos (Macfarlane et al., 2017). Os critérios mais frequentemente utilizados para o diagnóstico de FM foram estabelecidos pelo *American College of Rheumatology* (ACR) em 1990 e atualizados em 2010. De acordo com esses critérios, o diagnóstico de FM é baseado em sintomas, tais como dor generalizada por mais de três meses e sensibilidade aumentada em pelo menos 11 dos 18 pontos específicos do corpo conhecidos como "pontos de gatilho". Além disso, outros sintomas frequentemente associados à FM, como fadiga, distúrbios do sono e dificuldades cognitivas, também são considerados. Mais recentemente, os critérios AAPT foram propostos através de uma parceria entre a *Analgesic, Anesthetic, and Addiction Clinical Trial Translations Innovations Opportunities and Networks* (ACTTION), a *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA e a *American Pain Society* (APS). Os critérios AAPT incluem cinco dimensões: critérios diagnósticos essenciais, características comuns, comorbidades médicas comuns, consequências neurobiológicas, psicossociais e funcionais, e mecanismos neurobiológicos e psicossociais putativos, fatores de risco e fatores de proteção (Arnold et al., 2019).

A avaliação da severidade e da resposta ao tratamento da dor através do uso de biomarcadores é outro desafio para o manejo da dor crônica resistente em cuidados paliativos. Neste contexto, a pesquisa de novos biomarcadores com valor diagnóstico e/ou prognóstico reveste-se de importância clínica considerável na avaliação da dor miofascial associada à FM, dada a inexistência de alternativas viáveis que empurram estes doentes frequentemente para consultas de doenças psicossomáticas. Desconhece-se, no entanto, se o doseamento dos níveis séricos de purinas (ATP, adenosina e inosina) e/ou das enzimas relacionadas com o seu metabolismo extracelular (e.g. ADA), pode ser usado como biomarcador no diagnóstico e avaliação terapêutica da FM, tal como foi proposto para outras patologias tal como para a bexiga hiperativa idiopática em mulheres ou em homens com hiperplasia benigna da próstata (Silva-Ramos et al., 2016; Silva-Ramos et al., 2013).

2. Estado da arte

Na avaliação da FM e segundo o estudo de revisão dos critérios diagnósticos 2010/2011 comparativamente aos critérios de 1990 da *American College of Rheumatology* (Wolfe et al., 2016), a FM pode ser diagnosticada em adultos que obedeçam aos seguintes critérios: dor generalizada, pelo menos em 4 a 5 regiões; sintomas presentes pelo menos durante 3 meses, utilização de questionários nomeadamente o índice de dor generalizada (*Widespread Pain Index*) ≥ 7 e com pontuação da gravidade dos sintomas (*symptom severity score*) ≥ 5 , ou índice de dor generalizada (*widespread pain index*) $\geq 4-6$ e com pontuação da gravidade dos sintomas (*symptom severity scale*) ≥ 9 .

Além disso e também de acordo com a Norma de Orientação Clínica da Direção Geral de Saúde, é importante realizar avaliação analítica para o diagnóstico diferencial, como hemograma, doseamento de proteína C reativa, velocidade de sedimentação, hormona estimulante da tireóide, cálcio sérico e creatina fosfoquinase (Circular Normativa 017/2016- atualizada a 13/07/2017-

Abordagem Diagnóstica da Fibromialgia- DGS). A abordagem terapêutica para o tratamento de doentes com FM deve ser integrada através de intervenções multidisciplinares. Até à data, não existe uma solução farmacológica clara para tratar a FM, embora os antidepressivos e os opióides sejam habitualmente utilizados. Por conseguinte, a descoberta de novos alvos farmacológicos e de biomarcadores eficazes é crítica para a gestão correta da FM, incluindo da gravidade da dor e dos sintomas associados.

Primeiro é importante definir o conceito de biomarcador. Segundo o “*National Institute of Health – NIH*”, biomarcadores são definidos como “as características que podem ser medidas objetivamente e avaliadas como um indicador de processos normais ou patológicos ou resposta farmacológica a uma intervenção terapêutica” (Hackshaw, 2021).

A cascata de sinalização purinérgica é, de longe, mais pleiotrópica do que qualquer outro sistema neurotransmissor/neuromodulador conhecido, uma vez que os seus mecanismos de sinalização dependem da presença de vários subtipos de recetores purinérgicos e de níveis extracelulares críticos de purinas, que, em última análise, dependem das suas vias de libertação e do seu metabolismo por ecto-nucleotidases ligadas à membrana plasmática (Burnstock, 2014). O sistema purinérgico envolve a adenosina e o ATP como principais fatores endógenos, atuando nos recetores P1 e P2, respetivamente. O ATP foi a primeira hipótese explícita de iniciar a sinalização nociceptiva por meio da ativação de recetores purinérgicos em terminais nervosos sensoriais já há quase 30 anos revisto em (Muñoz et al., 2021). Desde então, estudos têm usado abordagens farmacológicas para delinear o papel específico do subtipo de recetores purinérgicos em diversas etiologias da dor (Burnstock, 2017).

É do conhecimento comum que a adenosina está envolvida em múltiplos efeitos biológicos, incluindo a modulação da dor em locais periféricos e centrais (Giorgi et al., 2022). A adenosina regula o processo da dor na medula espinal e na periferia e apresenta efeitos complexos na dor, sendo pró- ou antinociceptiva, dependendo do local de administração e do subtipo de recetor ativado. Evidências crescentes indicam que os níveis de adenosina extracelular aumentam dramaticamente em tecidos submetidos a condições de stress, como isquemia, hipóxia e inflamação. Assim, o aumento da produção de adenosina em resposta a estímulos stressantes pode ter um papel modulador duplo na homeostase dos tecidos (Burnstock, 2018).

Embora a adenosina atue primeiro como uma molécula de alarme que comunica lesões às células circundantes para desencadear respostas protetoras, a acumulação persistente de adenosina pode conduzir a respostas desadequadas dos órgãos, como se observa na inflamação crónica, na fibrose e/ou na cicatrização tardia (Herman-de-Sousa et al., 2020). Além disso, a adenosina promove a fibrose em vários órgãos através de diferentes mecanismos associados a padrões distintos de expressão e ativação dos recetores de adenosina (Cronstein, 2011). Durante a dor, os fibroblastos, os neurónios e as células do sistema imunitário medeiam a libertação de ATP para ativar os recetores purinérgicos nos terminais sensoriais e a subsequente transmissão de sinais nociceptivos para a medula espinal e o cérebro. Os dados sugerem que, durante diferentes estados de dor, os canais de conexina e de pannexina podem servir de condutas críticas para a

libertação de ATP, bem como de outras moléculas pró-inflamatórias e para o progresso da fibrose (Herman-de-Sousa et al., 2022; Muñoz et al., 2021).

Apesar de estudos anteriores terem demonstrado uma baixa concentração sérica de adenosina em pacientes com FM (Fais et al., 2013; Guieu et al., 2012), a determinação precisa das concentrações circulantes de adenosina em amostras de sangue é um desafio devido à sua rápida formação e depuração deste nucleósido no sangue. Para o doseamento dos níveis endógenos de adenosina é necessário a utilização de soluções de bloqueio da sua inativação rápida no tubo de ensaio (por desaminação e captação celular - soluções “STOP”), sem as quais não é possível aferir com precisão os seus níveis endógenos (Löfgren et al., 2018). Ora essa prática não tem sido habitual nos trabalhos já publicados.

Neste contexto, resolvemos investigar se as concentrações séricas da adenosina e a atividade da enzima responsável pela inativação extracelular da adenosina, ADA, avaliadas com as precauções metodológicas referidas acima, podem ser usadas como biomarcadores para o diagnóstico e acompanhamento de pacientes com FM. O esclarecimento do papel da sinalização purinérgica na remodelação da fáscia subcutânea humana pode, também, ajudar a propor novas abordagens terapêuticas para o tratamento da FM.

3. Metodologia

a) Desenho do estudo

Foi conduzido um estudo clínico sem intervenção com pacientes diagnosticados com fibromialgia (FM). O objetivo principal foi identificar um biomarcador para o diagnóstico, avaliação da severidade e monitorização da FM com base nas alterações observadas na cascata de sinalização purinérgica destes pacientes.

b) População do estudo

Pacientes do sexo feminino previamente diagnosticadas com FM (através dos critérios da *American College of Rheumatology*) foram recrutadas, por conveniência, na Consulta de Doenças Psicossomáticas do Serviço de Psiquiatria do Centro Hospitalar Universitário de Coimbra (CHUC), no período compreendido entre abril e outubro de 2022. Após consentimento informado, estas doentes foram entrevistadas utilizando as escalas WPI (*Widespread Pain Index*), escala SS (*Somatic Symptoms Scale*) assim como a escala VAS (*Visual Analogue Scale*) validadas para português de Portugal (DGS-Norma nº 017/2016 de 27/12/2016). Durante a consulta foram ainda recolhidos dados demográficos, características da doença, curso da doença, e tratamentos anteriores (farmacológicos e não farmacológicos).

