

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

MARISTELA PALU YAMASHITA

**MECANISMOS EPIGENÉTICOS NA CRONIFICAÇÃO DA DOR: REVISÃO
SISTEMÁTICA E CIENCIOMETRIA**

DOIS VIZINHOS

2023

MARISTELA PALU YAMASHITA

**MECANISMOS EPIGENÉTICOS NA CRONIFICAÇÃO DA DOR:
REVISÃO SISTEMÁTICA E CIENCIOMETRIA**

***Epigenetic Mechanisms in Pain Chronification:
Systematic Review and Scientometrics***

Trabalho de conclusão de curso de Especialização apresentado como requisito para obtenção do título de Especialização em Biologia Molecular – Habilitação Bioinformática da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Juliana Morini Küpper Cardoso Persequini.

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Nédia de Castilhos Ghisi.

DOIS VIZINHOS

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

MARISTELA PALU YAMASHITA

**MECANISMOS EPIGENÉTICOS NA CRONIFICAÇÃO DA DOR:
REVISÃO SISTEMÁTICA E CIENCIOMETRIA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização apresentado como requisito para obtenção do título de Especialista em Biologia Molecular – Habilitação Bioinformática da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 17/fevereiro/2023

Nédia de Castilhos Ghisi
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos.

Fábio Antônio Antonelo
Mestrado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos.

Maristela Azevedo Linhares
Doutorado
Instituto de Tecnologia do Paraná

DOIS VIZINHOS

2023

Dedico este trabalho ao meu esposo, filha e pais,
pelo apoio e compreensão nos momentos de
ausência.

AGRADECIMENTOS

Sem dúvida em poucas palavras seria impossível agradecer a todos que fizeram parte dessa importante etapa da minha carreira profissional. Sendo assim, me desculpo pelas omissões, dos que não estão presentes nestes parágrafos, porque com certeza fazem parte do meu pensamento e tem minha gratidão.

Agradeço primeiramente ao meu Deus, O Senhor, por sempre prover todas as coisas e também por permitir que eu tivesse saúde, principalmente neste momento em que enfrentamos a pandemia da COVID-19, e por me fazer determinada para nunca desistir.

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. Juliana Morini Küpper Cardoso Perseguini, e Coorientadora Prof^a. Dr^a. Nédia Ghisi pela oportunidade e por prontamente me ajudarem, com sua vasta experiência, sempre que as procurei.

Agradeço ao Laboratório de Análises Biológicas e Biologia Molecular (BioMol) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos, por permitir a execução de todas as análises laboratoriais da pesquisa.

Dr^a. Lais Kosminski Akcelrud, Coordenadora Geral e demais membros da diretoria da Liga Interdisciplinar para Estudo da Dor do Instituto de Neurologia e Cardiologia de Curitiba (INC), por estar sempre presente, incentivando o aprendizado e pesquisas sobre o tema.

A Coordenação, secretaria, professores e a todos os meus colegas da Especialização.

Não poderia deixar de reconhecer também a importância da minha família, meu porto seguro, minha maior fonte de inspiração, que nunca me deixou só nesta caminhada.

Enfim, a todos os que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

Epigenética.

A ciência está provando que a habilidade para curar e reparar nossos corpos está diretamente relacionada com nossas crenças, pensamentos, emoções e intenções uma vez que tem um profundo efeito vibracional sobre nossa contínua evolução do código genético. Somos programadores do código. A ativação do DNA é nossa atualização de software.

(“Epigenética”, [s.d.], tradução nossa).

RESUMO

Atualmente, a Associação Internacional para Estudos da Dor define a dor como “uma experiência sensitiva e emocional desagradável, associada, ou semelhante àquela associada, a uma lesão tecidual real ou potencial”. Enquanto a dor aguda desempenha um caráter de proteção, a dor crônica demonstra uma natureza prejudicial. A epigenética é definida como mudanças herdáveis na expressão dos genes que não alteram a sequência de nucleotídeos no DNA. Existem dois principais mecanismos envolvidos na epigenética, as alterações nas histonas e o padrão de metilação do DNA. O objetivo do presente estudo foi caracterizar potenciais genes e processos envolvidos nas alterações epigenéticas que promovem o processo de dor crônica nociceptiva e neuropática. Para isso foi realizada uma revisão sistemática da literatura exclusivamente na Base Web of Science (WoS) / Coleção Principal. Após refinamento os dados foram exportados para o programa CiteSpace para pesquisa de tendências, através da análise de redes de visualização, e de estudos que relacionam a regulação epigenética na cronificação da dor. Os resultados demonstram fraca colaboração entre pesquisadores de variados países, assim como os genes candidatos a possível envolvimento no processo de cronificação da dor raramente se repetem entre os estudos. Embora os estudos demonstrem que alterações na metilação do DNA e nas histonas provocadas pela dor sustentada contribuem para cronificação da dor, o campo de pesquisa é amplo e ainda pouco estudado.

Palavras-chave: Dor Crônica; Epigenética; CiteSpace.

ABSTRACT

Currently, the International Association for the Study of Pain defines pain as "an unpleasant sensory and emotional experience associated with, or similar to, that associated with actual or potential tissue injury". While acute pain plays a protective role, chronic pain demonstrates a damaging nature. Epigenetics is defined as heritable changes in genes expression that do not alter the sequence of nucleotides in the DNA. There are two main mechanisms involved in epigenetics, changes in histones and the pattern of DNA methylation. The aim of the present study was to Characterize potential genes and processes involved in epigenetic changes that promote the process of chronic nociceptive and neuropathic pain. For this purpose a systematic review of the literature was performed exclusively in the Web of Science Base (WoS) / Core Collection. After refinement the data were exported to the CiteSpace program to search for trends, through visualization network analysis, and studies linking epigenetic regulation in pain chronification. The results demonstrate poor collaboration among researchers from varied countries, as well as candidate genes for possible involvement in the pain chronification process are rarely repeated among studies. Although studies demonstrate that changes in DNA methylation and histones caused by sustained pain contribute to pain chronification, the field of research is broad and still understudied.

Keywords: Chronic Pain; Epigenetic; CiteSpace.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismos envolvidos na epigenética	30
Figura 2 - <i>Flow Chart</i> do prisma contendo o fluxo de obtenção dos dados para inclusão na cienciometria	34
Figura 3 - Distribuição das publicações pelos continentes	38
Figura 4 - Distribuição das publicações pelas Instituições	38
Figura 5 - Mapa dos Autores	40
Figura 6 - Mapa de reposição entre os periódicos	41
Figura 7 - Top 1 referência com explosão de citações.....	42
Figura 8 - Nuvem de palavras-chave que aparecem duas vezes ou mais	43
Figura 9 - Clusters por palavras-chave.....	44
Figura 10 - Linha do tempo palavras-chave e anos	45

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1 - Número de artigos citados e publicados entre os anos de 2010 e 2022.	36
Gráfico 2 - Top 10 periódicos e o número de publicações de cada periódico	41
Quadro 1 - Lista de Genes que codificam enzimas ou proteínas citados pelos autores	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Top 10 países em número de artigos e instituições com mais publicações	37
Tabela 2 - Top 10 autores em número de publicações	39
Tabela 3 - Top 10 artigos mais citados.....	42
Tabela 4 - Palavras-chave e frequências	44

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Objetivos	15
1.1.1	Objetivo Geral.....	15
1.1.2	Objetivos Específicos	15
2	DESENVOLVIMENTO	16
2.1	Revisão de Literatura	16
2.1.1	Dor Crônica	16
2.1.2	Epigenética.....	16
2.1.3	Genes Envolvidos na Dor Crônica.....	17
2.1.4	Regulação da Expressão Gênica dos Genes Relacionados com a Dor Crônica	27
2.1.5	Relação da Epigenética com a Dor Crônica	30
2.1.6	Maneiras de Impedir a Metilação do DNA e Acetilação dos Genes Relacionados com a Dor Crônica.....	32
2.2	Material e Métodos	33
2.2.1	Revisão Sistemática de Literatura	33
2.2.2	Cienciometria.....	34
2.2.3	Bioinformática.....	35
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	36
3.1	Resultados	36
3.1.1	Distribuição Temporal dos Artigos e Citações	36
3.1.2	Distribuição de Países e Instituições	37
3.1.3	Distribuição de Autores	39
3.1.4	Distribuição de Periódicos	40
3.1.5	Citação de Referências e <i>Burst</i>	41
3.1.6	Distribuição de Palavras-chave	42
3.1.7	Caracterização de Genes Envolvidos nos Processos de Dor Crônica ..	45
3.2	Discussões	50
3.2.1	Informações Gerais	50
3.2.2	Metilação DNA e Acetilação de histonas	54
4	CONCLUSÕES	55
	REFERÊNCIAS	56
	ANEXO A - Direitos autorais - Lei n. 9.610, de 19 de fevereiro de 1998	

1 INTRODUÇÃO

A IASP (Associação Internacional para Estudos da Dor), a partir de esforços deliberativos entre os anos de 2018 e 2020, atualizou a definição de dor já estabelecida desde 1979, objetivando contemplar aspectos biopsicossociais de dor aguda e crônica tanto em seres humanos como em animais, independente da capacidade de comunicação, e que fosse aplicável a todas as condições de dor, não obstante a sua fisiopatologia, respeitando ainda a perspectiva da experiência pessoal de quem está sentindo. A versão atual define a dor como “uma experiência sensitiva e emocional desagradável, associada, ou semelhante àquela associada, a uma lesão tecidual real ou potencial”. Dada à complexidade do tema, fazem parte da descrição atualizada, notas complementares para maior abrangência (DESANTANA *et al.*, 2020).

Enquanto a dor aguda desempenha um caráter de proteção, a dor crônica persiste por mais tempo do que o normal esperado com a cura (BONICA J.J., 1953) *apud* AZIZ *et al.*, 2015), demonstrando uma natureza prejudicial (DESANTANA *et al.*, 2020). A dor crônica é considerada como sendo aquela dor recorrente ou contínua com duração maior do que três a seis meses (MERSKEY, H. AND BOGDUK, 1994) *apud* AZIZ *et al.*, 2015; DELLAROZA *et al.*, 2008), possui caráter multifatorial de difícil compreensão, tendo sido incluída na nova edição de Classificação Internacional de Doenças (CID-11), adotada em 2019 pela OMS (Organização Mundial de Saúde) (DESANTANA *et al.*, 2020).

A dor crônica é apontada como um problema de saúde pública, pois muitas vezes apresenta um caráter incapacitante, que pode ser transitório ou, até mesmo, permanente. A média de prevalência de dor crônica é estimada pela IASP em 35,5% da população mundial (VASCONCELOS; ARAÚJO, 2018), sendo causa de 15% a 20% das consultas médicas (AZIZ *et al.*, 2015).

Paoloni-Giacobino *et al.* (2020) afirmam que muitas condições crônicas de saúde se desenvolvem e são mantidas a partir de aspectos biológicos, psicológicos e sociais, e que modificações epigenéticas são resultado desta interação entre ambiente e as alterações na expressão gênica.

A epigenética é definida como: mudanças herdáveis na expressão do gene que não alteram a sequência de nucleotídeos no DNA, mas que são herdáveis pela mitose e ao longo das gerações (herança meiótica), ao contrário das mutações que

são alterações das sequências do DNA. A dieta adotada e as exposições ambientais podem potencialmente alterar o nível e escopo da regulação epigenética (HAMILTON, 2011).

Ao contrário do genoma, que é idêntico nos diferentes tipos celulares, o epigenoma é dinâmico e varia de uma célula para outra, pois, o epigenoma corresponde à cromatina, às proteínas associadas e aos padrões de modificações covalentes do DNA obtidos pela metilação e que permitem a organização e manutenção da expressão dos genes (OLIVEIRA, 2012).

Existem dois principais mecanismos envolvidos na epigenética, as alterações nas histonas e o padrão de metilação do DNA, que envolve modificações na estrutura das ligações covalentes do DNA. Esses mecanismos atuam modificando a acessibilidade da cromatina para a regulação da transcrição local ou globalmente, pelas modificações no DNA e pelas alterações ou rearranjos dos nucleossomos (OLIVEIRA, 2012).

Os nucleossomos são uma estrutura formada pela união de proteínas histonas em octâmeros que são envolvidos pelo DNA formando os blocos fundamentais de construção da cromatina. As caudas das histonas podem ser modificadas pela adição de um grupo acetil, este processo denominado acetilação permite a ligação de fatores de transcrição que proporcionam o aumento da expressão gênica, isto é, os genes são regulados de forma positiva. Já a metilação, na ilhas C-G frequentemente situadas na região promotora dos genes, impede a ligação de fatores de transcrição e geralmente silencia o gene, que é regulado de forma negativa. Ainda, após transcrição, podem ocorrer outros mecanismos regulatórios através dos RNAs curto (shRNA), pequeno RNA interferente (siRNA) e micro RNA (miRNA), que ao se ligarem ao mRNA (RNA mensageiro), induzem sua degradação (BUCHHEIT; VAN DE VEN; SHAW, 2012).

A cienciometria é uma técnica que utiliza indicadores das citações para sumarizar as publicações científicas de uma determinada temática, de maneira quantitativa e estruturada que permita a visualização das bases intelectuais e redes de colaboração (TIMOTHY O. OLAWUMI, 2018) *apud* VITOR *et al.*, 2022; (CANO; LÓPEZ, 2001),

O programa *CiteSpace* foi criado pelo Professor Chaomei Chen e colaboradores para pesquisa de tendências e redes de colaboração entre os registros obtidos nas bases WoS (*Web of Science*), Scopus, Lens, MAG,

CNKI/WanFang, CSDC, CSSCI e *Pubmed*. As visualizações geradas mostram a interação, a centralidade de intermediação, modularidade, silhueta, entre outras características que possam revelar um panorama atual e tendências das pesquisas que estão sendo realizadas sobre uma temática (CHEN; SONG, 2019).

Em consulta as palavras-chave, epigenética e dor crônica, no idioma inglês, na base PROSPERO (Registro Prospectivo de Revisões Sistemáticas), não se obteve nenhuma revisão sistemática publicada que relacione as palavras-chave. Sabendo que mediadores de sinalização de dor têm sua expressão em grande parte epigeneticamente controlada (WANG; STEFANO; KREAM, 2014), este estudo faz-se importante, no sentido de reunir dados de pesquisas de diferentes autores que descrevam a profunda ligação entre a epigenética e a dor crônica, através de uma investigação focando especificamente nesta relação, caracterizando as evidências relevantes disponíveis e o estado da arte sobre o assunto. Além disso, que apresente as tendências de evolução das pesquisas científicas sobre o tema.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

Posicionar a temática dos mecanismos epigenéticos na cronificação da dor, em relação a produção científica, assim como caracterizar potenciais genes e processos envolvidos nas alterações epigenéticas que promovem o desenvolvimento de dor crônica nociceptiva e neuropática, avaliando a distribuição, progresso, tendências e lacunas nesta temática.

1.1.2 Objetivos Específicos

Identificar genes envolvidos nas dores crônicas nociceptivas e neuropáticas.

Avaliar os processos de metilação dos genes relacionados com o desenvolvimento das dores crônicas.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão de Literatura

2.1.1 Dor Crônica

A dor crônica é uma condição de distúrbio neurológico incapacitante (LITKE *et al.*, 2022) de grande prevalência, elevado impacto (ZHANG *et al.*, 2022) e de difícil tratamento (LAUMET *et al.*, 2015).