A população de controlo saudável, ajustada para o sexo e idade, foi constituída por conveniência a partir de doadores voluntários de sangue do Centro Hospitalar Universitário de Santo António Porto,

sem doenças infecciosas ativas, doenças autoimunes, doenças inflamatórias e gravidez ativa, que aceitaram participar no estudo, após obtenção do consentimento informado. As colheitas foram feitas de janeiro a fevereiro de 2023.

c) Colheita e processamento das amostras de sangue

O procedimento usado para a colheita das amostras de sangue das doentes com FM e dos respetivos controlos (dadores de sangue) foi o mesmo. Foi colhido de cada doente e controlo um volume de 4 mL de sangue total, que foi imediatamente transferido para um tubo com uma solução de bloqueio (“STOP”) contendo um inibidor da recaptção de adenosina (dipiridamol), um inibidor da desaminação de adenosina (eritro -9-(2-hidroxi-3- nonil)adenina, EHNA) e um inibidor do catabolismo extracelular de nucleotídeos de adenina (ácido etileno-diamino-tetra-acético, EDTA) (Löfgren et al., 2018). As amostras foram centrifugadas (5.000 rpm durante 10 min). Após a centrifugação, 450 µL de plasma foram coletados em tubos de *Eppendorf* e congelados em azoto líquido. O plasma foi armazenado a -80 °C até à sua utilização. Foram armazenadas apenas amostras de plasma em que não tenha ocorrido hemólise eritrocitária, comprovada paralelamente por níveis indetetáveis de hemoglobina.

d) Quantificação da adenosina plasmática por RP-HPLC-DAD

Os níveis plasmáticos de adenosina em doentes com FM e nos controlos saudáveis (dadores de sangue) foram determinados por RP-HPLC-DAD. Após descongelação, as amostras de plasma (450 µL) foram suplementadas com 50 µL de uma solução de 2' -cloroadenosina (CADO) para atingir uma concentração final de 2 µM. A adição sistemática deste análogo sintético da ADO permite avaliar a eficácia da extração dos nucleósidos e aferir/normalizar a concentração final destes compostos nas amostras individuais analisadas. Subsequentemente, o plasma foi desproteínizado por ultrafiltração (Amicon® Ultra Filters - 0,5 mL, 50K) através de centrifugação (14 000 g x 30 min a 4 °C). O filtrado foi liofilizado (Telstar® Lyophilizer; Cryodos) para concentrar a amostra. O resíduo seco obtido foi reconstituído com 150 µL de água ultrapura imediatamente antes de ser analisado por RP-HPLC-DAD. A quantificação da ADO em cada amostra de plasma foi efetuada utilizando o método do padrão interno. A identificação cromatográfica da ADO nas amostras de plasma foi confirmada tendo em conta vários parâmetros: (i) o seu tempo de retenção (tR), quando comparado com o tRpadrão da ADO; (ii) o seu espectro de absorção no UV, quando comparado com o espectro padrão da ADO; (iii) a adição de sobrecargas padrão de ADO aos extratos plasmáticos a injetar e verificação da sua co-eluição com picos de ADO endógena, traduzindo um aumento do pico de ADO; (iv) pelo desaparecimento do pico de ADO obtido nos cromatogramas e pela formação de inosina após a adição de ADA (1,2 U/mL, durante 2h à temperatura ambiente).

e) Quantificação da desaminase da adenosina (ADA)

Tendo em conta que a solução de bloqueio (“STOP”) para medição do conteúdo de adenosina plasmático continha um inibidor da desaminação de adenosina (EHNA), foi impossível quantificar a atividade enzimática da ADA nas amostras recolhidas através de um procedimento de rotina laboratorial. Neste contexto, os níveis plasmáticos de ADA foram determinados em paralelo com o doseamento dos níveis de adenosina nas amostras das doentes com FM e respetivos controlos através de um ensaio colorimétrico ELISA (Human ADA ELISA 96 TESTS-EHRB Invitrogen) por intermédio de um leitor de microplacas (Synergy HT, BioTek Instruments, Winooski, VT, EUA). O kit Human ADA ELISA é um ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) em sanduíche de fase sólida concebido para quantificar o nível de ADA humana em sobrenadantes de culturas celulares, plasma e soro. O ensaio de ELISA foi efetuado de acordo com as instruções do fabricante.

f) Apresentação dos dados e análise estatística

Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão de um número n de indivíduos. A análise estatística foi realizada usando o software Graph Pad Prism 9.1.0 (La Jolla, CA, EUA). O teste de Kolmogorov-Smirnov foi usado para verificar a normalidade da distribuição dos dados; valores de $P < 0,05$ indicam que os dados passaram no teste de normalidade. As diferenças na quantificação do nucleósido adenosina e da enzima ADA nas participantes controlo e em doentes com diagnóstico de FM foi determinada através do *Teste T* para amostras não emparelhadas.

g) Considerações éticas

O estudo e todos os seus procedimentos foram aprovados pelos Comitês de Ética do Centro Hospitalar Universitário de Coimbra (Referência nº26/CES de 28.01.2022, processo nº OBS.SF.195-2021), Centro Hospitalar Universitário do Porto (Processo 2023.032(024-DEFI/025-CE)) e do Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Porto. Todos os pacientes assinaram um consentimento informado aprovado pelos respetivos Comitês de Ética para uso do material biológico. A investigação obedeceu aos princípios descritos no Código de Ética da Associação Médica Mundial (Declaração de Helsink).

4. Resultados

a) Características demográficas e clínicas dos doentes com fibromialgia

As principais características demográficas e clínicas dos indivíduos com FM incluídos neste estudo estão resumidas na Tabela 1. Os dados detalhados por indivíduo estão disponíveis em material suplementar (Tabela S1). Foram incluídas no estudo 27 mulheres diagnosticadas com FM com uma média de idade de 59,4 anos (intervalo de 40-70 anos). O índice de massa corporal médio foi de $27,3 \pm 5,6\%$. A média de duração da dor foi de $16,4 \pm 11,8$ anos. A intensidade média da dor, avaliada pela Escala Analógica da Dor (VAS, max 10) foi de $7,2 \pm 2,06$.

O Questionário FIQ revelou uma média de $59,6 \pm 15,0$ numa escala de 0 a 80 pontos. Embora se verificasse uma ampla dispersão de valores, 48,15% das pacientes foram classificadas nas categorias grave ou muito grave, indicando um impacto significativo da FM na saúde e na capacidade funcional dessa população (Figura 1).

Fibromialgia (n=27)	Número ou Média (% ou DP)
Indivíduos incluídos (sexo feminino)	27 (100%)
Idade (anos)	59,4 (7.2)
IMC	27,3 (5.6%)
Menopausa	22 (81.5%)
História Médica	
Duração da dor (ano, media $\pm$ DP)	16,4 (11.8)
Escala de dor (VAS) (media $\pm$ DP)	7,2 (2.06)
Escala FIQ total (0–80) (media $\pm$ DP)	59,6 (15.0)

Tabela 1: Características demográficas e clínicas dos indivíduos com FM

FIQ FM impact questionnaire, BMI body mass index, VAS visual analog scale

Material Suplementar:

Amostra FM	Idade (anos)	Dor (Duração em anos)	IMC (m ² /kg)	Menopausa	Escala FIQ total	Escala VAS total
1	60	50	35,7	Sim	86,5	7
2	62	45	18,81	Sim	57,6	8
3	55	25	30,41	Sim	74	8
4	59	49	17,57	Sim	75,2	10
5	53	23	28,96	Sim	60,8	8
6	57	8	32,8	Sim	41,7	2
7	65	30	36,33	Sim	78,5	8
8	46	8	39,78	Não	65,5	6
9	57	17	25,71	Sim	41,5	8
10	60	45	18,94	Sim	64	10
11	63	7	32	Sim	61,67	6-7
12	61	15	25,06	Sim	72,3	7-8
13	58	36	19,05	Sim	32,2	7-8
14	60	8	23,92	Sim	45,3	10
15	49	35	25,96	Não	82,8	6-7
16	64	45	20,44	Sim	57,3	6-7
17	70	6	26,22	Sim	65,7	8
18	51	14	24,24	Não	56,8	6-7
19	67	7.5	28,44	Sim	48,3	8-9
20	48	15	29,72	Não	66,5	8-9
21	60	11	26,5	Sim	74,5	8
22	52	3	26,32	Sim	39,7	8
23	40	8	35	Não	35,2	4
24	59	10	26,47	Sim	66,7	9
25	69	30	28,13	Sim	37	7
26	68	38	24,84	Sim	51,3	8-9
27	64	10	32,46	Sim	71,7	5-6

(FM=fibromialgia; IMC= índice de massa corporal; FIQ= impact questionnaire; VAS=visual analogue scale)

Tabela 2: Caraterísticas dos indivíduos com Fibromialgia incluídos no estudo

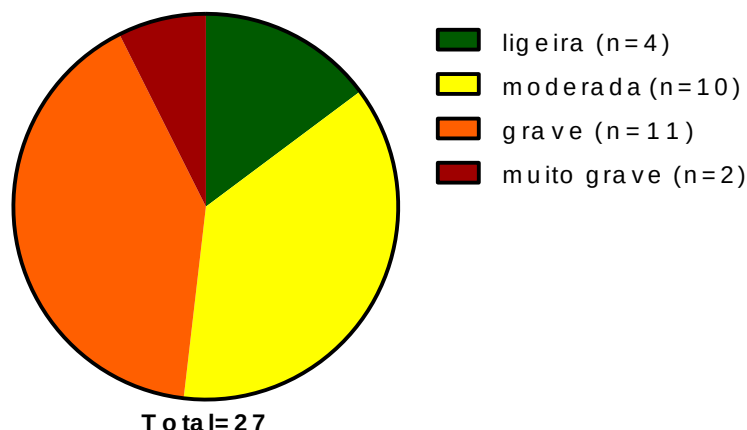


Figura 1: Distribuição dos indivíduos com Fibromialgia conforme a Escala FIQ (Fibromyalgia Impact Questionnaire)

b) Sintomas associados à Fibromialgia

A frequência com que os sintomas de FM foram relatados nas doentes incluídas neste estudo está demonstrada na Tabela 3. Os sintomas mais comuns neste estudo foram os seguintes: dor generalizada (88%), dor neuropática e parestesias (62%), fadiga física/mental (59%), ansiedade (48%), depressão (37%), insónia (29%), dor abdominal ou síndrome do intestino irritável (29%), enxaqueca ou cefaleia (25%), dificuldades de concentração/déficits de memória (22%), rigidez (22%), irritabilidade (18%) e instabilidade autonómica (18%). Estes resultados destacam a diversidade e a complexidade das perturbações clínicas associadas à FM, abrangendo uma variedade de sintomas físicos, emocionais e cognitivos (ver a Figura 2)

Perturbações Clínicas Associadas a FM (n=27)	Número (%)
Dor	
Dor generalizada (cabeça aos pés)	24 (88%)
Dor neuropática, parestesias	17 (62%)
Fadiga	
Física/Mental	16 (59%)
Distúrbios do sono	
Insónia	8 (29%)

Sintomas Psiquiátricos	
Ansiedade	13 (48%)
Depressão	10 (37%)
Irritabilidade	5 (18%)
Perturbação stress pós-traumático	1 (3%)
Disfunções cognitivas	
Dificuldades na Concentração/Déficits de memória	6 (22%)
Distúrbios Autonómicos	
Instabilidade	5 (18%)
Xerostomia	3 (11%)
Síndrome dor regional	
Dor Abdominal ou síndrome do intestino irritável	8 (29%)
Enxaqueca ou cefaleia	7 (25%)
Disúria	1 (3%)
Hipersensibilidade a estímulos externos	
Hipersensibilidade a odores	1 (3%)
Outros	
Rigidez	6 (22%)
Edema	3 (11%)

Tabela 3: Sintomas associados à fibromialgia

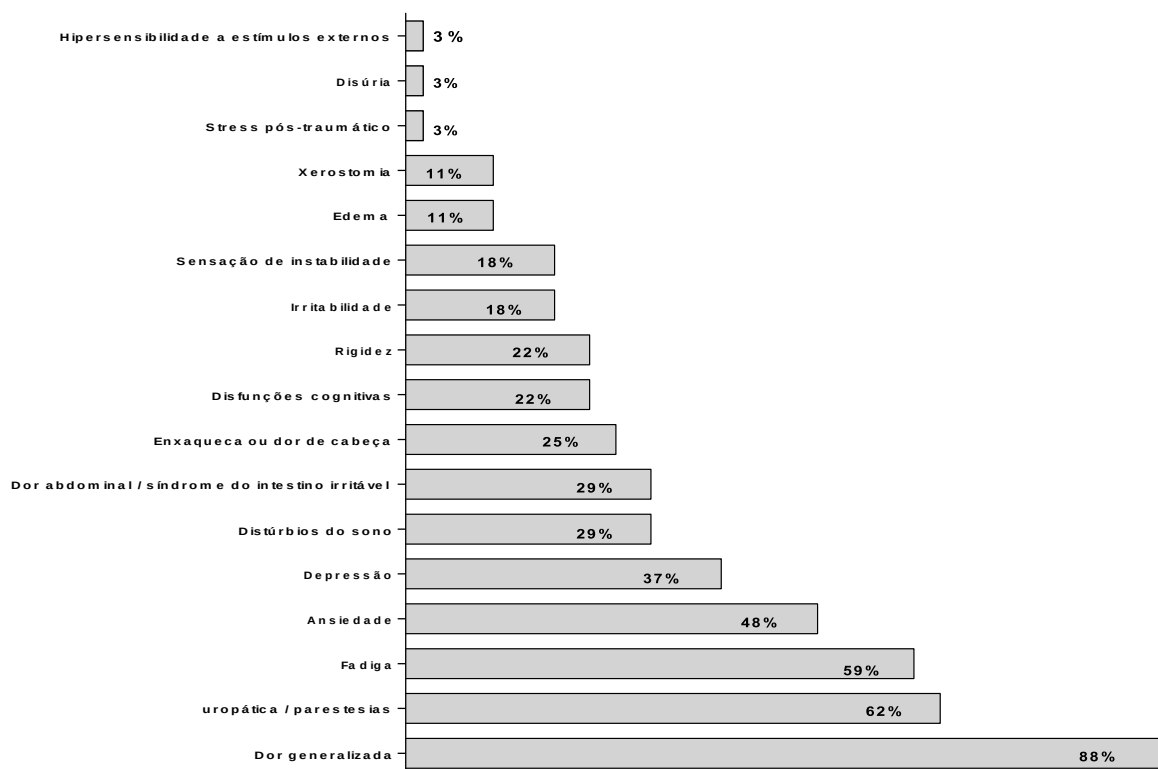


Figura 2: Frequência dos sintomas relatados pelos indivíduos com fibromialgia

c) Tratamento Farmacológico

A Tabela 4 apresenta os fármacos adotados pela população de estudo para o tratamento dos sintomas relacionados com a FM de acordo com a sua classe farmacológica, mecanismo de ação e frequência de utilização. Os antidepressivos são os fármacos mais frequentemente usados por esta população de doentes. De entre estes, o antidepressivo de 3ª geração, duloxetine (29%), foi o mais utilizado atendendo à sua especificidade como inibidor da recaptação de serotonina comparativamente com a noradrenalina e dopamina (IN SRS), reduzido efeito sedativo e anti-muscarínico. Seguidamente encontram-se os inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS), fluoxetine (22%) e sertralina (18%). Também os anticonvulsivantes com atividade analgésica, como a pregabalina (inibidor de canais de Ca^{2+} sensíveis à voltagem contendo subunidades $\alpha 2\delta$), e o ansiolítico, diazepam, foram utilizados numa parcela significativa dos pacientes (18%). Como analgésicos, as preferências recaíram sobre associação entre o tramadol e o paracetamol (29%), seguida do anti-inflamatório não-esteróides, ibuprofeno (22%), e do paracetamol usado isoladamente (11%). Outras classes terapêuticas, como os anti-inflamatórios não-esteróides (dextroprofeno, sulfasalazina), os relaxantes musculares (ciclobenzaprina), os fármacos antipsicóticos (quetiapina, melperona), os opióides (buprenorfina, tapentadol), os corticosteróides (prednisolona) e os inibidores da fosfodiesterase (pentoxifilina), foram também utilizados, embora em menor proporção. A diversidade de grupos farmacológicos usados nestes doentes reflete uma abordagem multifacetada no tratamento da FM visando controlar a sintomatologia e melhorar a qualidade de vida dos pacientes, podendo as frequências de utilização dos fármacos refletidas nesta

listagem estar enviesadas considerando que todas as doentes foram recrutadas, por conveniência, na **Consulta de Doenças Psicossomáticas do Serviço de Psiquiatria do CHUC**.

Fármaco	Classe do fármaco	Número (%)
Antidepressivos		
Duloxetina	Antidepressivo de 3ª geração – Inibidor preferencial da recaptação da serotonina >noradrenalina (INSRS)	8 (29%)
Fluoxetina	Inibidor seletivo da recaptação da serotonina (ISRS)	6 (22%)
Sertralina	Inibidor seletivo da recaptação da serotonina (ISRS)	5 (18%)
Trazodona	Antidepressivo de 2ª geração (atípico) - Antagonista potente dos recetores 5-HT _{2A} da serotonina e α_1 adrenérgicos, fraco inibidor da recaptação de serotonina, e fraco antagonista ou agonista inverso dos recetores H ₁ da histamina.	4 (14%)
Venlafaxina	Antidepressivo de 3ª geração – Inibidor preferencial da recaptação da serotonina >noradrenalina	3 (11%)
Bupropion	Antidepressivo de 2ª geração - Inibidor da recaptação da noradrenalina/dopamina (IRND)	2 (7%)
Amitriptilina	Antidepressivo tricíclico	1 (3%)
Ansiolíticos		
Diazepam	Benzodiazepina	5 (18%)
Alprazolam	Benzodiazepina	2 (7%)

Lorazepam	Benzodiazepina	1 (3%)
Loflazepato de etilo	Benzodiazepina	1 (3%)
Clonazepam	Benzodiazepina	1 (3%)
Anticonvulsivantes		
Pregabalina	Análogo do GABA; Inibidor de canais de Ca^{2+} sensíveis à voltagem com subunidades $\alpha_2\delta$.	5 (18%)
Topiramato	Inibe a anidrase carbonica II e IV, potencia a atividade dos recetores GABA-A, bloqueia as subunidades alfa dos canais de sódio e comporta-se como antagonista dos recetores ionotrópicos do glutamato (AMPA e cainato)	1 (3%)
Gabapentina	Análogo do GABA; Inibidor de canais de Ca^{2+} sensíveis à voltagem com subunidades $\alpha_2\delta$.	1 (3%)
Fármacos Antipsicóticos		
Quetiapina	Fármaco antipsicótico atípico – ativação de recetores 5-HT ₂ e inibidor da libertação de DA	2 (7%)
Melperona	Fármaco antipsicótico atípico – Atividade antagonista nos recetores dopaminérgicos D ₂ e serotoninérgicos 5HT _{2A}	1 (3%)
Relaxantes musculares		
Ciclobenzaprina	Relaxante muscular de ação central com estrutura semelhante aos antidepressivos tricíclicos	5 (18%)

Fármacos analgésicos		
Tramadol + Paracetamol	Opióide fraco e SNRI+ Fármaco analgésico e antipirético	8 (29%)
Paracetamol	Fármaco analgésico e antipirético	3 (11%)
Fármacos Anti-inflamatórios		
Ibuprofeno	Anti-inflamatório não-esteróide	6 (22%)
Dextoprofeno	Anti-inflamatório não-esteróide	1 (3%)
Sulfasalazina	Anti-inflamatório não-esteróide	1 (3%)
Prednisolona	Glucocorticóides	1 (3%)
Opióides		
Tapentadol	Agonista do recetor mu-opioide (MOR)/ inibidor da recaptação da noradrenalina	4 (14%)
Tramadol	Opioide fraco e SNRI	2 (7%)
Buprenorfina	Agonista Parcial dos recetores opióides	1 (3%)
Inibidores fosfodiesterase		
Pentoxifilina	Inibidor da PDE	1 (3%)

Tabela 4: Tratamento farmacológico

d) Tratamento não farmacológico

Abordagens terapêuticas complementares podem ser integradas num plano de tratamento abrangente para ajudar a gerir os sintomas e melhorar a qualidade de vida dos pacientes com FM. Os tratamentos não farmacológicos utilizados pelo grupo de indivíduos com FM nesse estudo incluíram a acupuntura (40,74%), medicina física de reabilitação - MFR (40,74%), hidroginástica (29,6), osteopatia (11%), yoga (3%), “pilates” (3%) e musicoterapia (3%) (Figura 3).