É uma dor recorrente ou contínua com duração maior do que três a seis meses (MERSKEY, H. AND BOGDUK, 1994 *apud* AZIZ *et al.*, 2015; DELLAROZA *et al.*, 2008), persistindo mesmo após a retirada do fator causal, fator este, que poder ser: por uma lesão nervosa, quando a dor é denominada neuropática, ou por inflamação tecidual persistente provocada por alguma condição patológica, que ativa nociceptores sem provocar dano aos nervos (STENZ *et al.*, 2022); quando a dor é denominada dor nociceptiva, comumente também citada como dor inflamatória.

Quanto à localização, a dor somática é bem localizada, já a dor visceral pode se originar na região pélvica, abdominal ou torácica e possui uma característica difusa, portanto, não necessariamente está localizada junto ao órgão afetado de forma que sua localização é “referida” a outras estruturas do corpo como músculos, pele ou articulações adjacentes aos órgãos (LOUWIES *et al.*, 2019).

A dor crônica possui características fortemente sugestivas de modulações epigenéticas e leva a alterações comportamentais e emocionais devido aos processos mal adaptativos e de memória (ZHANG *et al.*, 2011).

2.1.2 Epigenética

Bird, (2007) em seu artigo, propõe uma definição revisada para epigenética, que incorpore o uso contemporâneo da palavra: “a adaptação estrutural de regiões cromossômicas para registrar, sinalizar ou perpetuar estados de atividade alterados” (BIRD, 2007, p.398, tradução nossa).

A epigenética realiza a interface entre estressores ambientais e alterações na expressão gênica (AROKE *et al.*, 2019). É por meio da epigenética, que a função

do gene pode sofrer alterações estáveis ou hereditárias, que não são resultantes de alterações na sequência do DNA, mas sim por influência do ambiente (CROW; DENK; MCMAHON, 2013).

A maquinaria epigenética é formada pela combinação de um conjunto complexo de fatores necessários para a ocorrência dos processos de metilação do DNA, modificações nas histonas e remodelação da cromatina, processos estes, que são interligados (LIPSCOMBE; LOPEZ-SOTO, 2021).

2.1.3 Genes Envolvidos na Dor Crônica

Os mecanismos epigenéticos não ocorrem individualmente, mas sim, em grupos de genes, em que o equilíbrio da regulação de um conjunto de genes parece favorecer estados de dor (LIANG *et al.*, 2017). Neste sentido, muitos autores não focam seus estudos especificamente nos genes, mas em mecanismos epigenéticos envolvidos na regulação dos mesmos. Alguns mecanismos citados envolvem HDACs (histona desacetilases), metilação de proteínas histonas H3k9me2/3 (LAUMET *et al.*, 2015), acetilação de histonas H3K9 (LIANG *et al.*, 2017), H3K9Ac e H3K18Ac (CAO *et al.*, 2016) e modificadores de cromatina como a metiltransferase G9a, por exemplo, que atua numa interação cooperativa com as HDACs e desempenha um importante papel no silenciamento dos genes do canal K⁺, na normalização de vários outros genes regulados tanto positiva como negativamente, e na transição da dor aguda para dor crônica (LAUMET *et al.*, 2015).

Topham *et al.* (2020), encontraram 1633 genes cujo promotor foi diferencialmente metilado e sugerem que a dor crônica afeta grupos de genes funcionalmente relacionados e não somente alguns genes previamente identificados como relacionados a dor crônica.

Stephens *et al.* (2021), realizaram análise global dos neurônios lombares localizados nos gânglios da raiz dorsal e encontraram 2620 genes diferencialmente expressos em modelos de rato de dor neuropática por lesão induzida pela constrição crônica do nervo ciático, e 2773 genes diferencialmente expressos por dor crônica inflamatória induzida pela injeção intra-plantar de Adjuvante Completo de Freund (CFA). Os autores apontam a acetilação de histonas e a metilação do DNA como

mecanismos epigenéticos pelos quais a alteração na expressão gênica pode ocorrer no Sistema Nervoso Periférico e contribuir para manutenção de estados de dor crônica.

Para avaliar os níveis de metilação do DNA é utilizado o sequenciamento pelo método de conversão de bissulfito (BELL *et al.*, 2014), uma vez que o DNA genômico extraído é modificado resultando na conversão da citosina desmetilada em timina, enquanto que a citosina metilada permanece inalterada permitindo a identificação das regiões diferencialmente metiladas (LI *et al.*, 2018).

São também utilizados softwares de previsão online para explorar mecanismos de regulação epigenética como: <http://www.urogene.org/cgi-bin/methprimer/methprimer.cgi> (LI *et al.*, 2018).

Apesar de algumas regiões diferencialmente metiladas serem criticamente relevantes na neuroplasticidade da dor, outras podem não ser, assim, um estudo sobre a regulação genômica e específica do gene, poderá auxiliar no esclarecimento dos mecanismos cerebrais da dor crônica (ALVARADO *et al.*, 2015), assim, estão listados, na sequência, os genes que codificam enzimas ou grupos de moléculas, proteínas e biomarcadores, citados pelos autores como diferencialmente regulados em estados de dor crônica, estes mesmos genes foram utilizados na composição do Quadro 1 do tópico 3.1.7 dos Resultados:

1. AP-1 Proto-oncogene Jun, subunidade do fator de transcrição AP-1 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 5, NC_051340.1 (109894175..109897268, complemento). Funciona como um centro de regulação, considerado como um eixo central na resposta a dor pela regulação pós transcricional. A inibição deste gene, com a suplementação de miRNA (micro RNA) que têm esse gene como alvo, pode aliviar a dor crônica (ZHU *et al.*, 2021);
2. Cacna1b subunidade alfa1 B do canal dependente de voltagem [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 3, NC_051338.1 (7380892..7546104, complemento). Gene que codifica o núcleo funcional Ca_v2.2 (canais da Cálcio dependentes de voltagem). Alteração epigenética específica da célula controla exon 37a em Cacna1b em nociceptores Trpv1 sensíveis ao calor e altera a função do canal iônico (LIPSCOMBE; LOPEZ-SOTO, 2021);

3. Cc1a1 canal de cloreto acessório 1 [*Rattus norvegicus* (Norway rat)], localização Cromossomo 2, NC_051337.1 (233938677..233964369, complemento). Codifica canal de cloreto de calico. Regulado negativamente no córtex pré-frontal na lesão nervosa, envolvido na morte neuronal, podendo desempenhar papel na reorganização neuronal do córtex pré-frontal (ALVARADO et al., 2013);
4. COMT (catecol-O-metiltransferase) [*Homo sapiens* (humano)] (VOSSEN et al., 2010), localização Cromossomo 22, NC_000022.11 (19941772..19969975). Gene de limpeza da dopamina, alterações que reduzem a função desse gene, refletem no limiar da dor e estados emocionais (CHRISTENSEN et al., 2021);
5. DRD2 (receptor de dopamina D2) [*Homo sapiens* (humano)], localização Cromossomo 11, NC_000011.10 (113409605..113475398, complemento). Gene que regula síntese, liberação e armazenamento de Dopamina, a expressão reduzida favorece aparecimento de distúrbios emocionais em pacientes com dor crônica (CHRISTENSEN et al., 2021);
6. FKBP5 (FKBP proil isomerase 5) [*Homo sapiens* (humano)], localização Cromossomo 6, NC_000006.12 (35573590..35728583, complemento). Alterações epigenéticas no gene FKBP5 regulam positivamente FKBP51 (proteína determinante no eixo de regulação do estresse e estados de dor crônica) estimulando estados de dor crônica (GÉRANTON, 2019);
7. Gal1r (receptor de galanina 1) [*Homo sapiens* (humano)], localização Cromossomo 18, NC_000018.10 (77249848..77277900); Gabbr2 subunidade 2 do receptor do ácido gama-aminobutírico tipo B [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 5, NC_051340.1 (60947517..61288104, complemento); Grm7 receptor metabotrópico de glutamato 7 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 4, NC_051339.1 (143730862..144613230); Gpr158 Receptor acoplado à proteína Gpr158 G 158 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 17, NC_051352.1 (83777625..84244428); Chrm2 receptor colinérgico muscarínico 2 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 4, NC_051339.1 (65015408..65149104); Chrm3 receptor colinérgico, muscarínico 3 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização

Cromossomo 17, NC_051352.1 (60005137..60467250); Cnr1 receptor canabinóide 1 [*Rattus norvegicus* (rato norueguês)], localização Cromossomo 5, NC_051340.1 (48408543..48436099); Oprl1 Receptor 1 de nociceptina relacionado a opioides [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 3, NC_051338.1 (168831934..168839920); Oprm1 receptor opioide, mu 1 [*Rattus norvegicus* (rato norueguês)], localização Cromossomo 1, NC_051336.1 (43160057..43413409); Mrgpre Membro da família GPR relacionado com Mrgpre MAS [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 1, NC_051336.1 (198963786..198969862, complemento). Genes envolvidos nas alterações dos limiares de dor e geração anormal de potencial de ação quando regulados negativamente (STEPHENS et al., 2021);

8. Grin1 subunidade 1 do receptor ionotrópico de glutamato NMDA [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 3, NC_051338.1 (8103680..8130603, complemento); Nrg1 neuregulina 1 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 16, NC_051351.1 (59250658..60303024); Asic3 subunidade 3 do canal iônico de detecção de ácido [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 4, NC_051339.1 (10760509..10764987, complemento); Gabrr1 subunidade rho 1 do receptor do ácido gama-aminobutírico tipo A [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 5, NC_051340.1 (47524151..47561228); Scn10a subunidade alfa 10 do canal de sódio controlado por voltagem [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 8, NC_051343.1 (119350723..119462882, complemento); Ramp1 proteína modificadora da atividade do receptor 1 [*Rattus norvegicus* (rato norueguês)], localização Cromossomo 9, NC_051344.1 (91765481..91816152); Myd88 MYD88 , adaptador de transdução de sinal imune inato [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 8, NC_051343.1 (119074439..119078508, complemento); Trpv1 canal catiônico potencial receptor transiente, subfamília V, membro 1 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 10, NC_051345.1 (57851428..57876513) e Tnf fator de necrose tumoral [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 20, NC_051355.1 (3622011..3624629). Função relacionada a atividade e tráfego do canal iônico, respostas inflamatórias e

- regulação de neurotransmissores com impacto na sensação de dor (TAJERIAN et al., 2013; TOPHAM et al., 2020);
9. Htr2a Receptor de 5-hidroxitriptamina 2A [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 15, NC_051350.1 (49950035..50022188); Htr2b Receptor de 5-hidroxitriptamina 2B [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 9, NC_051344.1 (86735793..86756640, complemento); Ptger4 Receptor 4 da prostaglandina E Ptger4 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 2, NC_051337.1 (54330563..54347451, complemento); Mrgprx1 (Membro da família GPR relacionado com MAS X1 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 1, NC_051336.1 (97806099..97807112, complemento). Regulados negativamente em condições clínicas de dor neuropática (STEPHENS et al., 2021);
 10. Kcna4 Subfamília de canais dependentes de voltagem de potássio A, membro 4 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 3, NC_051338.1 (93756399..93778004); Kcnd2 subfamília D do canal dependente de voltagem de potássio 2 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 4, NC_051339.1 (49775812..50277746); Kcnq2 Subfamília de canais dependentes de voltagem de potássio membro Q 2 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 3, NC_051338.1 (168194776..168253831, complemento) e Kcnma1 subfamília de canais ativados por cálcio e potássio M alfa 1 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 15, NC_051350.1 (302078..1001198). Promotores dos Genes canal Kv (Potássio dependente de voltagem) tem sua expressão reduzida na lesão nervosa. A enzima histona-lisina N-metiltransferase-2 (G9a) desempenha papel fundamental na regulação desses genes e na transição da dor aguda para crônica (LAUMET et al., 2015);
 11. krt20 Krt20 queratina 20 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 10, NC_051345.1 (84384802..84394107, complemento). Participa das vias funcionais do ciclo e proliferação celular, na lesão nervosa é regulado positivamente (ALVARADO et al., 2013);
 12. mGluR2 receptor metabotrópico de glutamato 2 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 8, NC_051343.1

- (107280099..107293159, complemento) e mGluR3 receptor metabotrópico de glutamato 3 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], Cromossomo 4, NC_051339.1 (24364854..24643972). Receptores espinhais de glutamate, a expressão pode ser modulada por inibidores HDAC para aliviar hipersensibilidade visceral (CAO et al., 2016);
13. Myot Myot miotilina [*Rattus norvegicus* (rato norueguês)], localização Cromossomo 18, NC_051353.1 (36705244..36724849); Ca3 anidrase carbônica 3 [*Rattus norvegicus* (rato norueguês)], localização Cromossomo 2, NC_051337.1 (86770418..86780011, complemento); Tnnc2 troponina C2, tipo esquelético rápido [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 3, NC_051338.1 (153513272..153516033, complemento); Ankrd23 Domínio de repetição de anquirina Ankrd23 23 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 9, NC_051344.1 (38773234..38779839, complemento); Eno3 enolase 3 [*Rattus norvegicus* (rato norueguês)], localização Cromossomo 10, NC_051345.1 (55370531..55375921); Casq1 Casq1 calsequestrina 1 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 13, NC_051348.1 (84670648..84680339, complemento); Tpm2 tropomiosina 2 [*Rattus norvegicus* (rato norueguês)], localização Cromossomo 5, NC_051340.1 (57770919..57780278, complemento); Pygm glicogênio fosforilase, músculo associado [*Rattus norvegicus* (rato norueguês)], localização Cromossomo 1, NC_051336.1 (203690550..203705369); RT1-Da (RT1 classe II, locus Da) [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 20 - NC_051355.1 (4513464..4518457); Des desmina [*Rattus norvegicus* (rato norueguês)], localização Cromossomo 9, NC_051344.1 (76850979..76858695). Envolvidos na função e manutenção dos músculos esqueléticos e regulados positivamente em estados de dor crônica neuropática e nociceptiva (STEPHENS et al., 2021);
14. NAV1 (navegador de neurônios 1) [*Homo sapiens* (humano)], localização Cromossomo 1, NC_000001.11 (201539127..201826969), com papel na migração neuronal e KIF11 (membro da família cinesina 11) [*Homo sapiens* (humano)], localização Cromossomo 10, NC_000010.11 (92593130..92655395) envolvido na transmissão sináptica/crescimento microtubular axonal. O aumento da expressão destes na dor lombar crônica,