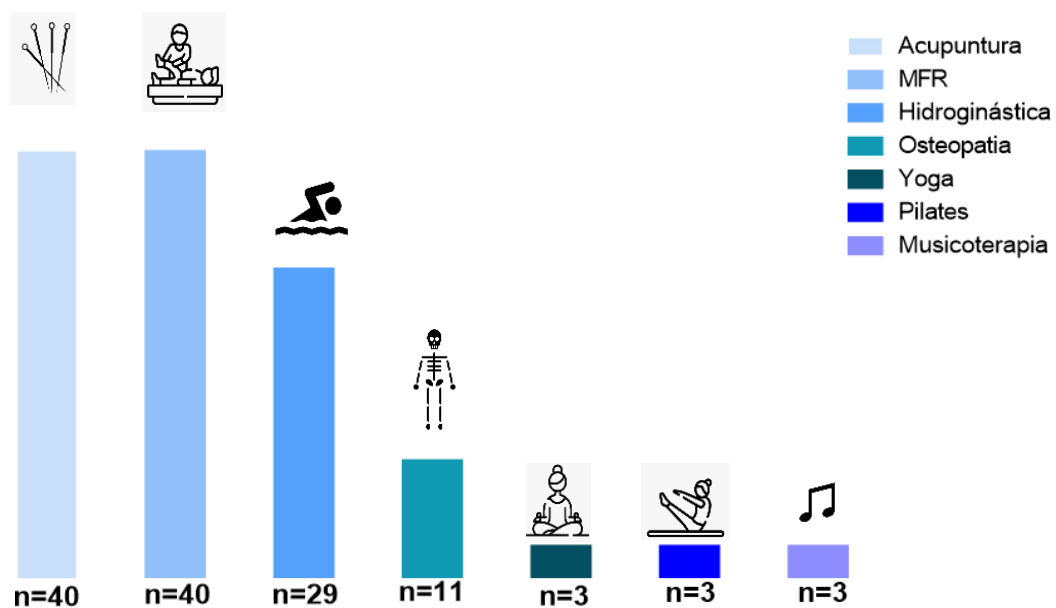


Figura 3: Tratamentos não farmacológicos complementares adotados pelos indivíduos com fibromialgia

e) Níveis plasmáticos de adenosina (ADO) e da desaminase da adenosina (ADA)

A Figura 4 A mostra que os níveis séricos da adenosina são significativamente ($P < 0.05$) maiores em mulheres com FM ($3,49 \pm 0,48 \mu\text{M}$; $n=27$) do que nos controlos saudáveis ($1,94 \pm 0,27 \mu\text{M}$; $n=19$). Nesta série, a eficiência de extração da adenosina prévia ao doseamento por RP-HPLC-DAD foi idêntica para os dois grupos, tal como se pode observar na Figura 4B. Apesar de se ter verificado uma diminuição dos níveis de ADA no plasma das doentes com FM ($50,54 \pm 7,22 \text{ pg/ml}$; $n=28$) comparativamente com o grupo controlo ($73,21 \pm 13,53 \text{ pg/ml}$; $n=26$) (Figura 5), não parece existir uma correlação direta ($R^2=0.0075$; $P > 0.05$) entre o decréscimo dos níveis de ADA e o aumento da quantidade de adenosina nas doentes avaliadas.

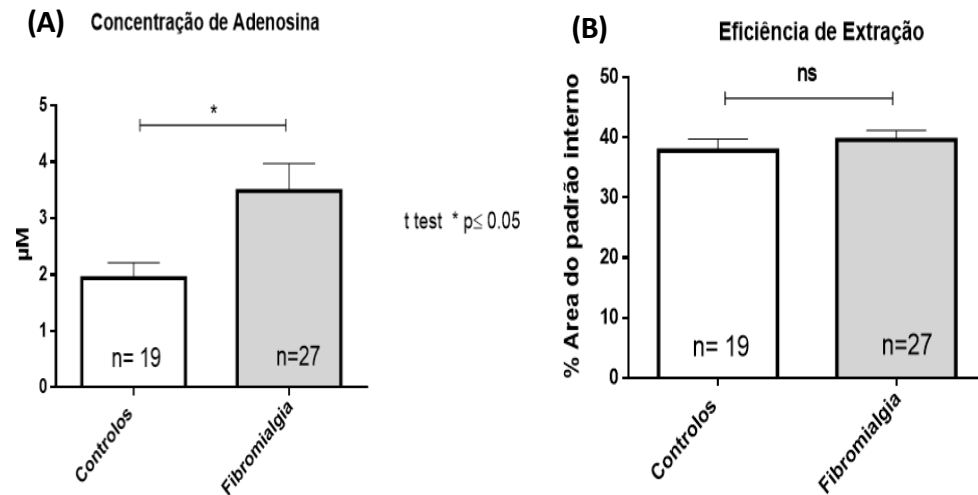


Figura 4: Concentração sérica de adenosina em pacientes com fibromialgia e em controles saudáveis: **A)** Comparação entre a concentração sérica de adenosina (μM) em pacientes com fibromialgia (n=27) e em controles saudáveis (n=19). **B)** Eficiência na extração da adenosina em pacientes com fibromialgia e em controles saudáveis (% de área do padrão interno) através do método RP-HPLC-DAD. * $P < 0,05$ e ** $P < 0,01$ foram considerados estatisticamente significativos.

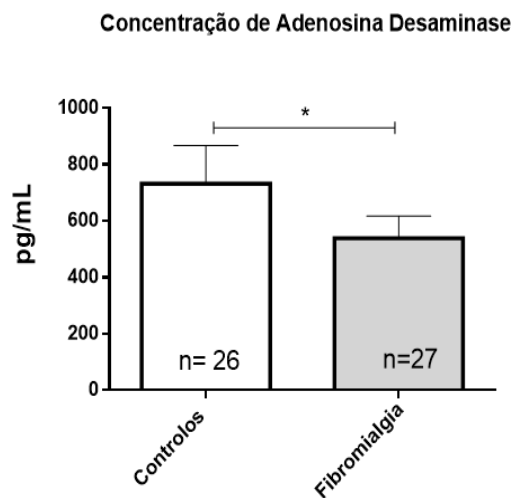


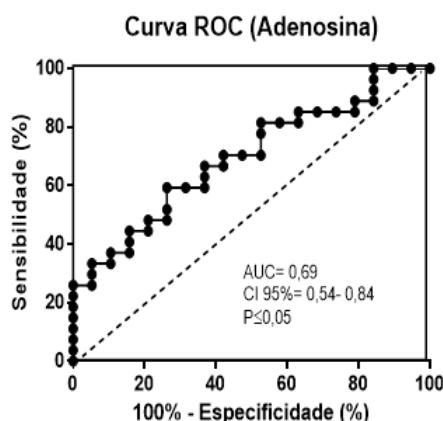
Figura 5: Concentração plasmática da desaminase da adenosina (ADA) em pacientes com fibromialgia e em controles saudáveis: Comparação entre a concentração sérica da ADA (U/L) em pacientes com fibromialgia (n=27) e em controles saudáveis (n=26). * $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

f) Curvas ROC

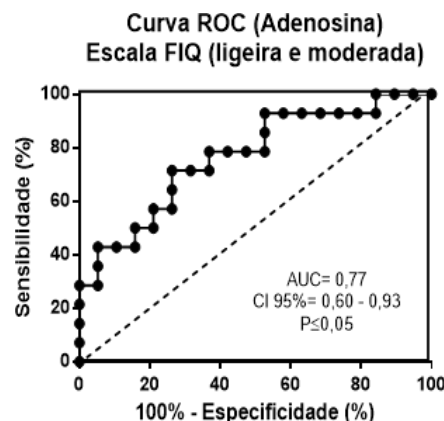
A curva ROC (*Receiver Operating Characteristics*) é frequentemente usada na investigação médica na detecção de sinais para representar a comparação entre as taxas de acerto e as taxas de falsos positivos dos descritores (Egan, 1975). Uma área sob a curva (AUC; *area under the ROC curve*) superior a 0,7 determina uma sensibilidade elevada dos parâmetros que se pretendem avaliar (Lu et al., 2010). Recorrendo a esta análise será possível aferir se a concentração plasmática de adenosina é um bom indicador de diagnóstico da FM. Os resultados globais obtidos (usando 19 Controlos e 27 doentes com FM,) mostram que a adenosina pode ser considerada como um possível biomarcador de diagnóstico para FM (AUC=0,70; CI 95%=0,54-0,85; $P<0,05$) (Figura 6A). A sua significância aumenta nas pacientes com FM que apresentam doença ligeira a moderada na Escala FIQ (n=14); neste caso, a área sob a curva aumentou significativamente (AUC=0,77; CI 95%=0,60-0,93; $P<0,05$). Estes dados demonstram que a concentração plasmática de adenosina pode ser usada como biomarcador sensível na diferenciação entre doentes com FM, especialmente na população com doença ligeira a moderada comparativamente a uma população saudável (CTRL).