- sugere que possa afetar o desenvolvimento e transmissão de nociceptores (AROKE et al., 2020);
15. OPRm1 (receptor opioide mu 1) [*Homo sapiens* (humano)], localização Cromossomo 6, NC_000006.12 (154010496..154246867). Gene que codifica MOR (receptores μ -opioide), (VOSSEN et al., 2010). Sistema opioide de analgesia endógena (LIAO et al., 2018) com expressão alterada em dor nociceptiva (STENZ et al., 2022). O estudo de Liao et al., (2018) demonstrou que HDAC2 é regulada positivamente principalmente em neurônios do corno dorsal da medula e a atividade MOR é reduzida na dor crônica induzida por injeção de ácido trinitrobenzenosulfônico no pâncreas de ratos;
 16. RAB10 (RAB10 , membro da família de oncogenes RAS) [*Homo sapiens* (humano)], localização Cromossomo 2, NC_000002.12 (26033285..26137454); LRRC59 (repetição rica em leucina contendo 59) [*Homo sapiens* (humano)], localização Cromossomo 17, NC_000017.11 (50381238..50397523, complemento); BMP1 (proteína morfogenética óssea 1) [*Homo sapiens* (humano)] se apresentam hipometilados e PNPLA6 domínio de fosfolipase tipo patatina contendo 6) [*Homo sapiens* (humano)], localização Cromossomo 19, NC_000019.10 (7534164..7561767) e P3H3 (prolil 3-hidroxilase 3) [*Homo sapiens* (humano), localização Cromossomo 12, NC_000012.12 (6828407..6839847)] hipermetilados em estados de dor nociceptiva (STENZ et al., 2022);
 17. robo3 receptor de orientação rotatória 3 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 8, NC_051343.1 (37133542..37151674, complemento); krt20 queratina 20 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 10, NC_051345.1 (84384802..84394107, complemento); xlr4b (regulado por linfócitos ligados ao cromossomo X), localização Cromossomo X. Regulação positiva na dor neuropática sugere alteração na regulação dos genes envolvidos no crescimento neuronal (ALVARADO et al., 2013);
 18. Slc22a6 família de transportadores de soluto 22 membro 6 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 1, NC_051336.1 (205522579..205531179). Codifica transportador de ânion orgânico (OAT1) em neurônios do corno dorsal da medula, considerado um modulador da dor,

- cuja inibição regulada por HDAC4, reduz a dor crônica nociceptiva (LITKE et al., 2022; SANDO et al., 2012);
19. Syt2 sinaptotagmina 2 [*Rattus norvegicus* (rato norueguês)], Cromossomo 13, NC_051348.1 (46088046..46197976). Regulador da função sináptica, da família de proteínas de transporte através de membrana, participa no encaixe e fusão de vesículas sinápticas e trabalha como um sensor de cálcio para liberação rápida de neurotransmissores (ALVARADO et al., 2015);
20. TRPA1 (Potencial do receptor transitório canal catiônico subfamília A membro 1) [*Homo sapiens* (humano)], localização Cromossomo 8, NC_000008.11 (72021250..72090010, complemento). Expressos em algumas células não neuronais como queratinócitos, mas preferencialmente em nociceptores periféricos (BELL et al., 2014). A metilação do DNA na região promotora do gene sugere associação com intensidade de dor neuropática (TAKENAKA et al., 2020). No estudo de Achenbach et al. (2019), a metilação do promotor do gene TRPA1 também exerceu papel na sensibilidade mecânica à dor nos voluntários saudáveis;
21. Wipf2 Família de proteínas de interação Wipf2 WAS/WASL, membro 2 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 10, NC_051345.1 (83821067..83861634); Rrp8 processamento de RNA ribossômico 8 [*Rattus norvegicus* (rato norueguês)], localização Cromossomo 1, NC_051336.1 (160081092..160088709, complemento); Xdh xantina desidrogenase [*Rattus norvegicus* (rato norueguês)], localização Cromossomo 6, NC_051341.1 (21530463..21592172) ou Sprr2d pequena proteína rica em prolina 2D [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 2, NC_051337.1 (177870082..177870679, complemento) em estado metilado por um longo período de tempo participam do processo de cronificação da dor, porque podem codificar uma memória persistente da lesão inicial no genoma (TOPHAM et al., 2020);
22. Gad65 glutamato descarboxilase 2 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 17, NC_051352.1 (84763630..84826155). Enzima descarboxilase de ácido glutâmico 65 que sintetiza GABA no terminal sináptico, níveis de acetilação H3 em regiões promotoras de gad65 interferem na síntese de GABA (ácido gama-aminobutírico) que participa da modulação da dor (ZHANG et al., 2011);

23. CaMKII γ proteína quinase II dependente de cálcio/calmodulina gama [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 15, NC_051350.1 (3504017..3563050). Mediador da sensibilização central, processo que aumenta a excitabilidade dos neurônios e ocorre na dor crônica. Esse gene é alvo do miRNA-219 espinhal através da regulação negativa dos receptores NMDA nos canais iônicos (PAN et al., 2014);
24. Ccl2 CC motif chemokine ligand 2 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 10, NC_051345.1 (67005424..67007222). Quimiocina conhecida como proteína quimioatraente de monócitos – 1 modulada negativamente por miR-325-5p na dor visceral (WU et al., 2019);
25. Cxcr3 Receptor 3 de quimiocina motivo CXC [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo X, NC_051356.1 (66844318..66846969, complemento). Receptor de quimiocina regulado positivamente pela metilação do DNA, contribui para dor neuropática ao favorecer a sensibilização central com aumento da transmissão sináptica excitatória (JIANG et al., 2017);
26. Cxcr4 Receptor 4 de quimiocina motivo CXC [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 13, NC_051348.1 (40077976..40081883, complemento). Receptor de quimiocina acoplado à proteína G. A supra regulação no gânglio da raiz dorsal está relacionada a hipometilação do DNA na região promotora do gene e sua alta expressão pode estar envolvida na hiperalgesia (LI et al., 2018);
27. LEP (leptina) [*Homo sapiens* (humano)], localização Cromossomo 7, NC_000007.14 (128241278..128257629). Proteína derivada no tecido adiposo e também secretada pelo sistema nervoso central (WILKINSON et al., 2007), tem função na saciedade e sua regulação epigenética através da metilação do promotor, demonstrou papel na dor neuropática crônica (ACHENBACH et al., 2022);
28. PRDM12 (Domínio PR/SET 12) [*Homo sapiens* (humano)], localização Cromossomo 9, NC_000009.12 (130664594..130682983). Proteína da família de reguladores epigenéticos que controlam a especificação neural e neurogênese. Essencial para detecção de dor em humanos (CHEN et al., 2015);
29. Reg3a 3 alfa derivado de ilhotas em regeneração [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 4, NC_051339.1 (110872398..

- 110875157). Proteínas da família Reg podem estar criticamente relacionadas com a regulação de processos inflamatórios. São reguladas positivamente demonstrando estar associadas a modulação da dor no DRG (gânglio da raiz dorsal) (ZHU et al., 2021);
30. Tet3 tet metilcitosina dioxigenase 3 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 4, NC_051339.1 (115867412..115964433, complemento). Enzima predominante em neurônios periféricos positivos de pequeno e médio porte, possivelmente nociceptores. As proteínas TET promovem a hidroxilação de 5mC em 5hmC que é amplamente aumentada após lesão nervosa, sugerindo um importante papel na dor neuropática (CHAMESSIAN et al., 2017);
31. Wnt3 Membro da família Wnt 3 [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 10, NC_051345.1 (88680248..88724170), proteínas modificadas por lipídeos expressas predominantemente no cérebro, sua função sinalizadora está envolvida no desenvolvimento e manutenção da dor neuropática crônica (FENG et al., 2015);
32. BDNF fator neurotrófico derivado do cérebro [*Homo sapiens* (humano)] (VOSSSEN et al., 2010), localização Cromossomo 11, NC_000011.10 (27654893..27722030, complemento). A dor crônica associada aos fatores biopsicossociais, diminui a metilação no promotor do gene, aumentando a transcrição do mesmo. O estudo sugere que a expressão do gene pode estar relacionada à complexidade e gravidade da dor, e que portanto, baixos níveis de BDNF no cérebro tem maior chance de melhora dos sintomas (PAOLONI-GIACOBINO et al., 2020). Tan; Shen; Hou (2020), relatam influência indireta de miR-30a-3p, com sua perda, ocorre aumento de EP300 (ativador de transcrição de E-caderina) ativando a acetilação de histonas H3 e H4 no promotor BDNF regulando o mesmo para cima, e em consequência disso, promovendo a dor neuropática;
33. NGF fator de crescimento nervoso [*Rattus norvegicus* (rato da Noruega)], localização Cromossomo 2, NC_051337.1 (189901058..189954452). Regulação positiva do gene por meio da desmetilação pela DNMT3b, um dos alvos miRNA-29b, também regulado positivamente na dor inflamatória induzida por CFA (YUAN et al., 2020);

34.REST 1 (Fator de transcrição silenciador RE1) [*Homo sapiens* (humano)], localização Cromossomo 4, NC_000004.12 (56907900..56935844), repressor único para muitos genes para sobrevivência neural, crescimento de axônios, plasticidade sináptica, transporte vesicular e condutância iônica. A inibição da atividade de CTDSP1 (pequena fosfatase 1 do domínio C-terminal) permite a modulação simultânea da via REST nos neurônios e nas células de Schwann (suporte do sistema nervoso periférico) localizadas no local da lesão (GERVASI et al., 2021). REST 1 está associado ao desenvolvimento e manutenção da dor neuropática. A repressão da transcrição do gene neuronal pela proteína de ligação REST 1, recruta cofatores de modificação da cromatina HDACs e G9a (WILLIS et al., 2016).

2.1.4 Regulação da Expressão Gênica dos Genes Relacionados com a Dor Crônica

Alterações na expressão dos genes resultam em fenótipos estáveis e são provocadas pelas modificações na estrutura da cromatina, pela metilação do DNA e acetilação das histonas, alterando a atividade transcricional do gene, positiva ou negativamente (ZHANG *et al.*, 2011). A metilação do DNA tem caráter fortemente estável em células diferenciadas, inclusive pra manter a identidade celular, já as alterações nas histonas são rapidamente reversíveis (REIK, 2007) SUZUKI; BIRD, 2008; (WU; ZHANG, 2010) *apud* GUO *et al.*, 2011).

A metilação do DNA ocorre em sítios dinucleotídeos C-G (citosina-guanina), presentes no promotor do gene e seu efeito epigenético está na maioria das vezes associado a repressão da transcrição do gene. As principais DNMTs (DNA metiltransferases) que catalisam as reações de metilação são Dnmt1, que reconhece e adiciona grupo metil a C-G, hemimetilados para manutenção dos níveis de metilação, e Dnmt3 que reconhece e adiciona grupo metil independente do grau de metilação corrente (CROW; DENK; MCMAHON, 2013; GUO *et al.*, 2011). O silenciamento do gene ocorre pela própria metilação, adição de grupo metil ao carbono 5 do anel de pirimidina da citosina (BUCHHEIT; VAN DE VEN; SHAW,

2012), seguida por um resíduo de guanina (MONTESINO-GOICOLEA et al., 2020), impedindo a ligação de fatores de transcrição (COMB; GOODMAN, 1990), ou ainda por atrair proteínas repressoras como a proteína de ligação de metila MeCP2 (NAN; CAMPOY; BIRD, 1997). Níveis reduzidos de MeCP2 demonstram limiares de dor alterados (LAUMET et al., 2015).

Histonas são pequenas proteínas alcalinas centralizadas na cromatina em octâmeros, enroladas pelos nucleossomos, que são as subunidades repetitivas da cromatina, formados por 147 pares de base de DNA (KOUZARIDES, 2007; CROW; DENK; MCMAHON, 2013). As histonas são classificadas em 5 famílias, das quais H1 e H5 são conhecidas como as proteínas ligantes e H2A, H2B, H3 e H4 são conhecidas como centrais (LIANG et al., 2016).

As caudas das proteínas histonas (N- terminal) podem ser modificadas por acetilação, metilação, fosforilação, entre outros mecanismos, sendo a acetilação a que apresenta maior interesse de estudo no campo da dor atualmente, provavelmente pela disponibilidade de inibidores farmacológicos contrários às proteínas efectoras. As famílias de enzimas HAT (histonas acetil-transferases) são responsáveis pela acetilação de histonas, que ocorre nos resíduos de lisina (HABERLAND; MONTGOMERY; OLSON, 2009; CROW; DENK; MCMAHON, 2013).

A principal fonte do grupo acetil para acetilação vem da acetil-coenzima A (LIANG et al., 2016). A acetilação de histonas aumenta a atividade dos genes pelo relaxamento da cromatina, tornando o gene mais disponível para transcrição (ZHANG et al., 2011), a neutralização da lisina carregada, faz com que o DNA fique menos fortemente associado ao nucleossomo, também recruta proteínas do bromodomínio que convocam o maquinário transcricional. Esse processo de acetilação ocorre dinamicamente, e a transcrição pode ser reprimida (desacetilação) pela família de enzimas HDACs (HABERLAND; MONTGOMERY; OLSON, 2009; CROW; DENK; MCMAHON, 2013), pelo aumento da condensação da cromatina silenciando o gene (LIANG et al., 2016).

Um dos principais eventos responsáveis pela plasticidade neural nas vias nociceptivas, é a transcrição gênica coordenada por sinal, cuja regulação, por interferência epigenética, está ligada a diferentes formas de dor crônica. No SNC (Sistema Nervoso Central) as DNMTs e as HDACs são os principais mediadores de processos adaptativos, elas são capazes de traduzir sinais transcricionais da atividade sináptica de longa duração (LITKE et al., 2022).

Litke *et al.* (2022) encontraram evidências de que a acetilação de histona e a atividade de HDACs, tem grande relevância em estados patológicos de dor e examinaram várias HDACs. Em seus estudos com ratos, utilizando CFA, descobriram que a HDAC4, pertencente à subclasse H2A, é especificamente regulada pela atividade sináptica nociceptiva nos neurônios do corno dorsal da medula, nos casos de dor inflamatória persistente, não aguda, onde ocorre a exportação de HDAC4 do núcleo e elevação da acetilação da AcH3 (histona 3-Lys9) acetilada. HDACs dessa subclasse, a depender do sinal, HDACs4 podem se deslocar entre o núcleo e citoplasma da célula, e a localização subcelular é essencial para adaptações fisiológicas e patológicas. Em neurônios piramidais é mais caracterizada a exportação de HDACs H2A pela atividade sináptica, impactando negativamente na desacetilação nuclear (SANDO *et al.*, 2012).

Para Liao *et al.*, (2018), os mecanismos envolvidos com HDAC2 (histona desacetilase 2) aumentada na dor crônica, promovem a liberação de citocinas inflamatórias que ativam a via de sinalização JNK (c-Jun N-terminal quinase) que suprime expressão MOR (receptor mu opioide). Até o momento a HDAC4 é a única H2A que possui quinase associada a dor crônica com sítio de encaixe específico CaMKII (proteína quinase II alfa dependente de cálcio/calmodulina) (DI GIORGIO; BRANCOLINI, 2016).

Micro RNAs não são considerados como mecanismos epigenéticos clássicos, mas possuem capacidade de regulação da expressão gênica, portanto alguns autores consideram que os miRNAs sejam capazes de mediar alterações epigenéticas (CROW; DENK; MCMAHON, 2013). São moléculas pequenas de 22 nucleotídeos aproximadamente e produzidas endogenamente, que se ligam a mRNAs alvo com complementaridade imperfeita e acabam por inibir a tradução, regulando negativamente as proteínas alvo (WANG *et al.*, 2017).

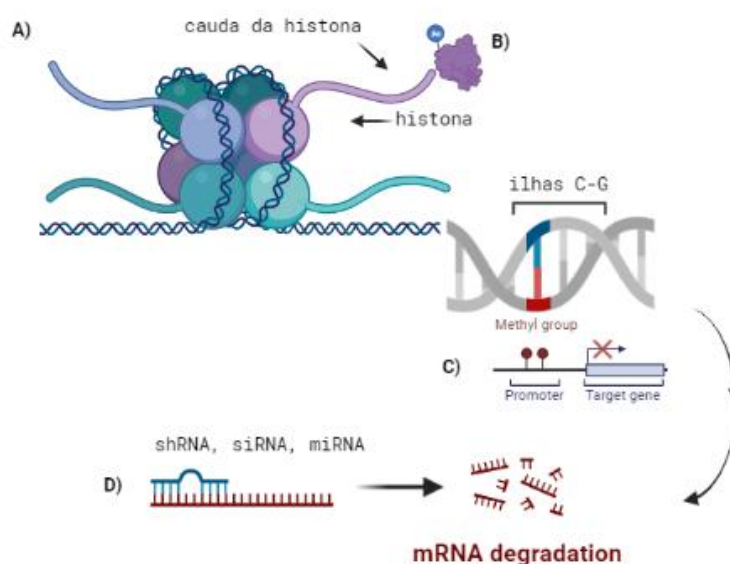
Os achados de Zhu *et al.* (2021), baseados em um perfil multi ômico de dor crônica induzida por CFA em animais modelo (ratos), foram consistentes com a hipótese de que tanto a metilação do miRNA como do DNA regula a transcrição do mRNA.