Considerando a curva ROC obtida englobando o doseamento da ADA plasmática em todos os doentes com FM obteve-se uma AUC=0,56 (CI 95%=0,41-0,72; $P>0,05$). No entanto, estabelecendo um ponto de corte para valores da ADA plasmática inferiores a 71.30 pg/ml, obteve-se uma AUC=0,70 (CI 95%=0,54-0,85; $P<0,05$). A mesma situação acontece quando se delimita a amostragem ao grupo de doentes com doença grave ou muito grave após a aplicação do questionário FIQ (n=8); neste caso, a curva ROC determinou os seguintes resultados: AUC=0,73; CI 95%=0,55-0,92; $P<0,05$ (Figura 6D). Estes dados sugerem que níveis plasmáticos de ADA inferiores a 71.30 pg/ml podem ser indicativos de doença grave ou muito grave.

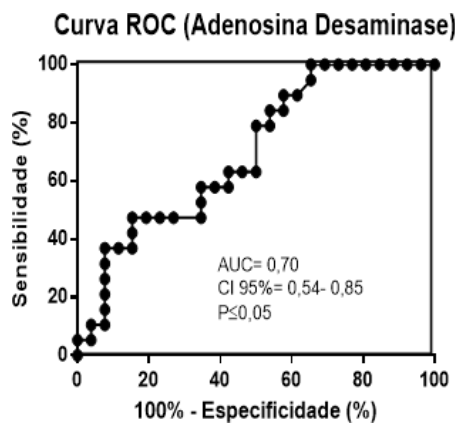
(A)



(B)



(C)



(D)

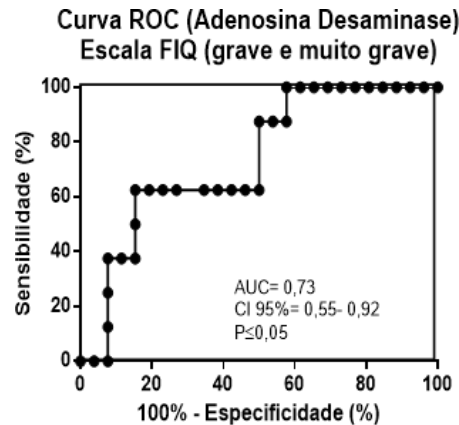
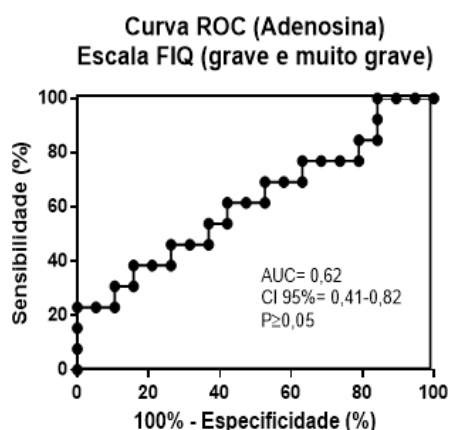


Figura 6: (A) Representação da curva ROC para a quantificação de adenosina sérica CTRL, n=19; FM, n=27 (B) Representação da curva ROC para a quantificação de adenosina sérica em CTRL, n= 19; e FM, n=14 estratificados pela Escala FIQ como tendo a doença ligeira e moderada (C) Representação da curva ROC para a quantificação de adenosina desaminase sérica CTRL, n=26 e FM, n=19 considerando o “cut-off” ≤ 71,30 (D) Representação da curva ROC para a quantificação de adenosina desaminase sérica e m CTRL, n= 26; e FM, n=8 estratificados pela Escala FIQ como tendo a doença grave e muito grave.

Quando estratificamos o grupo de doentes com FM em doença grave e muito grave utilizando o questionário FIQ (n=13), a curva ROC determinou os seguintes resultados: AUC 0,62 CI 95%= 0,41-0,62, $P \geq 0,05$ (Figura 7A), demonstrando que a quantificação da adenosina não foi capaz de distinguir o grupo controlo do grupo das doentes com FM com doença grave e muito grave. No que diz respeito às doentes com FM ligeira a moderada (n=11), a curva ROC dá-nos os seguintes resultados: AUC 0,64 CI 95%= 0,45-0,83 $P \geq 0,05$ (Figura 7B), sugerindo também que a quantificação da ADA não foi capaz de distinguir o grupo controlo do grupo das doentes com FM ligeira a moderada.

(A)



(B)

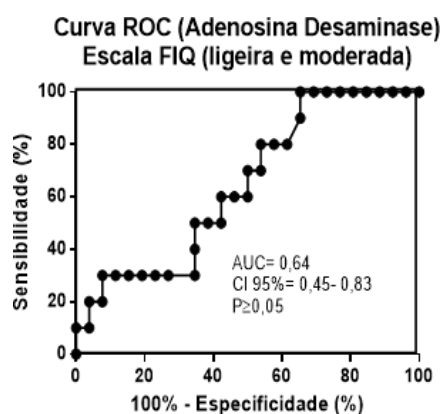


Figura 7 (A) Representação da curva ROC para a quantificação de adenosina CTRL, n=19; FM Escala FIQ grave e muito grave, n=13 **(B)**. Representação da curva ROC para a quantificação de adenosina desaminase CTRL, n=26; FM Escala FIQ ligeira e moderada, n=11.

5. Discussão

Este trabalho mostra pela primeira vez que a elevação da concentração plasmática de adenosina pode ser usada em contexto clínico como biomarcador no diagnóstico diferencial em mulheres com sintomatologia leve a moderada de FM (questionário FIQ) face à população geral não doente. Estes resultados contrariam os dados disponíveis na literatura, onde foram reportados baixos níveis séricos de adenosina em doentes com FM (Fais et al., 2013; Guieu et al., 2012), sem que estes autores tenham reproduzido detalhadamente a metodologia de colheita, extração, armazenamento e doseamento do nucleósido nos trabalhos publicados. A falta de implementação das medidas necessárias para um doseamento correto do nucleósido no plasma humano mediante o uso de soluções de bloqueio associado a padronização metodológica introduz vieses na interpretação dos resultados obtidos por diferentes grupos e pode justificar os défices no doseamento da adenosina encontrados anteriormente.

Apesar dos níveis plasmáticos de ADA se encontrarem reduzidos nesta coorte de mulheres diagnosticadas com FM comparativamente com os controlos saudáveis, esta diminuição global não se correlacionou com a elevação da concentração plasmática de adenosina, nem tão pouco os valores encontrados possuem a robustez suficiente para que este parâmetro analítico seja considerado como biomarcador no diagnóstico e seguimento dos doentes com FM. No entanto, associando a estratificação das pacientes pelos resultados do questionário FIQ, que avalia o impacto da FM na saúde e na capacidade funcional por critérios de gravidade da doença, demonstrou-se neste trabalho pela primeira vez que os valores plasmáticos de ADA podem apresentar sensibilidade e especificidade suficientes para detetar situações de doença grave e muito grave, particularmente quando estes são inferiores a 71.30 pg/ml. Estas diferenças no significado clínico do doseamento plasmático da adenosina e da ADA podem explicar-se

considerando que a redução dos níveis plasmáticos de ADA nos doentes com FM se pode dever à migração tecidual (e.g. para o tecido celular subcutâneo) das células inflamatórias circulantes cujas membranas são muito ricas nesta enzima, ao contrário do que acontece com a membrana plasmática dos fibroblastos subcutâneos humanos (ver e.g. Herman-de-Sousa et al., 2020).

Recorde-se que o recrutamento de doentes para esta coorte resultou da população de mulheres seguidas na Consulta de Doenças Psicossomáticas do Serviço de Psiquiatria do CHUC, com diagnóstico bem estabelecido de FM, que aceitaram participar no estudo após entrevista clínica presencial e aplicação das escalas WPI (*Widespread Pain Index*), SS (*Somatic Symptoms Scale*) e VAS (*Visual Analogue Scale*) validadas para português de Portugal (DGS-Norma nº 017/2016 de 27/12/2016). Neste contexto, é admissível que as idades das pacientes, que variaram entre 40 e 70 anos (média 59,4 anos), seja superior ao esperado. Primeiro, por se tratarem de mulheres com doença (dor) instalada há mais de uma década (média de 16,4±11,8 anos). Segundo, devido ao habitual atraso no diagnóstico inicial da doença, tal como realçado por Hackshaw (2021), onde se refere ser preciso decorrer em média 5 anos desde o início dos sintomas até ao diagnóstico final de FM. Esta situação reforça a necessidade de se encontrarem biomarcadores fidedignos de precocidade da doença, capazes de permitir o estabelecimento rápido do diagnóstico e, consequentemente, do tratamento adequado.