Foi relatado ainda, um novo mecanismo epigenético em modelos de ratos, envolvendo miRNA (micro RNA) e circRNA (RNA Circularizado), cuja interação regula a nociceção e pode estar envolvida no desenvolvimento e manutenção de processos de dor inflamatória crônica (PAN *et al.*, 2019). Em outro estudo anterior,

Pan *et al.*, (2014) revelam uma correlação significativa entre a dor inflamatória crônica e a expressão do miRNA – 219. Os miRNAs não codificam proteínas mas há indícios de que participam da regulação de mecanismos capazes de interferir na sinalização da dor (PEREIRA *et al.*, 2017).

A Figura 1 esquematiza os mecanismos epigenéticos clássicos de acetilação de caudas de histonas e metilação de DNA, assim como o mecanismo regulatório por miRNA que foram descritos neste tópico.

Figura 1 - Mecanismos envolvidos na epigenética



Mecanismos epigenéticos
 A) Nucleossomo. B) Acetilação de caudas de histonas. C) Metilação de nucleotídeos de citosina. D) Outros mecanismos regulatórios pós-transcricionais.

Created in BioRender.com

Fonte: Adaptado de Buchheit; Van de Ven; Shaw, (2012, p.1477).

2.1.5 Relação da Epigenética com a Dor Crônica

As condições de dor crônica são extremamente heterogêneas, pois, sintomas semelhantes podem ser originários de diferentes mecanismos biológicos, mas sintomas diferentes podem ser originários do mesmo mecanismo, isso torna difícil o consenso em estudos da genética da dor. Outra lacuna a ser considerada

sobre este tema manifesta-se pelas alterações produzidas pelo ambiente ao longo da vida do indivíduo, que podem ser responsáveis por pelo menos metade das mudanças na percepção de dor e na prevalência dela, sugerindo a influência duradoura do ambiente sobre o genoma através da epigenética (CROW; DENK; MCMAHON, 2013).

Independente da localização no sistema nervoso, os mediadores, que contribuem para sinalização de dor, a transcrição e tradução dos genes que os expressam, são em grande parte epigeneticamente controlados (WANG; STEFANO; KREAM, 2014).

A reprogramação do epigenoma, de forma persistente, leva a alterações na expressão gênica comumente relatadas em vários distúrbios neurológicos, inclusive na dor crônica. Períodos de atividade neural excessiva devido a lesões nervosas, exposição a componentes tóxicos ou ainda provocados por doenças crônicas ativas podem levar a reprogramação epigenética em neurônios (LIPSCOMBE; LOPEZ-SOTO, 2021).

O padrão de metilação do DNA e acetilação de histonas pode ser alterado por fatores ambientais, assim como por condições patológicas. Na acetilação, a transcrição do gene é aumentada, porque ocorre descondensação da estrutura da cromatina tornando o gene mais disponível para atividade transcricional. As alterações mal adaptativas e de longo prazo que podem ser induzidas pela dor crônica, sugerem mecanismos de modulação epigenéticos na plasticidade sináptica e formação de memória, além de causar distúrbios emocionais como depressão, estresse e ansiedade. Estudos demonstram que alterações na metilação do DNA e nas histonas provocadas pela dor sustentada contribuem para transição da dor aguda para dor crônica. (ZHANG *et al.*, 2011).

É possível que a Dnmt3a2 favoreça a transição da dor aguda para crônica, através de processos transcricionais de aprendizado evoluindo para sensibilização central (OLIVEIRA *et al.*, 2019). A localização celular de HDAC2 em neurônios no corno dorsal da medula indica que esta histona desacetilase está envolvida na desativação do MOR, provocando sensibilização central e a dor crônica (LIAO *et al.*, 2018).

Na análise da metilação do DNA, Stenz *et al.* (2022) constataram que as alterações epigenéticas envolvidas na dor nociceptiva afetam a função do sistema de modulação opoíde, enquanto que na dor neuropática essas alterações estão

associadas ao sistema GABAérgico portanto, com respostas epigenéticas diferenciadas para as diferentes manifestações clínicas.

A hipometilação do DNA provocada por lesão nervosa mantém neurônios sensoriais hiperativos, alterando a assinatura epigenética e contribuindo para sustentar estados de dor neuropática crônica (GARRIGA *et al.*, 2018).

2.1.6 Maneiras de Impedir a Metilação do DNA e Acetilação dos Genes Relacionados com a Dor Crônica

Terapias desenvolvidas, através do conhecimento dos mecanismos celulares que manipulam a expressão dos genes, para reverter ou normalizar a reprogramação epigenética provocada por lesões que induzem a dor crônica podem prevenir a metilação do DNA e contribuir para regularizar a atividade de proteínas e resposta a medicamentos (LIPSCOMBE; LOPEZ-SOTO, 2021).

Agentes terapêuticos HDACis (histonas desacetilases inespecíficos) são utilizados na terapia para o câncer com o objetivo manter o equilíbrio entre acetilação e desacetilação, e ativar os genes que suprimem o crescimento e invasão de tumores. Porém, como afetam a regulação de múltiplos genes, há elevadas chances de ocorrerem efeitos colaterais. Também há evidências de que na dor inflamatória e neuropática ocorre analgesia devido a produção reduzida de citocinas inflamatórias como TNF- α (Fator de Necrose Tumoral alfa) e IL-1 β (Interleucina 1beta) como efeito clínico do uso de HDACs, assim como foram estudados os efeitos secundários sobre induzir o crescimento neural e melhora da memória em doenças degenerativas (BUCHHEIT; VAN DE VEN; SHAW, 2012).

Bai, Ren, Dubner (2015), relatam em sua revisão, que todos os estudos de dor inflamatória, apontam para HDACi (inibidores de histonas desacetilases), com consequente aumento na acetilação de histonas, como analgésicos no circuito da dor. Uma complicação para este tipo de terapia é que o uso de HDACs não seletivos para histonas podem exercer efeitos não epigenéticos e desacetilar outros alvos no citoplasma. Acredita-se que HDACs de classe II tenham padrão de expressão mais restrito que os de Classe I, porém, para HDACs de classe II ainda não foi desenvolvido nenhum inibidor específico (CROW; DENK; MCMAHON, 2013). Os HDACs de Classe I (HDAC1 e HDAC2) e os HDACs de Classe II (HDAC4 e HDAC5) são intensamente expressos no sistema nervoso (LAUMET *et al.*, 2015).

O tratamento com doador de metil, SAM (S-adenosil metionina), restituiu as alterações na metilação do DNA, no córtex pré-frontal de ratos, resultantes de processos de dor crônica e também revelou genes e vias gênicas associados a dor crônica (TOPHAM *et al.*, 2021).

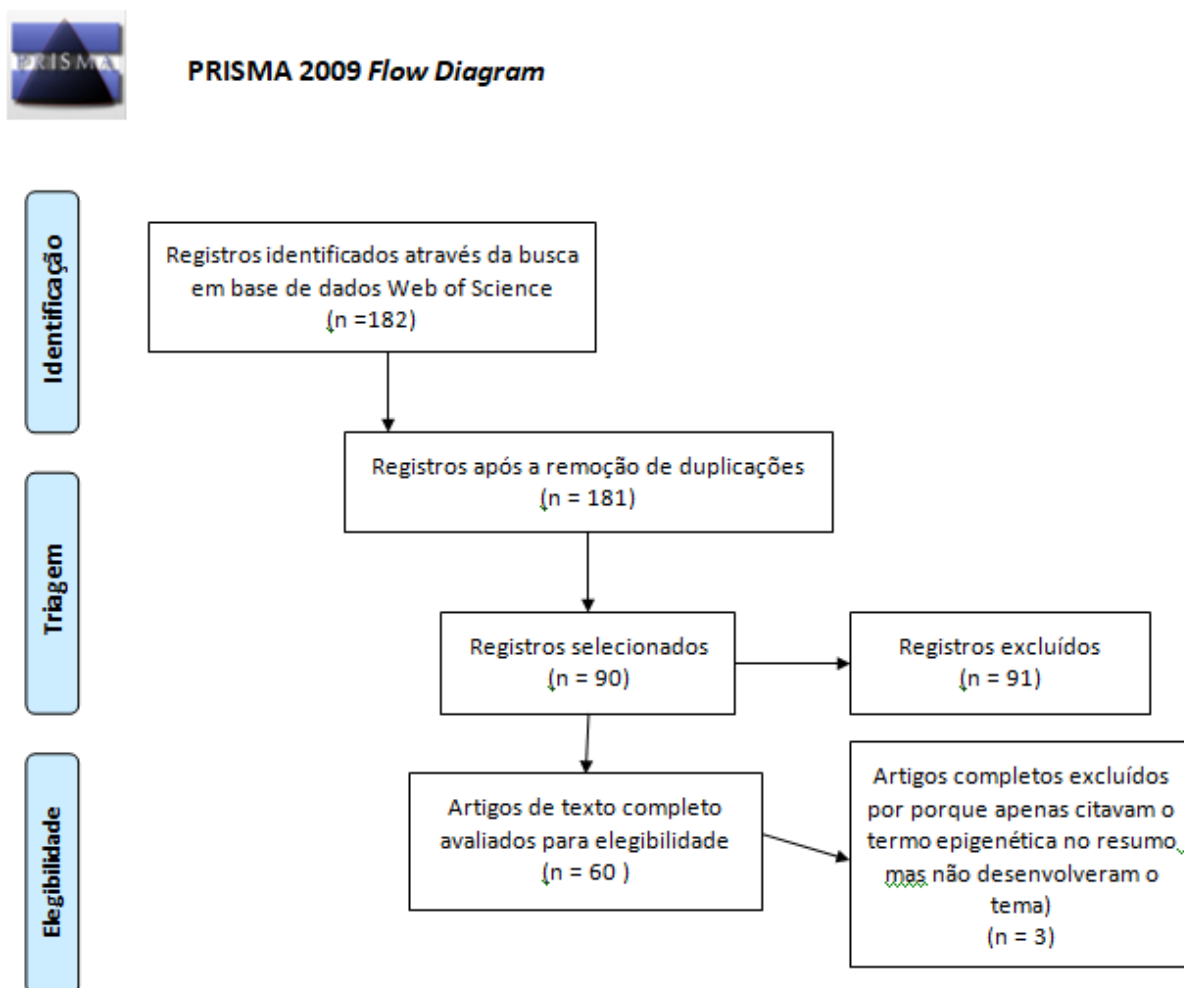
Garriga *et al.* (2018), sugerem monitoramento nos níveis de ingestão de vitamina B12 e folato em pacientes predispostos a desenvolver dor neuropática crônica, uma vez que sua deficiência pode contribuir para o desenvolvimento da dor crônica, já que as funções das células imunes e da glia podem ser afetadas.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Revisão Sistemática de Literatura

A pesquisa foi realizada exclusivamente na *Base Web of Science (WoS) / Coleção Principal (Clarivate Analytics)*, até 13 de março/22, pelas seguintes palavras chave e operadores booleanos: “*epigenetic*” AND “*chronic pain*”, considerando-se artigos desde 1945. Foram obtidos 182 registros entre os anos de 2003 e 2022. Após refinamento realizado, através da leitura de todos os resumos e seleção dos trabalhos que abordam o tema, obteve-se 89 registros, dos quais foram selecionados 60 pela disponibilidade do texto integral gratuito da editora, após revisão cienciométrica e leitura de todos os artigos, na íntegra, outros 3 artigos foram excluídos da seleção porque apenas mencionavam os termos da pesquisa no resumos mas no restante do texto o tema não foi desenvolvido, o fluxo de obtenção dos dados para inclusão na cienciométrica pode ser observado na Figura 2 do modelo Flow Chart do Prisma. Dos 57 artigos restantes, 13 são artigos de revisão. Todos os registros selecionados foram incluídos na lista de itens marcados *Web of Science*.

Figura 2 - *Flow Chart* do prisma contendo o fluxo de obtenção dos dados para inclusão na cienciometria



Fonte: <http://www.prisma-statement.org/>

2.2.2 Cienciometria

Na análise cienciométrica da lista de itens marcados, foi utilizada a ferramenta “Criar Relatório de Citação” da base WoS. A opção “Relatório de Citações” forneceu informações como fator H, número de citações e publicações ao longo do tempo, e também foi possível classificar as publicações por ordem de mais citadas. A opção “analisar resultados” forneceu informações como área do conhecimento, principais revistas, países, autores, entre outras. Ainda, a lista de itens marcados foi exportada em arquivo texto, armazenada e nomeada da seguinte forma: *download.txt*.

Os dados exportados da lista marcada WoS em formato .txt foram salvos em uma pasta nomeada “dados” para serem carregados para o programa *CiteSpace* versão 6.2.R2 *Basic*, disponível em <https://citespace.podia.com/download>. No programa foi criado um projeto denominado TccBiomol e foi selecionada, no diretório, a pasta dados que continha o arquivo *download.txt*. Também foi criada uma pasta denominada “projeto”, e selecionada no diretório, na qual o programa depositou todas as visualizações criadas que foram salvas.

Como recurso adicional foi utilizado o mapa do programa *Microsoft Power BI* para exibir as regiões do globo que publicaram sobre o tema no período de pesquisa. Uma ferramenta *web* que permite criar visualizações, denominada *Infogram*, foi outro recurso utilizado adicionalmente para a elaboração da nuvem de palavras-chave. Também foi utilizado o programa *BioRender*, ilustrador com imagens cientificamente precisas, para criar as figuras ilustrativas e esquemas.

2.2.3 Bioinformática

Na análise de bioinformática, as enzimas, proteínas e grupos de moléculas envolvidos nos processos epigenéticos de cronificação da dor, foram listados em um quadro, contendo ID no NCBI dos genes envolvidos, seus reguladores e o papel na dor crônica. Para detecção de regiões diferencialmente metiladas os seguintes programas poderiam ser utilizados, caso os autores tivessem disponibilizado sequências de transcriptoma obtidas nos estudos: Metileno, Bseq e/ou Camel, e MethylSeekR na segmentação de metilomas (WÖSTE *et al.*, 2020).

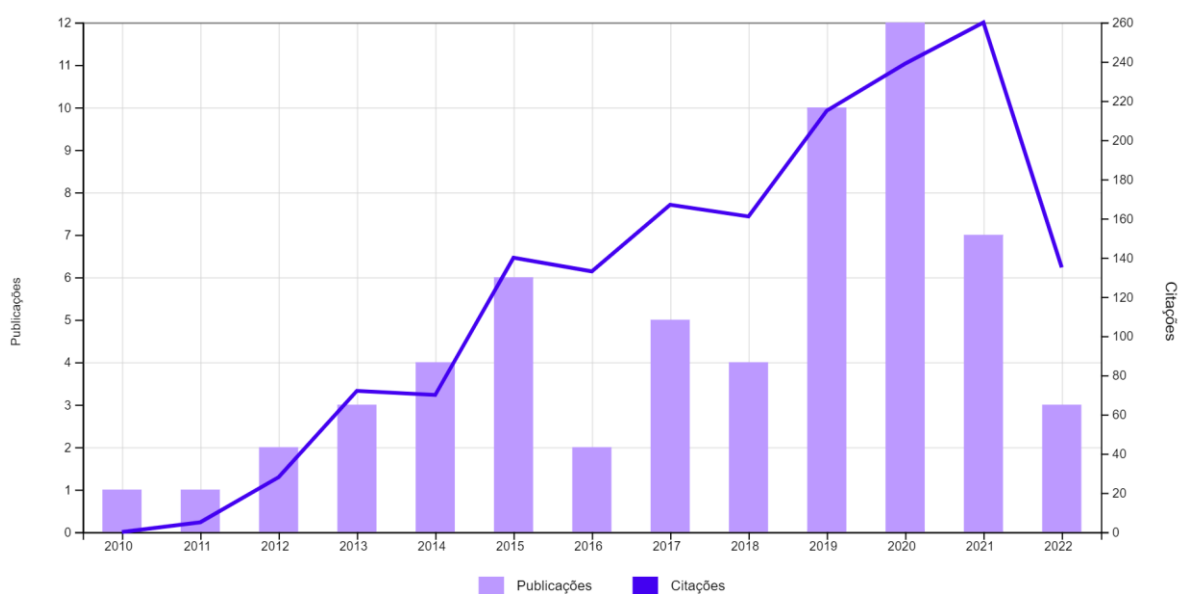
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Resultados

3.1.1 Distribuição Temporal dos Artigos e Citações

Foram selecionados previamente 60 artigos e os dados foram analisados pelas ferramentas disponíveis na base WoS como mostra o Gráfico 1. A quantidade de publicações sobre o tema dor crônica e epigenética mostrou uma tendência ascendente. As primeiras publicações surgem apenas em 2010, tendo ocorrido publicações anualmente, embora o volume de publicações demonstre que a temática ainda esteja em fase de desdobramento. O número de publicações aumentou constantemente até 2015 com leve declínio entre os anos de 2016 a 2018 e retomada nos anos de 2019 e 2020 quando atingiu o ponto mais alto com 12 publicações. Em 2021 ocorre novamente um leve declínio e 2022 até a data da busca, 13 de março/22, já contava com 3 publicações. Em contrapartida o número de citações manteve-se em crescimento até o ano de 2021, com período de estabilidade entre 2013 e 2014 e leves declínios em 2016 e 2018, independente do pequeno volume de publicações nestes dois anos.

Gráfico 1 - Número de artigos citados e publicados entre os anos de 2010 e 2022.



Fonte: *Web of Science (2022)*

3.1.2 Distribuição de Países e Instituições

O total de 60 publicações, previamente selecionado sobre a temática, está distribuído em 25 países e os autores afiliados em 193 instituições. Na Tabela 1 estão listados os 10 principais países e instituições com maior número de publicações. Os países com maior número de artigos publicados são: Estados Unidos e China com 48% e 25% respectivamente. Dentre as instituições, as com maior produtividade são *League of European Research Universities* (LERU) com 16,67% e *McGill University* e *University of London* com 10% das publicações.

No mapa da Figura 3, os tamanhos dos círculos representam a produção de publicações nos continentes, e a Figura 4 apresenta a distribuição das publicações pelas instituições, o tamanho da fonte destaca as que possuem maior volume de publicações.

Tabela 1 - Top 10 países em número de artigos e instituições com mais publicações

Países/Regiões	Contagem do registro	% de 60	Centralidade	Afiliações	Contagem do registro	% de 60	Centralidade
Estados Unidos da América	29	48,33 %	0.80	<i>League of European Research Universities LERU</i> (Europa)	10	16,67%	0.27
China	15	25,00 %	0.26	<i>McGill University</i> (Canadá)	6	10,00%	0.01
Inglaterra	9	15,00 %	0.15	<i>University of London</i> (Inglaterra)	6	10,00%	0.00
Canadá	8	13,33 %	0.49	<i>Duke University</i> (EUA)	5	8,33%	0.08
Alemanha	6	10,00 %	0.04	<i>King's College London</i> (Inglaterra)	4	6,67%	0.01
Itália	4	6,67%	0.32	<i>Najing Medical University</i> (China)	4	6,67%	0.05
Suíça	4	6,67%	0.00	<i>Xuzhou Medical University</i> (China)	4	6,67%	0.00
Dinamarca	3	5,00%	0.18	<i>Nantong University</i> (China)	3	5,00%	0.00
Austrália	2	3,33%	0.59	<i>Ruprecht Karls University Heidelberg</i> (Alemanha)	3	5,00%	0.00
Bélgica	2	3,33%	0.06	<i>University College London</i> (Inglaterra)	3	5,00%	0.00

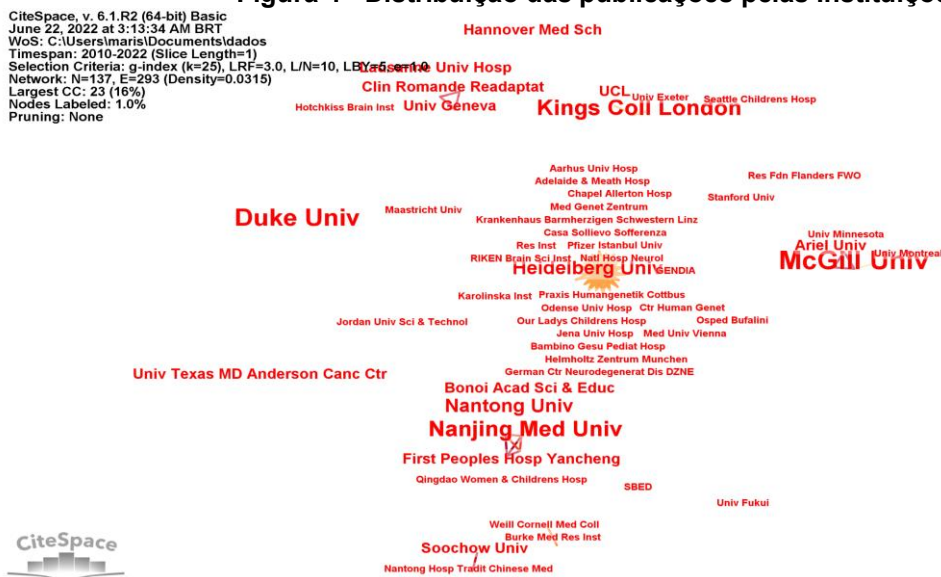
Fonte: *Web of Science* (2022)

Figura 3 - Distribuição das publicações pelos continentes



Fonte: Web of Science (2022)

Figura 4 - Distribuição das publicações pelas Instituições



Fonte: CiteSpace (2022)

3.1.3 Distribuição de Autores

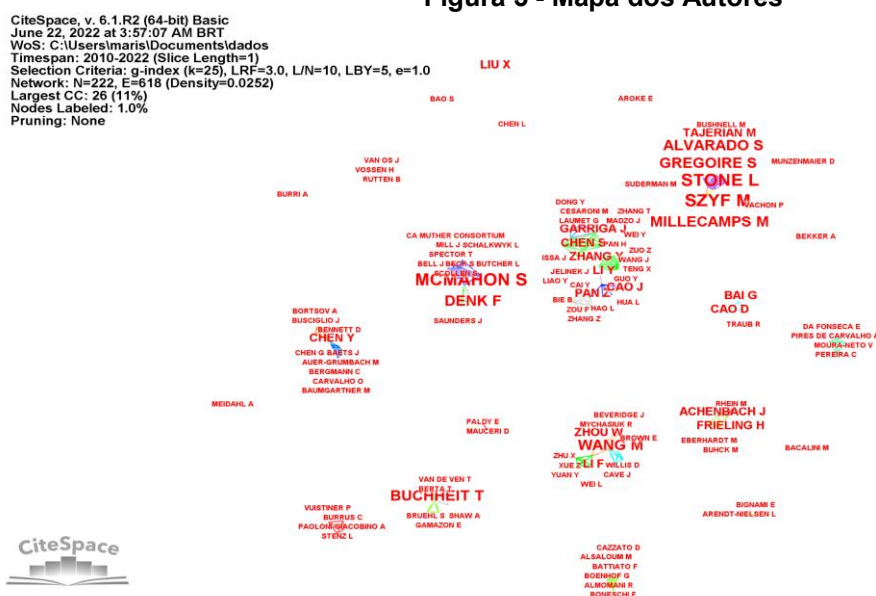
Esta pesquisa envolveu um total de 417 autores, os 10 principais estão apresentados na Tabela 2. Moshe Szyf, obteve o maior número de publicações, seguido de Magali Millecamps e Laura S. Stone. No mapa de visualização dos autores da Figura 5 o tamanho da fonte é proporcional ao número de artigos publicados, os grupos representam as cooperações entre os autores. Os autores com maior cooperação estão categorizados em redes maiores, uma das quais composta por Judit Garriga, Shao-Rui Chen, Yuhao Zhang, Yun-Qing Li, Jun-Li Cao e Zhigiang Pan, etc.

Tabela 2 - Top 10 autores em número de publicações

Autores	Contagem do registro	% de 60	Centralidade
Szyf M	6	10,00%	0.00
Millecamps M	5	8,33%	0.00
Stone LS	5	8,33%	0.00
Alvarado S	3	5,00%	0.00
Buchheit T	3	5,00%	0.00
Denk F	3	5,00%	0.00
Gregoire S	3	5,00%	0.00
Mcmahon SB	3	5,00%	0.00
Tajerian M	3	5,00%	0.00
Van De Ven T	3	5,00%	0.00

Fonte: *Web of Science (2022)*

Figura 5 - Mapa dos Autores

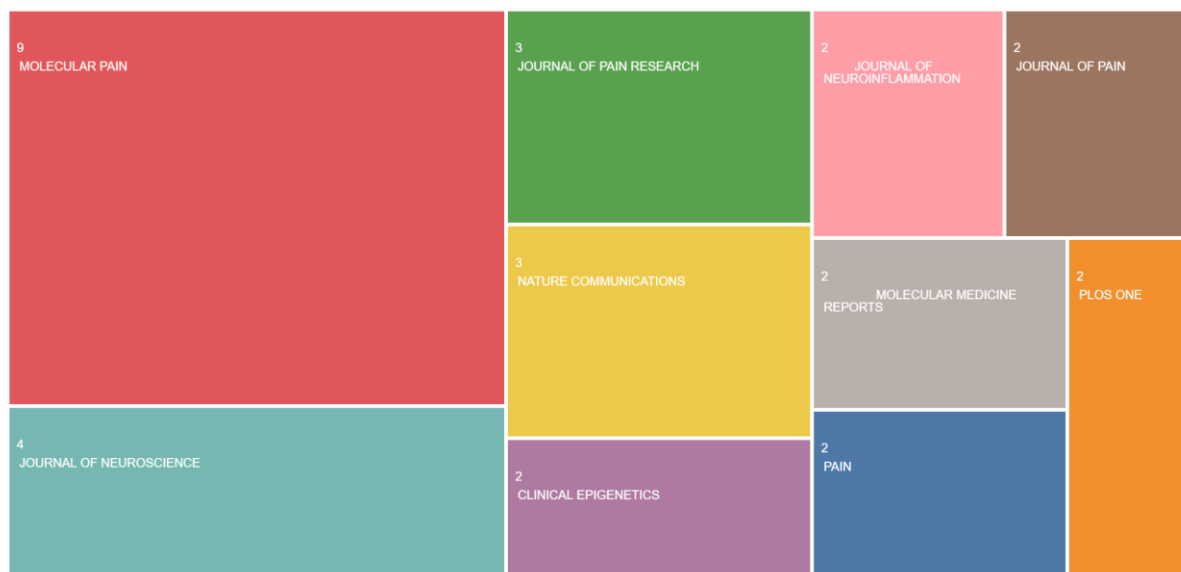


Fonte: CiteSpace (2022)

3.1.4 Distribuição de Periódicos

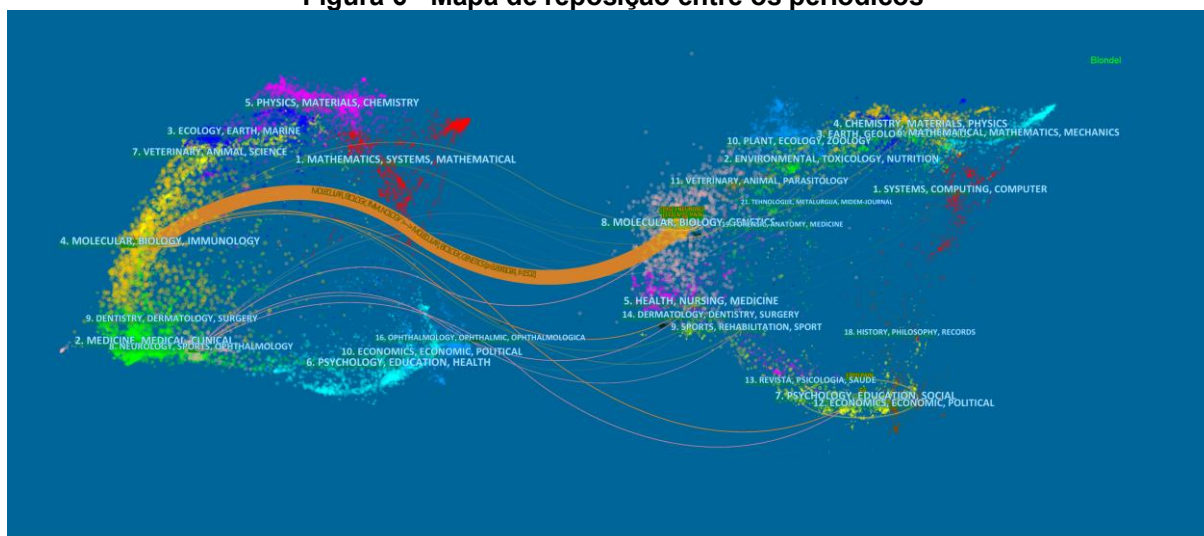
Os 60 artigos, previamente selecionados, foram publicados em 39 periódicos distintos. Os Top 10 estão demonstrados no Gráfico 2 (mapa de árvore *Web of Science*). *Molecular Pain*, fator de impacto ano 2021 de 3.370, tem o maior número de publicações, seguida do *Journal of Neuroscience*, fator de impacto ano 2021 de 6.709. Das top 10 revistas, a que possui maior fator de impacto é *Nature Communications* com 17.694 ano 2021, dados disponíveis na ferramenta *Journal Citation Reports* do *Clarivate* em <https://jcr-clarivate.ez48.periodicos.capes.gov.br/jcr/browse-journals>. O número de vezes que a revista é citada, reflete se ela tem influência significativa sobre determinada temática. *PLoS One* é o periódico mais citado, com 944.441 citações por todos os periódicos incluídos no banco de dados no ano 2021 na ferramenta *Journal Citation Reports*. O mapa de sobreposição da Figura 6, mostra do lado esquerdo as publicações científicas referentes as disciplinas e as influências que elas exercem à direita. A linha mais densa em laranja, simplifica a visualização, destacando as conexões estatisticamente mais significativas, conectando a educação nos temas MOLECULAR, BIOLOGY e IMMUNOLOGY cuja publicação nestas revistas, citam revistas dos temas MOLECULAR, BIOLOGY e GENETICS.