Relativamente ao questionário FIQ usado neste estudo, este foi adaptado para a realidade cultural portuguesa por Maria da Lapa Rosado, José Pascoalinho Pereira, João Pedro da Fonseca e Jaime C. Branco (Rosado M.L. et al, 2006). Trata-se de um instrumento desenvolvido para medir o estado de saúde e a capacidade funcional dos indivíduos com FM, bem como para avaliar a progressão da doença clínica e os resultados terapêuticos. O questionário aplicado é constituído por 20 perguntas agrupadas em 10 itens. O primeiro item, contém 11 sub-itens e centra-se na capacidade de o doente executar tarefas da vida diária (cozinhar, limpar, andar, mobilidade, entre outras). As respostas adotam uma escala de 0 (capaz de fazer sempre) a 3 (incapaz de fazer). O “score” obtido em cada um dos 11 sub-itens é somado; o resultado dessa soma é, posteriormente, dividido pelo número sub-itens avaliados, para se obter o resultado da capacidade funcional. Nos dois itens seguintes, solicita-se ao doente que mencione o número de dias, na semana anterior, em que se sentiu bem e aqueles em que teve necessidade de faltar ao trabalho. Os últimos sete itens referem-se à capacidade de trabalho, dor, fadiga, cansaço matinal, rigidez, ansiedade e depressão. Estes são medidos através de uma escala visual analógica (EVA) de 0 a 10 (10 cm), considerando o valor 10 a incapacidade máxima. Os valores obtidos no questionário FIQ variam de 0 (ausência de incapacidade) a 100 (impacto máximo) da FM.

Relativamente a dados relativos à menopausa, este parâmetro foi incluído neste estudo já que os sintomas parecem piorar a partir desta etapa numa percentagem significativa de mulheres. Num estudo anterior, estabeleceu-se uma comparação de 69 mulheres na fase da menopausa, todas submetidas a terapêutica hormonal de substituição (THS) durante 12 semanas, que foram divididas em 2 grupos com FM (n=32) e controlo (n=28), (Dias et al., 2023). Os autores concluíram que a THS melhora o sono e a qualidade de vida em ambos os grupos, tendo havido uma melhoria clínica significativa nos resultados do questionário FIQ nas doentes com FM, tanto no estado funcional como na gravidade dos sintomas. Neste contexto, é de realçar que 81,5% das mulheres incluídas na coorte do nosso estudo se encontravam na menopausa ou após essa ocorrência. Obviamente, a média de idades das mulheres pós-menopáusicas com FM era superior às

do grupo pré-menopáusico (61,05 vs. 46.80 anos), mas a diferença relacionada com a menopausa não se repercutiu significativamente ($P>0.05$) no resultado do questionário FIQ (59.25 vs. 61.36) nem nos níveis plasmáticos de adenosina (3.39 vs. 3.92 μM). Houve, no entanto, um aumento significativo dos níveis plasmáticos de ADA nas mulheres pós-menopáusicas (61.06 vs. 46.80 U/L), que pode contribuir para enviesar os resultados desta enzima como biomarcador de FM nesta coorte de doentes.

Tal como anteriormente reportado na revisão de Giorgi et al. (2022), as mulheres portadoras de FM têm maior prevalência de obesidade. Na nossa série, 41% das doentes diagnosticadas com FM apresentavam excesso de peso, 15% eram obesas e 15% tinham obesidade extrema. Contudo os valores de IMC calculados para as mulheres com FM não se correlacionaram com os resultados do questionário FIQ que avalia o estado de saúde e a capacidade funcional dos indivíduos com FM ($R^2=0.0305$; $P>0.05$), nem com os níveis dos potenciais biomarcadores plasmáticos, adenosina ($R^2=0.0042$; $P>0.05$) e ADA ($R^2=0.0645$; $P>0.05$). Estes dados demonstram que apesar das diferenças potencialmente encontradas no IMC entre controlos saudáveis e doentes com FM, esse parâmetro não parece interferir significativamente no uso da adenosina plasmática como biomarcador no diagnóstico de mulheres com sintomatologia leve a moderada de FM, tal como referido anteriormente.

Segundo a literatura científica (West, 2019), para além da sintomatologia dolorosa, os doentes de FM apresentam frequentemente (em cerca de 80% dos casos) outros sintomas, tais como fadiga, alterações do sono e rigidez. São ainda manifestações vulgares a enxaqueca/cefaleia de tensão (50-60%), a síndrome do intestino irritável (40%), as perturbações do humor e da cognição (20-30%) e as parestesias (20-30%). Na série de doentes recrutada para o nosso estudo, verificámos que 88% das doentes apresentava dor generalizada e que mais de metade destas referia dor com características neuropáticas. Nesta coorte, as doentes apresentavam menores percentagens de fadiga (59%) e alterações do sono (*e.g.* insónia, 29%) comparativamente com as descritas na literatura. A mesma situação se verificou no que respeita aos sintomas sugestivos da síndrome do intestino irritável (29%) e cefaleias (25%). Pode, por estas razões, questionar-se se a colheita da história clínica e a valorização da sintomatologia através do processo clínico teria sido a mais indicada no âmbito de um trabalho científico com este propósito.

Numa revisão científica realizada por Sarzi-Puttini et al. (2020), o tipo de dor, a sua localização e severidade dependem de múltiplos fatores, sendo os mais importantes a atividade física, a existência de comorbilidades (como a inflamação de baixo associada à obesidade) e as variações da temperatura ambiente. O stress mental também tem sido um fator de agravamento associado à dor. A mesma revisão adianta outros fatores de agravamento da doença, nomeadamente a presença de distúrbios genito-urinários como a urgência urinária na ausência de infeções do trato urinário, dismenorreia ou vestibulite vulvar responsáveis por dificuldades nas relações sexuais. A rigidez matinal (que habitualmente não excede 60 min) é outro sintoma frequente nos doentes com FM, que nesta coorte atingiu 22% das doentes. Os sintomas de desregulação autonómica reportados na literatura, foram também encontrados nas doentes com FM recrutadas para este trabalho; contam-se entre eles a xerostomia (presente em 11%), xeroftalmia e fotofobia. Relativamente à saúde mental, são predominantes os sintomas negativos com uma prevalência de 60% de distúrbios de ansiedade (48% nesta coorte), estando a depressão presente em 14-46% dos doentes (37% nesta coorte) comparativamente a prevalência de 6,6% em indivíduos saudáveis.

A abordagem terapêutica da FM foi recentemente revista pela EULAR (*European League Against Rheumatism*; (ver Macfarlane et al., 2017), tanto no que diz respeito ao tratamento farmacológico como não farmacológico. Os investigadores concluíram que o foco principal dever ser melhorar a qualidade de vida dos doentes e isso passa por uma abordagem primária de natureza não farmacológica. Esta recomendação foi baseada na disponibilidade, nos custos do tratamento, em questões de segurança e na preferência dos doentes. É unânime a recomendação da atividade física, particularmente pelos seus efeitos na dor, na biomecânica e bem-estar, mas também pela disponibilidade, baixo custo e relativa segurança.

Em relação à terapêutica farmacológica, recomenda-se uma avaliação individualizada de acordo com as necessidades do doente. Os fármacos (evidência fraca) devem ser considerados naqueles pacientes que apresentem dor severa (duloxetina, pregabalina, tramadol) ou distúrbios do sono (amitriptilina, ciclobenzaprina, pregabalina). Na revisão da abordagem terapêutica da FM acima referida não são recomendados múltiplos dos fármacos reportados pelos doentes recrutados para o nosso estudo, nomeadamente IRND, INRS, IMAOs e ISRS, devido à ausência de evidência clínica. Consideram, ainda, contraindicado nesta situação o uso dos opióides fortes e de corticosteróides, com base na falta de eficácia e no elevado risco de habituação e efeitos secundários. Assumindo que muitos dos doentes recrutados para este estudo iniciaram a terapia farmacológica antes da última revisão da EULAR, seria de esperar um certo grau de desadequação na utilização dos medicamentos mais indicados. Por outro lado, verificou-se que a esmagadora maioria dos doentes toma (ou já tomou) para a sintomatologia associada à FM múltiplos fármacos da listagem apresentada na Tabela 3 (em média 3.55 fármacos; intervalo compreendido de 1 a 10 por indivíduo). Este facto dificultou a realização de qualquer tipo de abordagem estatística para estratificar a influencia de certos medicamentos nos níveis plasmáticos de adenosina e/ou ADA, bem como no “score” de gravidade da doença usando os parâmetros clínicos e inquéritos realizados.

A desorganização do tecido conjuntivo subcutâneo é uma característica comum nos pacientes com dor crónica, possivelmente como resultado da inflamação tecidular e da fibrose. Qualquer destes processos liberta quantidades assinaláveis de ATP para o meio extracelular, cuja atividade é limitada pela sua metabolização em ADP e AMP por ectonucleotidases ancoradas à membrana plasmática (e.g. NTPDase1 e 2) e, subsequente, formação de adenosina catalisada pela ecto-5'-nucleotidase/CD73. Por sua vez, a adenosina pode ser inativada por recaptação celular e/ou desaminação pela ADA. Este trabalho assume a hipótese que os fibroblastos do tecido subcutâneo humano e da fáscia subjacente (bem como células inflamatórias) libertam quantidades significativas de purinas, ATP e do seu metabolito adenosina, em resposta à estimulação mecânica e processos inflamatórios, cujos níveis podem ser detetados na corrente sanguínea em situações patológicas (Herman-de-Sousa et al., 2020; Pinheiro et al., 2013). De facto, os valores extracelulares de adenosina aumentam nos tecidos submetidos a stresse, como por exemplo a isquemia ou a inflamação. A acumulação persistente de adenosina pode levar a respostas mal adaptativas como se observa na inflamação crónica. A adenosina promove fibrose de diferentes órgãos, incluindo no tecido celular subcutâneo humano, por intermédio de mecanismos distintos. Este estudo provou que os níveis plasmáticos de adenosina estão aumentados em mulheres com FM e que esse indicador pode ser usado como biomarcador no diagnóstico de doentes com sintomatologia leve a moderada de FM.