Gráfico 2 - Top 10 periódicos e o número de publicações de cada periódico



Fonte: Web of Science (2022)

Figura 6 - Mapa de reposição entre os periódicos



Fonte: CiteSpace (2022)

3.1.5 Citação de Referências e *Burst*

O índice H da pesquisa obtido no relatório de citações WoS foi H-index 20, demonstrando que os pesquisadores possuem em média 20 artigos publicados e que os mesmos foram citados 20 vezes ou mais cada um. Os top 10 artigos mais citados estão listados na Tabela 3. A referência mais frequentemente citada com 190 citações foi *Epigenetic suppression of GAD65 expression mediates persistent*

pain. A referência com um explosão de citações (*Burst*) está demonstrada na Figura 7, o intervalo de tempo está identificado pela linha azul, e está compreendido entre os anos de 2016 e 2020, abrangendo estes 4 anos, o início e fim do intervalo estão destacados em vermelho. E o valor 2,94 representa a força de influência durante o período.

Tabela 3 - Top 10 artigos mais citados

Título	Ano de Publicação	Total de Citações
<i>Epigenetic suppression of GAD65 expression mediates persistent pain</i>	2011	190
<i>Chronic Pain: Emerging Evidence for the Involvement of Epigenetics</i>	2012	169
<i>G9a is essential for epigenetic silencing of K+ channel genes in acute-to-chronic pain transition</i>	2015	101
<i>Differential methylation of the TRPA1 promoter in pain sensitivity</i>	2014	90
<i>Transcriptional regulator PRDM12 is essential for human pain perception</i>	2015	88
<i>Peripheral Nerve Injury Is Associated with Chronic, Reversible Changes in Global DNA Methylation in the Mouse Prefrontal Cortex</i>	2013	88
<i>Epigenetic regulation of chronic pain</i>	2015	86
<i>Epigenetics and the Transition from Acute to Chronic Pain</i>	2012	80
<i>Epigenetic Modification of Spinal miR-219 Expression Regulates Chronic Inflammation Pain by Targeting CaMKII gamma</i>	2014	70
<i>Peripheral nerve injury is accompanied by chronic transcriptome-wide changes in the mouse prefrontal cortex</i>	2013	59

Fonte: *Web of Science* (2022)

Figura 7 - Top 1 referência com explosão de citações



Fonte: *CiteSpace* (2022)

3.1.6 Distribuição de Palavras-chave

Foram obtidas 206 palavras-chave nos 60 artigos, previamente selecionados. A nuvem de palavras da Figura 8 mostra as 58 palavras diferentes que aparecem duas vezes ou mais. As top 12 palavras-chave, que aparecem 5 vezes ou mais estão listadas na Tabela 4 com suas determinadas frequências e centralidade. Foram localizados 13 clusters formando a base intelectual deste campo de investigação, os quais representam os pontos fortes e as frentes de

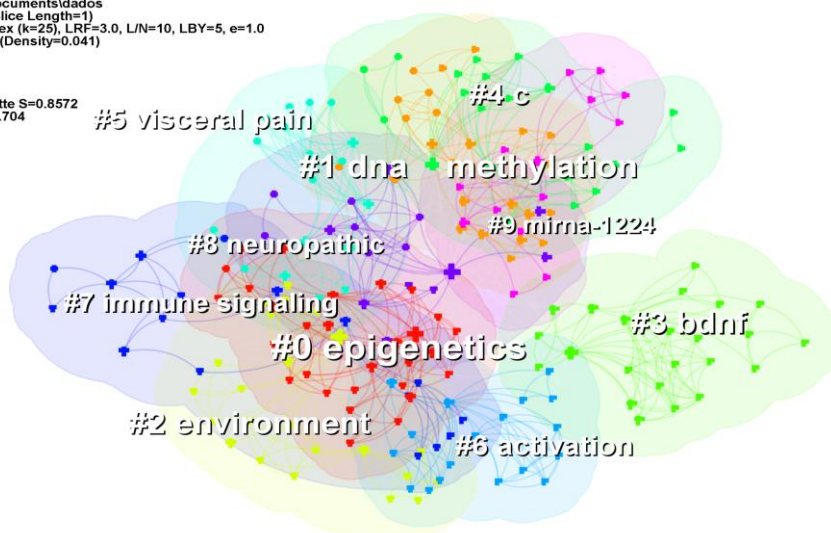
Tabela 4 - Palavras-chave e frequências

Frequência	Burst	Centralidade	Palavras-chave
22		0.41	<i>dna methylation</i>
21		0.27	<i>neuropathic pain</i>
18		0.21	<i>Expression</i>
10		0.35	<i>chronic pain</i>
10		0.35	<i>Mechanism</i>
7		0.07	<i>spinal Cord</i>
6		0.01	<i>Gene</i>
5	1.70	0.08	<i>histone deacetylase inhibitor</i>
5		0.20	<i>dorsal root ganglion</i>
5	1.36	0.11	<i>cpg binding protein 2</i>
5		0.02	<i>persistent pain</i>
5		0.04	<i>central sensitization</i>

Fonte: CiteSpace (2022)

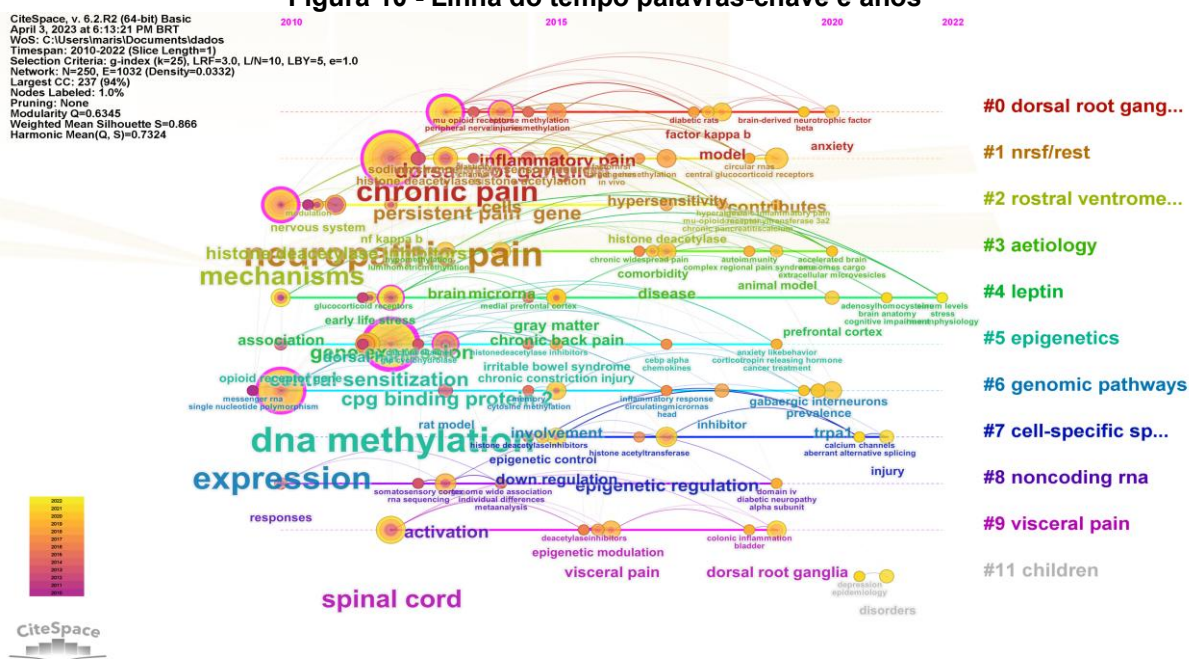
Figura 9 - Clusters por palavras-chave

CiteSpace, v. 6.1.R2 (64-bit) Basic
 June 23, 2022 at 3:44:24 PM BRT
 WoS: C:\Users\maris\Documents\dados
 Timespan: 2010-2020 (Slice Length=1)
 Selection Criteria: g-index (k=25), LRF=3.0, L/N=10, LBY=5, e=1.0
 Network: N=206, E=865 (Density=0.041)
 Largest CC: 203 (98%)
 Nodes Labeled: 1.0%
 Pruning: None
 Modularity Q=0.5972
 Weighted Mean Silhouette S=0.8572
 Harmonic Mean(Q, S)=0.704



Fonte: CiteSpace (2022)

Figura 10 - Linha do tempo palavras-chave e anos



Fonte: CiteSpace (2023)

3.1.7 Caracterização de Genes Envolvidos nos Processos de Dor Crônica

O Quadro 1 foi elaborado a partir dos dados obtidos na revisão de literatura tópico 2.1.2, referenciando os genes que codificam enzimas ou proteínas citados pelos autores nos artigos selecionados na lista marcada Web of Science, com possível envolvimento no processo de transição da dor aguda para crônica.

Quadro 1 - Lista de Genes que codificam enzimas ou proteínas citados pelos autores

GENE	ID NCBI	ORGANISMO	REGULAÇÃO	PAPEL NA DOR	REFERÊNCIA
AP-1	24516	<i>Rattus spp</i>	miRNAs	Promove alívio da dor na sua inibição.	(ZHU et al., 2021)
BDNF	627	<i>Homo sapeins</i>	Acetilação histonas H3 e H4 (influência indireta miR-30a-3p)	Promove a dor neuropática se regulado para cima.	(PAOLONI-GIACOBINO et al., 2020; TAN; SHEN; HOU, 2020; VOSSEN et al., 2010)
Cacna1b	257648	<i>Rattus spp</i>	Splicing alternativo do e37a	Controla liberação de neurotransmissores dos neurônios.	(LIPSCOMBE; LOPEZ-SOTO, 2021)

GENE	ID NCBI	ORGANISMO	REGULAÇÃO	PAPEL NA DOR	REFERÊNCIA
CaMKIIγ	171140	<i>Rattus spp</i>	miRNA-219	Mediador da sensibilização central.	(PAN et al., 2014)
Ccl2	24770	<i>Rattus spp</i>	miR-325-5p	Modulado negativamente na dor visceral.	(WU et al., 2019)
Cica1	308015	<i>Rattus spp</i>	Alterações epigenéticas.	Implicado na morte e reorganização neuronal no cortex pré frontal.	(ALVARADO et al., 2013)
COMT	1312	<i>Homo sapiens</i>	Alterações epigenéticas.	Altera limiar de dor e estados emocionais.	(CHRISTENS EN et al., 2021; VOSSEN et al., 2010)
Cxcr3	84475	<i>Rattus spp</i>	Metilação do DNA	Favorece a sensibilização central.	(JIANG et al., 2017)
Cxcr4	60628	<i>Rattus spp</i>	Hipometilação do DNA na região promotora do gene	Pode estar envolvido no desenvolvimento da hiperalgesia.	(LI et al., 2018)
DRD2	1813	<i>Homo sapiens</i>	Alterações epigenéticas.	Favorece aparecimento de distúrbios emocionais em pacientes com dor crônica.	(CHRISTENS EN et al., 2021)
FKBP5	2289	<i>Homo sapiens</i>	Alterações epigenéticas.	Estimula estados de dor crônica.	(GÉRANTON, 2019)
Gad65	24380	<i>Rattus spp</i>	Acetilação histonas H3	Interfere na síntese de GABA.	(ZHANG et al., 2011)
Gal1r, Gabbr2, Grm7, Gpr158, Chrm2, Chrm3, Cnr1, Oprl1, Oprm1, Mrgpre	2587, 83633, 81672, 291352, 81645, 24260, 25248, 29256, 25601, 404660	<i>Rattus spp</i>	Alterações epigenéticas na acessibilidade da cromatina.	Alteram limiar da dor e geram potencial de ação anormal.	(STEPHENS et al., 2021)

GENE	ID NCBI	ORGANISMO	REGULAÇÃO	PAPEL NA DOR	REFERÊNCIA
Grin1, Nrg1, Asic3, Gabrr1, Scn10a, Ramp1, Myd88, Trpv1, Tnf	24408, 112400, 286920, 29694, 29571, 58965, 301059, 83810, 24835	<i>Rattus spp</i>	Alterações epigenéticas.	Regulam neurotransmissores e atividade e tráfego de canal iônico.	(TAJERIAN et al., 2013; TOPHAM et al., 2020)
Htr2a, Htr2b, Ptger4, Mrgprx1	29595, 29581, 84023, 282547	<i>Rattus spp</i>	Regulação negativa em condições clínicas de dor neuropática	Alteram limiar da dor e geram potencial de ação anormal.	(STEPHENS et al., 2021)
Kcna4, Kcnd2, Kcnq2, Kcnma1	25469, 65180, 170848, 83731	<i>Rattus spp</i>	Enzima histona-lisina N - metiltransferase -2 (G9a).	Genes canal Kv (Potássio dependente de voltagem) tem sua expressão reduzida na lesão nervosa.	(LAUMET et al., 2015)
krt20	286912	<i>Rattus spp</i>	Alterações epigenéticas.	Participa das vias funcionais do ciclo e proliferação celular, na lesão nervosa.	(ALVARADO et al., 2013)
LEP	3952	<i>Homo sapiens</i>	Metilação do promotor.	Demonstrou papel na dor neuropática crônica	(ACHENBACH et al., 2022; WILKINSON et al., 2007)
mGluR2, mGluR3	24415, 24416	<i>Rattus spp</i>	Inibidores HDAC	Hipersensibilidade visceral.	(CAO et al., 2016)
Myot, Ca3, Tnnc2, Ankrd23, Eno3, Casq1, Tpm2, Pygm, RT1-Da, Des	291605, 54232, 296369, 316330, 25438, 686019, 500450, 24701, 294269, 64362	<i>Rattus spp</i>	Alterações epigenéticas.	Envolvidos na função e manutenção dos músculos esqueléticos.	(STEPHENS et al., 2021)
NAV1, KIF11	89796, 3832	<i>Homo sapiens</i>	Alterações epigenéticas.	Pode afetar o desenvolvimento e transmissão de nociceptores.	(AROEKE et al., 2020)
NGF	310738	<i>Rattus spp</i>	Regulação positiva do gene por meio da desmetilação pela DNMT3b	Regulado positivamente na dor inflamatória induzida por CFA	(YUAN et al., 2020)

GENE	ID NCBI	ORGANISMO	REGULAÇÃO	PAPEL NA DOR	REFERÊNCIA
OPRm1	4988	<i>Homo Sapiens</i>	Alterações epigenéticas.	Sistema opióide de analgesia endógena com expressão alterada em dor nociceptiva.	(LIAO et al., 2018; STENZ et al., 2022; VOSSEN et al., 2010)
PRDM12	59335	<i>Homo sapiens</i>	Reguladores epigenéticos	Controlam a especificação neural e neurogênese	(CHEN et al., 2015)
RAB10, LRRC59, BMP1, PNPLA6, P3H3	10890, 55379, 649, 10908, 10536	<i>Homo sapiens</i>	Hipo e hipermetilação	Alterações em estados de dor nociceptiva.	(STENZ et al., 2022)
Reg3a, Reg3b	171162, 24618	<i>Rattus spp</i>	Alterações epigenéticas no gânglio da raiz dorsal (DRG)	Criticamente relacionadas com a regulação de processos inflamatórios.	(ZHU et al., 2021)
REST 1	5978	<i>Homo sapiens</i>	A repressão da transcrição do gene neuronal pela proteína de ligação REST 1, recruta cofatores de modificação da cromatina HDACs e G9a	Repressor único para muitos genes para sobrevivência neural, crescimento de axônios, plasticidade sináptica, transporte vesicular e condutância iônica.	(GERVASI et al., 2021; WILLIS et al., 2016)
robo3, krt20, xlr4b (RNA não codificador)	315564, 286912, 27083	<i>Rattus spp</i>	Regulação positiva na dor neuropática	Sugere alteração na regulação dos genes envolvidos no crescimento neuronal.	(ALVARADO et al., 2013)
Slc22a6	29509	<i>Rattus spp</i>	Inibição regulada por HDAC4	Codifica transportador de ânion orgânico (OAT1) em neurônios do corno dorsal da medula, considerado um modulador da dor.	(LITKE et al., 2022; SANDO et al., 2012)

GENE	ID NCBI	ORGANISMO	REGULAÇÃO	PAPEL NA DOR	REFERÊNCIA
Syt2 (Sinaptotagmina II)	24805	<i>Rattus spp</i>	Alterações epigenéticas	Participa no encaixe e fusão de vesículas sinápticas e trabalha como um sensor de cálcio para liberação rápida de neurotransmissores.	(ALVARADO et al., 2015)
Tet3	680576	<i>Rattus spp</i>	Alterações epigenéticas	Promovem a hidroxilação de 5mC em 5hmC que é amplamente aumentada após lesão nervosa.	(CHAMESSIAN et al., 2017)
TRPA1	8989	<i>Homo sapiens</i>	Metilação do DNA na região promotora do gene.	Associação com intensidade de dor neuropática e sensibilidade mecânica à dor.	(ACHENBACH et al., 2019; BELL et al., 2014; TAKENAKA et al., 2020)
Wipf2, Rrp8, Xdh ou Sprr2d	360620, 308911, 497811 ou 102550699	<i>Rattus spp</i>	Metilação do DNA por longo período de tempo.	Podem codificar uma memória persistente da lesão inicial no genoma.	(TOPHAM et al., 2020)
Wnt3	24882	<i>Rattus spp</i>	Alterações epigenéticas	Função sinalizadora envolvida no desenvolvimento e manutenção da dor neuropática crônica.	(FENG et al., 2015)

Fonte: Autoria Própria (2022)

Ficou evidenciado no Quadro 1 que há uma variedade de genes ou grupos de genes candidatos, ao envolvimento nos processos de dor crônica. Os genes citados quase não se repetem entre os estudos, sendo investigados genes específicos, mas raramente o genoma completo. É possível observar também que na maioria dos estudos os autores se utilizam de testagem em ratos.

Alguns autores disponibilizaram link para consulta de material suplementar, porém, nos materiais disponíveis não foi localizado nenhum transcriptoma que possibilitasse a comparação de regiões diferencialmente metiladas com genoma de referência.

3.2 Discussões

3.2.1 Informações Gerais

A partir das informações geradas pelo *CiteSpace* e *Web of Science* foi realizado um estudo cienciométrico, de 11 anos completos de literatura científica, sobre epigenética e dor crônica para medir o progresso das pesquisas e identificar novas tendências. De acordo com a Distribuição temporal dos artigos e citações do Gráfico 1, não foram publicados artigos antes de 2010 o que sugere que estudos sobre a temática são relativamente bem recentes. A publicação de Vossen *et al.* (2010), é a primeira sobre a temática, nela os autores propõem que a dor crônica aumenta a sensibilidade genética possivelmente por meio de alterações epigenéticas.

Em 2011 foi publicado novamente apenas um artigo, o mais citado a partir de 2012, entre os top10 apresentados na Tabela 3 *Epigenetic suppression of GAD65 expression mediates persistent pain*. Neste artigo Zhang *et al.* (2011), exploraram as modificações de histonas induzidas por dor persistente inflamatória e neuropática, em animais modelos de ratos, com foco no Núcleo Magno da Rafe localizado no tronco cerebral. Segundo os autores este ponto supraespinal é crítico para manutenção da hipersensibilidade em quadros de dor crônica. O estudo permitiu observar que a dor sustentada suprime epigeneticamente a expressão de GAD65, enzima que sintetiza GABA no terminal sináptico para liberação de vesículas, inibindo as sinapses em neurônios moduladores da dor, e ainda sugerem GAD65 e HDACs como alvos potenciais para terapia epigenética da dor crônica.

A partir de 2012 o número de publicações começou a aumentar, apresentando algumas flutuações nas quantidades de publicações anuais; espera-se, portanto, que haja publicação de pelo menos um artigo a cada ano.

Já em relação à distribuição das publicações entre os países mostrada na Tabela 1 e Figura 3, as publicações dos Estados Unidos possuem a liderança nas pesquisas sobre dor e epigenética, junto com a China somam mais da metade do total das publicações de todos os países, porém, em termos de centralidade, embora a China tenha uma maior frequência de publicações exerce menor influência sobre

as pesquisas nesta temática, uma vez que Austrália, Canadá e Itália, por exemplo, tem maior centralidade. A Figura 4 demonstra a falta de uma colaboração entre as instituições que pode estar dificultando o desenvolvimento das pesquisas nesta temática, é preciso que haja um elevado grau de colaboração, para que as pesquisas sejam mais integrativas e influentes.

Analisando a Tabela 2, três autores se destacam entre os demais, Moshe Szyf, Magali Millecamps e Laura S. Stone, porém, não foi observada centralidade ou influência destes autores de forma que não houve impacto significativo de publicação nesta temática. Moshe Szyf tem o maior número de publicações. Ele é geneticista e professor de farmacologia e terapêutica em uma universidade canadense localizada em Montreal, na província de Quebec, denominada McGill, lá também ocupa uma cadeira de farmacologia GlaxoSmithKline-CIHR. Suas principais linhas de pesquisa são epigenética, incluindo epigenética comportamental, e pesquisas sobre câncer.

Desde 2013 em seus primeiros artigos, Szyf e colaboradores buscam estudar as alterações epigenéticas nas regiões do Córtex Pré-frontal e amígdala, áreas relacionadas com percepção e processamento emocional (ALVARADO *et al.*, 2013; TAJERIAN *et al.*, 2013). Os autores justificam seu interesse, a partir da própria definição de dor pela IASP, que se refere a ela como: uma “experiência”, maior do que apenas uma nocicepção.

Na publicação *Peripheral Nerve Injury Is Associated with Chronic, Reversible Changes in Global DNA Methylation in the Mouse Prefrontal Cortex* de janeiro de 2013, seu principal achado está na distância entre regiões onde as alterações epigenéticas ocorrem, em relação ao local original da lesão em nervo periférico. Os autores consideram que, depressão e ansiedade são comorbidades comuns à dor crônica demonstrado que o alojamento dos ratos em ambientes enriquecidos, social e fisicamente, atenuou as alterações resultantes da lesão nervosa. Os autores presumiram que as alterações na metilação do DNA no córtex pré-frontal são dinâmicas, porém, as alterações no DNA global exercem influência na plasticidade neural associada a dor crônica (TAJERIAN *et al.*, 2013).

Tais autores deram continuidade as pesquisas, e em abril de 2013 publicaram o artigo *Peripheral nerve injury is accompanied by chronic transcriptome-wide changes in the mouse prefrontal cortex* no qual qual investigam as alterações transcricionais de longo prazo no córtex pré- frontal, 6 meses após lesão nervosa e

identificam 1147 transcritos diferentes no córtex pré-frontal. Esses transcritos incluem genes implicados na dor crônica e também genes com função cerebral desconhecida, ficando assim demonstrado uma relação causal entre a lesão e a alteração do transcriptoma. A alteração de expressão gênica provavelmente ocorreu em cascata ao longo dos 6 meses resultando em um perfil de dor crônica (ALVARADO *et al.*, 2013).

No artigo de hipótese, *-An epigenetic hypothesis for the genomic memory of pain*, publicado em 2015, Szyf e colaboradores, baseados nas publicações anteriores, utilizam a sinaptotagmina II (*syt2*) para ilustrar a hipótese principal, de que as alterações na metilação do DNA exercem uma função de memória “genômica” de dor no córtex pré-frontal adulto devido a alterações na metilação do DNA, um dos mecanismos epigenéticos, por longos períodos de duração (ALVARADO *et al.*, 2015)

Em 2020, Szyf contribuiu em 2 publicações: Em *Prenatal maternal stress is associated with increased sensitivity to neuropathic pain and sex-specific changes in supraspinal mRNA expression of epigenetic- and stress-related genes in adulthood*, Szyf e colaboradores propõem que o efeito de adversidades no início da vida sobre o desenvolvimento da dor crônica na fase adulta, são mediados por alterações epigenéticas sobretudo nas regiões do córtex pré frontal e hipocampo, regiões críticas no controle da dor. Através da análise da expressão mRNA da prole de fêmeas de ratos prenhes induzidas ao estresse, seus estudos apoiam a aceitabilidade da hipótese de que mudanças na expressão de enzimas epigenéticas, como DNMT1 e 3a, TET1 (tet metilcitosina dioxigenase 1) e TET3 (tet metilcitosina dioxigenase 3) e HAT e HDAC, desencadeadas por estresse precoce, originam uma resposta aumentada, na idade adulta, a lesão nervosa nos animais submetidos ao estresse pré-natal (GRÉGOIRE *et al.*, 2020).

No outro artigo de 2020 denominado *The transition from acute to chronic pain: dynamic epigenetic reprogramming of the mouse prefrontal cortex up to 1 year after nerve injury*, através do modelo de estudo do efeito dor neuropática pela lesão poupadora do Nervo (SNI), no córtex pré frontal (PFC) de ratos, com acompanhamento em D1 (primeiro dia), W2 (duas semanas), M6 (seis meses) e 1 Yr (1 ano), Szyf e colaboradores observaram que em D1 (primeiro dia) e W2 (duas semanas) houve enriquecimento dos genes relacionadas a respostas a sinalização aferente provavelmente sinalizada pelos estímulos sensoriais externos e pela função

imunológica, devido aos efeitos sistêmicos da inflamação periférica, e na sequência, a sensibilização central e neuroinflamação à medida que a dor cronifica, até atingir um estágio mais avançado, a partir de M6 (seis meses) e 1 Yr (um ano), envolvendo a função imunológica e a desregulação das vias descendentes de modulação da dor.

Neste mesmo estudo Topham *et al.*, (2020) também observaram reversões na metilação de certos genes associados a dor ente W2 (duas semanas) e M6 (seis meses), indicando a possibilidade de variação no recrutamento de processos relacionados a dor ao longo do tempo, de forma que mesmo que o gene esteja associado a dor crônica, sua contribuição para manifestação fenotípica da dor pode ser determinada pelo tempo.

Seus resultados sugerem que alterações na metilação do DNA permanecem por pelo menos até um ano após o estímulo de dor neuropática e que essas alterações precedem sua cronificação. Mesmo que alguns genes sejam significativos em apenas um período de tempo, a memória genômica inicial, reprogramação do metiloma que ocorre logo após a lesão, necessária para o desenvolvimento da dor crônica pode ser incorporada pelos genes diferencialmente metilados ao longo do tempo (TOPHAM *et al.*, 2020).

Em sua publicação mais recente Szyf e colaboradores sugeriram a administração de moduladores epigenéticos avançados como o doador de SAM como potencial terapêutico no manejo da dor crônica (TOPHAM *et al.*, 2021). Apesar do caráter estável de silenciamento do gene metilado, SAM tem potencial catalizador enzimático oxidativo para processos de desmetilação ativa do DNA, esse processo ocorre em células somáticas desenvolvidas, ao contrário da desmetilação passiva que ocorre em determinadas etapas do desenvolvimento inicial do organismo. (WU; ZHANG, 2010; OOI; BESTOR, 2008),

A maioria das top 10 revistas citadas estão localizadas na região Q1 (primeiro quartil ou quartil superior, entre 75 e 100%), o que demonstra o quanto esta temática é valorizada pelos pesquisadores. Os pesquisadores de artigos anteriores, são frequentemente listados e referenciados.

Além de descrever a relação interna e estrutura da literatura, as palavras-chave indicam os temas principais e auxiliam no direcionamento da pesquisa, servindo como referência. Nas Figuras 8 e 9 e Tabela 4 apresentam as palavras-

chave mais frequentemente utilizadas pelos autores, dentre elas: *dna methylation*, *neuropathic pain*, *expression*, *chronic pain*, etc.

Como já descrito anteriormente a metilação do DNA representa um dos principais mecanismos envolvidos nas alterações epigenéticas, que na maioria das vezes, suprime a expressão de genes envolvidos no processo de transição de dor aguda para crônica (CROW; DENK; MCMAHON, 2013; GUO *et al.*, 2011).

3.2.2 Metilação DNA e Acetilação de histonas

Nos últimos anos, estudos do epigenoma de animais modelos de dor crônica (ratos) vem sendo realizados e os padrões de alterações epigenéticas examinados (TAKENAKA *et al.*, 2020), porém, para extrapolação dos resultados em humanos, é necessário bastante cautela, principalmente porque a real etiologia da dor crônica ainda não está totalmente desvendada (WANG; STEFANO; KREAM, 2014). Vários autores encontraram limitações em seus estudos pelo fato da utilização apenas de animais modelo machos (LI *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2019), pois, as diferenças relacionadas ao sexo não podem ser descartadas. Além disso, quando se trata de estudo epigenético relacionado aos processos de desenvolvimento da dor, é de total relevância estudar o tipo de célula específica do sistema nervoso (SAUNDERS *et al.*, 2018).

As fontes amostrais de maior acessibilidade e minimamente invasivas em humanos se restringem a basicamente amostras de sangue total, e a indentificação da origem dos genes neste tipo de amostragem também representam uma limitação para os estudos (TAKENAKA *et al.*, 2020). Embora Davies *et al.* (2012), encontraram variações refletidas entre cérebro e sangue demonstrando alguma utilidade dos tecidos periféricos, Jiang *et al.* (2015), relatam casos de metilação específica no tecido neuronal, tornando-o preferível (ACHENBACH *et al.*, 2019). Além disso, fármacos utilizados nas terapias de dor crônica, como anticonvulsivantes, antidepressivos ou opioides podem alterar o estado de metilação do DNA (MUNZENMAIER; WILENTZ; COWLEY, 2014). Ainda, Kerr e Burri, (2017) sugerem que a população estudada deve ser etnicamente homogênea para garantir a significância dos resultados.

4 CONCLUSÕES

A metilação do DNA e alteração nas histonas que são os dois principais mecanismos envolvidos nas alterações epigenéticas foram evidenciados nos estudos encontrados para o tema, demonstrando que os processos envolvidos na regulação gênica pela epigenética podem contribuir não só na transição da dor aguda para crônica, como no aumento da sensibilidade e sua manutenção. Embora os estudos demonstrem que alterações na metilação do DNA e nas histonas provocadas pela dor sustentada contribuem para cronificação da dor, observou-se que o campo de pesquisa é amplo e ainda muito recente. Muitas questões relacionadas à extrapolação de resultados em animais para humanos e também viabilidade de amostragem em humanos, precisam ser ampliadas.

Alguns estudos sugerem opções terapêuticas epigenéticas para o manejo das dores crônicas, porém, ainda sem a especificidade necessária para completa eficácia.