Este estudo apresenta algumas limitações, para além das discutidas anteriormente. Em primeiro lugar, trata-se de um ensaio piloto em que foi utilizado um número relativamente reduzido (27) de mulheres

com diagnóstico de FM. A segunda limitação, relaciona-se com o recrutamento destes doentes na Consulta de Doenças Psicossomáticas do Serviço de Psiquiatria do CHUC, facto que pode enviesar a caracterização da amostra, os resultados obtidos e as opções terapêuticas seleccionadas para este grupo específico de doentes. A terceira limitação (eventualmente, a mais relevante) deve-se ao facto de se especular que os níveis plasmáticos de adenosina (e de ADA) resultam da sua migração a partir do tecido celular subcutâneo e/ou da fáscia sem que até à data tenha sido possível avaliar a concentração destes mediadores diretamente neste tecido em doentes com FM, apesar dos dados estarem de acordo com os resultados experimentais obtidos em culturas primárias de fibroblastos subcutâneos humanos (Herman-de-Sousa et al., 2022; Herman-de-Sousa et al., 2020).

6. Conclusão

A dor generalizada desencadeada por múltiplos pontos de gatilho é a principal característica da FM. Contudo, esta doença apresenta um quadro clínico relativamente pouco definido, sem sinais patognomónicos, aos quais se associam diversos sintomas inespecíficos, como a fadiga, distúrbios do sono e sintomas funcionais (sintomas não explicados por causas estruturais ou patológicas). Apesar de ser uma condição frequente na população geral, o facto de não existir um consenso acerca da etiologia da doença, não permite procurar uma abordagem terapêutica eficaz (Sarzi-Puttini et al., 2020). A principal barreira no diagnóstico desta doença é a ausência de um biomarcador de diagnóstico precoce suficientemente robusto.

A desorganização do tecido conjuntivo subcutâneo é uma característica comum em doentes com dor crónica, possivelmente como resultado da inflamação e fibrose. Considerando que as purinas, designadamente a adenosina exerce um importante papel neuromodulador na transmissão dolorosa, está envolvida na fibrose cutânea e de outras vísceras, e é libertada pelo tecido subcutâneo humano em resposta a estímulos mecânicos, químicos e/ou inflamatórios, além do facto dos seus níveis poderem ser detetados em vários líquidos biológicos mediante metodologia apropriada, explorámos neste trabalho se as concentrações plasmáticas deste nucleósido e da enzima responsável pela sua inativação extracelular, ADA, poderiam ser usadas como biomarcadores para o diagnóstico e acompanhamento de mulheres com FM.

Em situações normais, a concentração extracelular de adenosina é mantida dentro de certos limites (30-300 nM), que são normalmente superiores à sua concentração intracelular, favorecendo a captação celular do nucleósido. Porém, os níveis extracelulares de adenosina aumentam subitamente em resposta ao stresse celular em situações de isquemia, hipoxia e inflamação devido a exaustão no catabolismo intra- e extracelular do ATP que ultrapassam a capacidade de fosforilação do nucleósido pela adenosina cinase intracelular – a enzima responsável pelo primeiro passo da via de recuperação das purinas.

Se por um lado o aumento dos níveis extracelulares deste metabolito celular retaliatório favorece a recuperação tecidular em resposta a agressões a Cada vez mais evidências indicam que os níveis de adenosina extracelular aumentam drasticamente nos tecidos submetidos a condições de stress, tais como

isquemia, hipoxia e inflamação. A sua acumulação persistente pode levar a respostas mal-adaptativas dos órgãos, como se observa na inflamação/dor crônica, na fibrose e/ou na cicatrização tardia dos tecidos (Herman-de-Sousa et al., 2020). Neste contexto, este estudo demonstrou de forma inequívoca que os níveis plasmáticos de adenosina aumentam em mulheres com FM e que se pode usar esta medida como biomarcador no diagnóstico de formas leves a moderadas de FM segundo o questionário FIQ). Os resultados mostram, ainda, que a redução da concentração plasmática de ADA para níveis inferiores a 71.30 U/L pode ser um indicador de doença grave ou muito grave.

7. Referências

- Arnold, L. M., Bennett, R. M., Crofford, L. J., Dean, L. E., Clauw, D. J., Goldenberg, D. L., Fitzcharles, M.-A., Paiva, E. S., Staud, R., Sarzi-Puttini, P., Buskila, D., & Macfarlane, G. J. (2019). AAPT Diagnostic Criteria for Fibromyalgia. *The Journal of Pain*, 20(6), 611-628. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2018.10.008>
- Burnstock, G. (2014). Purinergic signalling: from discovery to current developments. *Exp Physiol*, 99(1), 16-34. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2013.071951>
- Burnstock, G. (2017). Purinergic Signalling: Therapeutic Developments [Review]. *Frontiers in Pharmacology*, 8(661). <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00661>
- Burnstock, G. (2018). The therapeutic potential of purinergic signalling. *Biochemical Pharmacology*, 151, 157-165. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.07.016>
- Costa, A. C. J. C. B. J. A. P. S. M. C. M. M. (2005). *Regras de Ouro em Reumatologia*. Direção Geral da Saúde.
- Cronstein, B. N. (2011). Adenosine receptors and fibrosis: a translational review. *F1000 Biol Rep*, 3, 21. <https://doi.org/10.3410/b3-21>
- Dias, R. C., Costa, E. H., Chrisostomo, K. R., Junior, J. K., Paiva, E. S., Azevedo, P. M., Skare, T. L., & Nisihara, R. M. (2023). Fibromyalgia and menopause: an open study on postmenopausal hormone therapy. *Minerva Obstet Gynecol*, 75(5), 424-431. <https://doi.org/10.23736/s2724-606x.22.05085-0>
- Fais, A., Cacace, E., Corda, M., Era, B., Peri, M., Utzeri, S., & Ruggiero, V. (2013). Purine metabolites in fibromyalgia syndrome. *Clinical Biochemistry*, 46(1), 37-39. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2012.09.009>
- Giorgi, V., Sirotti, S., Romano, M. E., Marotto, D., Ablin, J. N., Salaffi, F., & Sarzi-Puttini, P. (2022). Fibromyalgia: one year in review 2022. *Clin Exp Rheumatol*, 40(6), 1065-1072. <https://doi.org/10.55563/clinexprheumatol/lf9gk2>. Epub 2022 Jun 22. PMID: 35748720
- Guieu, R., Guedj, E., Giorgi, R., Dousset, A., Tuzzolino, V., By, Y., Leveque, J. M., Peragut, J. C., Régis, J., Ruf, J., Fenouillet, E., & Roussel, P. (2012). High cell surface CD26-associated activities and low plasma adenosine concentration in fibromyalgia. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 71(8), 1427. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-201174>
- Hackshaw, K. V. (2021). The Search for Biomarkers in Fibromyalgia. *Diagnostics (Basel)*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/diagnostics11020156>
- Herman-de-Sousa, C., Costa, M. A., Silva, R. P., Ferreirinha, F., Ribeiro, S., & Correia-de-Sá, P. (2022). A(2A) receptor-induced overexpression of pannexin-1 channels indirectly mediates adenosine fibrogenic actions by favouring ATP release from human subcutaneous fibroblasts. *Life Sci*, 310, 121080. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.121080>
- Herman-de-Sousa, C., Pinheiro, A. R., Paramos-de-Carvalho, D., Costa, M. A., Ferreirinha, F., Magalhães-Cardoso, T., Ribeiro, S., Pelletier, J., Sévigny, J., & Correia-de-Sá, P. (2020). Opposing Effects of Adenosine and Inosine in Human Subcutaneous Fibroblasts May Be Regulated by Third Party ADA Cell Providers. *Cells*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/cells9030651>
- Löfgren, L., Pehrsson, S., Hägglund, G., Tjellström, H., & Nylander, S. (2018). Accurate measurement of endogenous adenosine in human blood. *PLOS ONE*, 13(10), e0205707. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205707>
- Lu, Q., Cui, Y., Ye, C., Wei, C., & Elston, R. C. (2010). Bagging optimal ROC curve method for predictive genetic tests, with an application for rheumatoid arthritis. *J Biopharm Stat*, 20(2), 401-414. <https://doi.org/10.1080/10543400903572811>
- Macfarlane, G. J., Kronisch, C., Dean, L. E., Atzeni, F., Häuser, W., Fluß, E., Choy, E., Kosek, E., Amris, K., Branco, J., Dincer, F., Leino-Arjas, P., Longley, K., McCarthy, G. M., Makri, S., Perrot, S., Sarzi-Puttini, P., Taylor, A., & Jones, G. T. (2017). EULAR revised recommendations for the management of fibromyalgia. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 76(2), 318. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-209724>
- Muñoz, M. F., Griffith, T. N., & Contreras, J. E. (2021). Mechanisms of ATP release in pain: role of pannexin and connexin channels. *Purinergic signalling*, 17(4), 549-561. <https://doi.org/10.1007/s11302-021-09822-6>
- Ohgidani, M., Kato, T. A., Hosoi, M., Tsuda, M., Hayakawa, K., Hayaki, C., Iwaki, R., Sagata, N., Hashimoto, R., Inoue, K., Sudo, N., & Kanba, S. (2017). Fibromyalgia and microglial TNF- α : Translational research using human blood induced microglia-like cells. *Sci Rep*, 7(1), 11882. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11506-4>

- Pinheiro, A. R., Paramos-de-Carvalho, D., Certal, M., Costa, M. A., Costa, C., Magalhães-Cardoso, M. T., Ferreirinha, F., Sévigny, J., & Correia-de-Sá, P. (2013). Histamine induces ATP release from human subcutaneous fibroblasts, via pannexin-1 hemichannels, leading to Ca²⁺ mobilization and cell proliferation. *J Biol Chem*, 288(38), 27571-27583. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.460865>
- Rosado Maria da Lapa, J. P. P., João Pedro da Fonseca, Jaime Branco ACTA REUM PORT. 2006;31:157-65. S. Medfarma edições. (2006). *Adaptação cultural e validação do «fibromyalgia impact questionnaire» – versão portuguesa*.
- Sarzi-Puttini, P., Giorgi, V., Marotto, D., & Atzeni, F. (2020). Fibromyalgia: an update on clinical characteristics, aetiopathogenesis and treatment. *Nat Rev Rheumatol*, 16(11), 645-660. <https://doi.org/10.1038/s41584-020-00506-w>
- Silva-Ramos, M., Silva, I., Oliveira, J. C., & Correia-de-Sá, P. (2016). Increased Urinary Adenosine Triphosphate in Patients With Bladder Outlet Obstruction Due to Benign Prostate Hyperplasia. *Prostate*, 76(15), 1353-1363. <https://doi.org/10.1002/pros.23207>
- Silva-Ramos, M., Silva, I., Oliveira, O., Ferreira, S., Reis, M. J., Oliveira, J. C., & Correia-de-Sá, P. (2013). Urinary ATP may be a dynamic biomarker of detrusor overactivity in women with overactive bladder syndrome. *PLOS ONE*, 8(5), e64696. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064696>
- West, S. (2019). *Rheumatology secrets*. Elsevier.
- Wolfe, F., Clauw, D. J., Fitzcharles, M. A., Goldenberg, D. L., Häuser, W., Katz, R. L., Mease, P. J., Russell, A. S., Russell, I. J., & Walitt, B. (2016). 2016 Revisions to the 2010/2011 fibromyalgia diagnostic criteria. *Semin Arthritis Rheum*, 46(3), 319-329. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2016.08.012>

ANEXOS

Anexo I – Instrumento de diagnóstico de fibromialgia

Critérios de diagnóstico de fibromialgia

Critério

Uma pessoa satisfaz os critérios de diagnóstico para a fibromialgia quando estão reunidas as seguintes 3 condições:

- 1) Índice de dor generalizada (WPI) ≥ 7 e escala de gravidade dos sintomas (SS) com uma pontuação ≥ 5 ou WPI 3-6 e pontuação na escala de SS ≥ 9 ;
- 2) Os sintomas estiveram presentes a um nível semelhante durante, pelo menos 3 meses;
- 3) A pessoa não tem uma doença que de outra forma justifique a dor.

Escalas

1) WPI: observe o número de áreas em que a pessoa teve dor ao longo da última semana. Em quantas áreas teve a pessoa dor? A pontuação será entre 0 e 19.

Área Direita			Área Esquerda		
Área	Sim	Não	Área	Sim	Não
Mandíbula direita	☐	☐	Mandíbula esquerda	☐	☐
Ombro Direito	☐	☐	Ombro Esquerdo	☐	☐
Braço Direito	☐	☐	Braço Esquerdo	☐	☐
Antebraço Direito	☐	☐	Antebraço Esquerdo	☐	☐
Anca Direita	☐	☐	Anca Esquerdo	☐	☐
Coxa Direita	☐	☐	Coxa esquerda	☐	☐
Perna Direita	☐	☐	Perna Esquerda	☐	☐
Região Dorsal	☐	☐	Região cervical	☐	☐
Região Lombar	☐	☐	Região Torácica	☐	☐
			Região Abdominal	☐	☐

2) Pontuação na escala de SS:

Fadiga

Waking unrefreshed (acordar cansado)

Sintomas cognitivos

Para cada um dos 3 sintomas acima, indicar o nível de gravidade durante a semana passada utilizando a seguinte escala:

0 = Sem gravidade.

1 = Gravidade ligeira: geralmente leve ou intermitente.

2 = Gravidade Moderada: problemas consideráveis, muitas vezes presentes e/ou em um nível moderado.

3 = Gravidade severa: persistentes, contínua, perturbadora da vida diária.

Considerando os sintomas somáticos em geral, indicar se a pessoa tem: *

0 = Sem sintomas

1 = Alguns sintomas

2 = Um número moderado de sintomas

3 = Uma grande quantidade de sintomas

A pontuação na escala de SS é a soma da gravidade dos 3 sintomas (fadiga, *waking unrefreshed* - acordar cansado, sintomas cognitivos) mais o índice de gravidade dos sintomas somáticos em geral.

A pontuação final é entre 0 e 13.

* Sintomas somáticos a considerar: dor muscular, síndrome do intestino irritável, fadiga/cansaço, pensar ou relembrar problemas, fraqueza muscular, cefaleia, dor/cãibras no abdómen, dormência/formigueiro, tonturas, insónias, depressão, obstipação, dor no abdómen superior, náuseas, nervosismo, dor no peito, visão turva, febre, diarreia, boca seca, prurido, pieira, fenómeno de Raynaud, urticária/vergões, zumbido nos ouvidos, vômitos, azia, úlceras orais, perda/mudança de paladar, convulsões, olhos secos, dispneia, perda de apetite, erupção cutânea, fotossensibilidade, dificuldades de audição, hematomas com facilidade, queda de cabelo, micção frequente, dor ao urinar e espasmos da bexiga¹⁵.

Anexo II – Questionário de Avaliação do Impacte da Fibromialgia Revisto (FIQR), versão portuguesa

O Questionário de Impacte da Fibromialgia Revisto (FIQR) avalia os diferentes domínios da fibromialgia, a função, o impacte global da fibromialgia e os sintomas comuns da fibromialgia, num período de tempo específico (últimos sete dias)⁷. O questionário é constituído por 21 itens, 9 para a função, 2 para o impacte global e 10 para os sintomas, classificados numa escala numérica de 11 pontos, variando de 0 a 10, sendo 10 o maior nível de gravidade ("pior")⁷. A pontuação para cada domínio é calculada somando as pontuações dos itens correspondentes e dividindo-a por 3 (para a função), 1 (para o impacte global) e 2 (para os sintomas). Os intervalos da pontuação para os domínios de função, impacte e sintomas são 0 - 30, 0 - 20 e 0 - 50, respetivamente⁷. A pontuação total, que varia entre 0 e 100, é obtido através da pontuação somada dos três domínios, com pontuação mais elevadas refletindo um maior impacte global da fibromialgia na vida da pessoa⁷.

INSTRUÇÕES:

Para cada uma das seguintes nove questões, assinale com uma cruz (X) a caixa que melhor indica em que grau a fibromialgia dificultou cada uma das seguintes tarefas na última semana. Se não desempenhou alguma das atividades neste período, indique a dificuldade com que desempenhou pela última vez essa atividade. Se não pode desempenhar uma atividade, assinale a última caixa à direita.

Escovar ou pentear o seu cabelo	sem dificuldade	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	com muita dificuldade
Caminhar continuamente durante 20 minutos	sem dificuldade	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	com muita dificuldade
Preparar uma refeição	sem dificuldade	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	com muita dificuldade
Aspirar, esfregar ou varrer o chão	sem dificuldade	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	com muita dificuldade
Levantar e carregar um saco cheio de mercearias	sem dificuldade	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	com muita dificuldade
Subir um lance de escadas	sem dificuldade	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	com muita dificuldade
Mudar os lençóis da cama	sem dificuldade	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	com muita dificuldade
Estar sentado numa cadeira durante 45 minutos	sem dificuldade	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	com muita dificuldade
Fazer compras de supermercado	sem dificuldade	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	com muita dificuldade

INSTRUÇÕES:

Para cada uma das seguintes duas questões, assinale com uma cruz (X) a caixa que melhor indica o impacto global da sua fibromialgia, ao longo da última semana.

A fibromialgia impediu-me de cumprir os objetivos da semana	nunca	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	sempre
Estive completamente perturbada pelos meus sintomas de fibromialgia	nunca	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	sempre

INSTRUÇÕES:

Para cada uma das seguintes dez questões assinale com uma cruz (X) a caixa que melhor indica a intensidade destes sintomas comuns de fibromialgia, ao longo da última semana.

Por favor assinale o seu nível de dor

sem dor ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ dor insuportável

Por favor assinale o seu nível de energia

muita energia ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ sem energia

Por favor assinale o seu nível de rigidez

sem rigidez ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ rigidez grave

Por favor assinale a qualidade do seu sono

acorda muito descansada ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ acorda muito cansada

Por favor assinale o seu nível de depressão

sem depressão ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ muito deprimida

Por favor assinale o seu nível de problemas de memória

boa memória ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ Memória muito fraca

Por favor assinale o seu nível de ansiedade

Sem ansiedade ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ muita ansiedade

Por favor assinale o seu nível de dor quando lhe tocam ou apertam

Sem dor ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ Muita dor

Por favor assinale o seu nível de problemas de equilíbrio

sem desequilíbrio ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ grave desequilíbrio

Por favor assinale o seu nível de sensibilidade a ruídos fortes, luzes brilhantes, cheiros e frio

sem sensibilidade ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ extrema sensibilidade

Anexo III – Avaliação inicial para monitorização

Tabela 1 - Registo da monitorização do Questionário de Impacte da Fibromialgia Revisto (FIQR) versão portuguesa (FIQR)

Questionário de impacte da fibromialgia revisto (FIQR) Domínios	ITEM	Pontuação Data ^a	Pontuação Data	Pontuação Data
Função	1 a 9	0 a 10/3*		
Impacte global	10 a 11	0 a 10/1**		
Sintomas comuns	12 a 21	0 a 10/2***		
Pontuação total		0 a 100****		

Legenda

* 0-30

**0-20

***0-50

****Pontuação total é a pontuação somada dos 3 domínios