REFERÊNCIAS

- ACHENBACH, J. et al. Childhood traumatization is associated with differences in TRPA1 promoter methylation in female patients with multisomatoform disorder with pain as the leading bodily symptom. **Clinical Epigenetics**, v. 11, n. 1, p. 1–10, 2019.
- ACHENBACH, J. et al. Leptin promoter methylation in female patients with painful multisomatoform disorder and chronic widespread pain. **Clinical Epigenetics**, v. 14, n. 1, p. 1–7, 2022.
- ALVARADO, S. et al. Peripheral nerve injury is accompanied by chronic transcriptome-wide changes in the mouse prefrontal cortex. **Molecular Pain**, v. 9, n. 1, p. 1–12, 2013.
- ALVARADO, S. et al. An epigenetic hypothesis for the genomic memory of pain. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 9, n. March, p. 1–10, 2015.
- AROEKE, E. N. et al. Could epigenetics help explain racial disparities in chronic pain? **Journal of Pain Research**, v. 12, p. 701–710, 2019.
- AROEKE, E. N. et al. Identification of DNA methylation associated enrichment pathways in adults with non-specific chronic low back pain. **Molecular Pain**, v. 16, 2020.
- AZIZ, Q. et al. A classification of chronic pain for ICD-11. **Pain**, v. 156, n. 6, p. 1003–7, 2015.
- BAI, G.; REN, K.; DUBNER, R. Epigenetic regulation of persistent pain. **Translational Research**, v. 165, n. 1, p. 177–199, 2015.
- BELL, J. T. et al. Differential methylation of the TRPA1 promoter in pain sensitivity. **Nature Communications**, v. 5, 2014.
- BIRD, A. Perceptions of epigenetics. **Nature**, v. 447, n. 7143, p. 396–398, 2007.
- BONICA J.J. **The management of pain**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1953.
- BUCHHEIT, T.; VAN DE VEN, T.; SHAW, A. Epigenetics and the Transition from Acute to Chronic Pain. **Pain Medicine (United States)**, v. 13, n. 11, p. 1474–1490, 2012.
- CANO, A. F.; LÓPEZ, J. E. Patrones de citación en la investigación española sobre evaluación de programas educativos (1975-2000). **Revista Española de Documentación Científica**, v. 24(3), p. 289–305, 2001.
- CAO, D. Y. et al. Histone hyperacetylation modulates spinal type II metabotropic glutamate receptor alleviating stress-induced visceral hypersensitivity in female rats. **Molecular Pain**, v. 12, p. 1–12, 2016.

CHAMESSIAN, A. G. et al. 5-Hydroxymethylcytosine (5hmC) and Ten-eleven translocation 1-3 (TET1-3) proteins in the dorsal root ganglia of mouse: Expression and dynamic regulation in neuropathic pain. **Somatosensory & motor research**, v. 34, n. 2, p. 72–79, jun. 2017.

CHEN, C.; SONG, M. Visualizing a field of research: A methodology of systematic scientometric reviews. **PLoS ONE**, v. 14, n. 10, 2019.

CHEN, Y.-C. et al. Transcriptional regulator PRDM12 is essential for human pain perception. **Nature genetics**, v. 47, n. 8, p. 962, ago. 2015.

CHRISTENSEN, J. et al. A Pilot Study Investigating the Role of Gender in the Intergenerational Relationships between Gene Expression, Chronic Pain, and Adverse Childhood Experiences in a Clinical Sample of Youth with Chronic Pain. **Epigenomes**, v. 5, n. 2, p. 9, 2021.

COMB, M.; GOODMAN, H. M. CpG methylation inhibits proenkephalin gene expression and binding of the transcription factor AP-2. **Nucleic Acids Research**, v. 18, n. 13, p. 3975–3982, 1990.

CROW, M.; DENK, F.; MCMAHON, S. B. Genes and epigenetic processes as prospective pain targets. **Genome Medicine**, v. 5, n. 2, p. 1–10, 2013.

DAVIES, M. N. et al. Functional annotation of the human brain methylome identifies tissue-specific epigenetic variation across brain and blood. **Genome biology**, v. 13, n. 6, 2012.

DELLAROZA, M. S. G. et al. Caracterização da dor crônica e métodos analgésicos utilizados por idosos da comunidade. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 54, n. 1, p. 36–41, 2008.

DESANTANA, J. M. et al. Tradução para a língua portuguesa da definição revisada de dor pela Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor. **Iasp**, p. 1–8, 2020.

DI GIORGIO, E.; BRANCOLINI, C. Regulation of class IIa HDAC activities: It is not only matter of subcellular localization. **Epigenomics**, v. 8, n. 2, p. 251–269, 2016.

Epigenética. Disponível em: <<https://psic0nautas.com/epigenetica/>>. Acesso em: 18 abr. 2022.

FENG, W. et al. Epigenetic modulation of Wnt signaling contributes to neuropathic pain in rats. **Molecular Medicine Reports**, v. 12, n. 3, p. 4727–4733, 2015.

GARRIGA, J. et al. Nerve injury-induced chronic pain is associated with persistent DNA methylation reprogramming in dorsal root ganglion. **Journal of Neuroscience**, v. 38, n. 27, p. 6090–6101, 2018.

GÉRANTON, S. M. Does epigenetic “memory” of early-life stress predispose to chronic pain in later life? A potential role for the stress regulator FKBP5.

Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, v. 374, n. 1785, 2019.

GERVASI, N. M. et al. C-terminal domain small phosphatase 1 (CTDSP1) regulates growth factor expression and axonal regeneration in peripheral nerve tissue. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–11, 2021.

GRÉGOIRE, S. et al. Prenatal maternal stress is associated with increased sensitivity to neuropathic pain and sex-specific changes in supraspinal mRNA expression of epigenetic- and stress-related genes in adulthood. **Behavioural Brain Research**, v. 380, n. October 2019, p. 112396, 2020.

GUO, J. U. et al. Neuronal activity modifies the DNA methylation landscape in the adult brain. **Nature neuroscience**, v. 14, n. 10, p. 1345–1351, ago. 2011.

HABERLAND, M.; MONTGOMERY, R. L.; OLSON, E. N. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: Implications for disease and therapy. **Nature Reviews Genetics**, v. 10, n. 1, p. 32–42, 2009.

HAMILTON, J. P. Epigenetics: Principles and practice. **Digestive Diseases**, v. 29, n. 2, p. 130–135, 2011.

JIANG, B. C. et al. Promoted interaction of C/EBP α with demethylated Cxcr3 gene promoter contributes to neuropathic pain in mice. **Journal of Neuroscience**, v. 37, n. 3, p. 685–700, 2017.

JIANG, R. et al. Discordance of DNA methylation variance between two accessible human tissues. **Scientific Reports**, v. 5, p. 8257, 2015.

KERR, J. I.; BURRI, A. Genetic and epigenetic epidemiology of chronic widespread pain. **J Dor Res** ., v. 10, p. 2021–2029, 2017.

KOUZARIDES, T. Chromatin Modifications and Their Function. **Cell**, v. 128, n. 4, p. 693–705, 2007.

LAUMET, G. et al. G9a is essential for epigenetic silencing of K(+) channel genes in acute-to-chronic pain transition. **Nature neuroscience**, v. 18, n. 12, p. 1746–1755, dez. 2015.

LI, F. et al. Upregulation of CXCR4 through promoter demethylation contributes to inflammatory hyperalgesia in rats. **CNS Neuroscience and Therapeutics**, v. 24, n. 10, p. 947–956, 2018.

LIANG, D. Y. et al. TBI-induced nociceptive sensitization is regulated by histone acetylation. **IBRO Reports**, v. 2, p. 14–23, 2017.

LIANG, L. et al. Epigenetic regulation of chronic pain. **Epigenomics**, v. 176, n. 1, p. 139–148, 2016.

LIAO, Y. H. et al. Histone deacetylase 2 is involved in μ -opioid receptor suppression in the spinal dorsal horn in a rat model of chronic pancreatitis pain. **Molecular Medicine Reports**, v. 17, n. 2, p. 2803–2810, 2018.

LIPSCOMBE, D.; LOPEZ-SOTO, E. J. Epigenetic control of ion channel expression and cell-specific splicing in nociceptors: Chronic pain mechanisms and potential therapeutic targets. **Channels**, v. 15, n. 1, p. 156–164, 2021.

LITKE, C. et al. Organic anion transporter 1 is an HDAC4-regulated mediator of nociceptive hypersensitivity in mice. **Nature Communications**, v. 13, n. 1, 2022.

LOUWIES, T. et al. Targeting epigenetic mechanisms for chronic visceral pain: A valid approach for the development of novel therapeutics. **Neurogastroenterology and Motility**, v. 31, n. 3, p. 1–16, 2019.

MERSKEY, H. AND BOGDUK, N. **Classification of chronic pain**. 2nd ed ed. Seattle: IASP Press, 1994.

MONTESINO-GOICOLEA, S. et al. Enrichment of genomic pathways based on differential DNA methylation profiles associated with chronic musculoskeletal pain in older adults: An exploratory study. **Molecular Pain**, v. 16, 2020.

MUNZENMAIER, D. H.; WILENTZ, J.; COWLEY, A. W. Genetic, epigenetic, and mechanistic studies of temporomandibular disorders and overlapping pain conditions. **Molecular Pain**, v. 10, n. 1, p. 1–3, 2014.

NAN, X.; CAMPOY, F. J.; BIRD, A. MeCP2 is a transcriptional repressor with abundant binding sites in genomic chromatin. **Cell**, v. 88, n. 4, p. 471–481, 1997.

OLIVEIRA, A. M. M. et al. Epigenetic control of hypersensitivity in chronic inflammatory pain by the de novo DNA methyltransferase Dnmt3a2. **Molecular Pain**, v. 15, 2019.

OLIVEIRA, J. C. DE. Epigenética e doenças humanas. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 33, n. 1, p. 21–34, 2012.

OOI, S. K. T.; BESTOR, T. H. The Colorful History of Active DNA Demethylation. **Cell**, v. 133, n. 7, p. 1145–1148, 2008.

PAN, Z. et al. Epigenetic modification of spinal miR-219 expression regulates chronic inflammation pain by targeting CaMKII γ . **Journal of Neuroscience**, v. 34, n. 29, p. 9476–9483, 2014.

PAN, Z. et al. MicroRNA-1224 splicing circularRNA-filip1l in an ago2-dependent manner regulates chronic inflammatory pain via targeting Ubr5. **Journal of Neuroscience**, v. 39, n. 11, p. 2125–2143, 2019.

PAOLONI-GIACOBINO, A. et al. Altered bdnf methylation in patients with chronic musculoskeletal pain and high biopsychosocial complexity. **Journal of Pain Research**, v. 13, p. 1289–1296, 2020.

PEREIRA, C. M. et al. miRNAs: Important Targets for Oral Cancer Pain Research. **BioMed Research International**, v. 2017, p. 4043516, 2017.

REIK, W. Stability and flexibility of epigenetic gene regulation in mammalian development. **Nature**, v. 447, n. 7143, p. 425–432, maio 2007.

SANDO, R. 3RD et al. HDAC4 governs a transcriptional program essential for synaptic plasticity and memory. **Cell**, v. 151, n. 4, p. 821–834, nov. 2012.

SAUNDERS, J. et al. Negative Evidence for a Functional Role of Neuronal DNMT3a in Persistent Pain. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 11, n. September, p. 1–9, 2018.

STENZ, L. et al. Genome-Wide Epigenomic Analyses in Patients With Nociceptive and Neuropathic Chronic Pain Subtypes Reveals Alterations in Methylation of Genes Involved in the Neuro-Musculoskeletal System. **Journal of Pain**, v. 23, n. 2, p. 326–336, 2022.

STEPHENS, K. E. et al. Global gene expression and chromatin accessibility of the peripheral nervous system in animal models of persistent pain. **Journal of Neuroinflammation**, v. 18, n. 1, p. 1–16, 2021.

SUZUKI, M. M.; BIRD, A. DNA methylation landscapes: provocative insights from epigenomics. **Nature reviews. Genetics**, v. 9, n. 6, p. 465–476, jun. 2008.

TAJERIAN, M. et al. Peripheral Nerve Injury Is Associated with Chronic, Reversible Changes in Global DNA Methylation in the Mouse Prefrontal Cortex. **PLoS ONE**, v. 8, n. 1, p. 1–7, 2013.

TAKENAKA, S. et al. Association between neuropathic pain characteristics and DNA methylation of transient receptor potential ankyrin 1 in human peripheral blood. **Medicine (United States)**, v. 99, n. 8, p. 1–6, 2020.

TAN, M.; SHEN, L.; HOU, Y. Epigenetic modification of BDNF mediates neuropathic pain via miR-30a-3p/EP300 axis in CCI rats. **Bioscience Reports**, v. 40, n. 11, p. 1–11, 2020.

TIMOTHY O. OLAWUMI, D. W. M. C. A scientometric review of global research on sustainability and sustainable development. **Journal of Cleaner Production**, v. 183, p. 231–250, 2018.

TOPHAM, L. et al. The transition from acute to chronic pain: dynamic epigenetic reprogramming of the mouse prefrontal cortex up to 1 year after nerve injury. **Pain**, v. 161, n. 10, p. 2394–2409, 2020.

TOPHAM, L. et al. The methyl donor S-adenosyl methionine reverses the DNA methylation signature of chronic neuropathic pain in mouse frontal cortex. **PAIN Reports**, v. 6, n. 2, p. e944, 2021.

VASCONCELOS, F. H.; ARAÚJO, G. C. DE. Prevalence of chronic pain in Brazil: a descriptive study. **Brazilian Journal Of Pain**, v. 1, n. 2, p. 176–179, 2018.

VITOR, L. et al. sobre bioaerossóis associados a estações de tratamento de esgoto. p. 909–917, 2022.

VOSSSEN, H. et al. The genetic influence on the cortical processing of experimental pain and the moderating effect of pain status. **PLoS ONE**, v. 5, n. 10, p. 1–6, 2010.

WANG, F.; STEFANO, G. B.; KREAM, R. M. Epigenetic modification of DRG neuronal gene expression subsequent to nerve injury: Etiological contribution to complex regional pain syndromes (Part I). **Medical Science Monitor**, v. 20, p. 1067–1077, 2014.

WANG, H. et al. Digital quantitative analysis of microRNA in single cell based on ligation-dependent polymerase colony (Polony). **Biosensors and Bioelectronics**, v. 95, p. 146–151, 2017.

WILKINSON, M. et al. Adipokine gene expression in brain and pituitary gland. **Neuroendocrinology**, v. 86, n. 3, p. 191–209, 2007.

WILLIS, D. E. et al. Selective repression of gene expression in neuropathic pain by the neuron-restrictive silencing factor/repressor element-1 silencing transcription (NRSF/REST). **Neuroscience Letters**, v. 625, p. 20–25, 2016.

WÖSTE, M. et al. Wg-blimp: An end-to-end analysis pipeline for whole genome bisulfite sequencing data. **BMC Bioinformatics**, v. 21, n. 1, p. 1–8, 2020.

WU, R. et al. Decreased miR-325-5p Contributes to Visceral Hypersensitivity Through Post-transcriptional Upregulation of CCL2 in Rat Dorsal Root Ganglia. **Neuroscience Bulletin**, v. 35, n. 5, p. 791–801, 2019.

WU, S. C.; ZHANG, Y. Active DNA demethylation: many roads lead to Rome. **Nature reviews. Molecular cell biology**, v. 11, n. 9, p. 607–620, set. 2010.

YUAN, H. et al. Hypomethylation of nerve growth factor (NGF) promotes binding of C/EBP α and contributes to inflammatory hyperalgesia in rats. **Journal of Neuroinflammation**, v. 17, n. 1, p. 1–11, 2020.

ZHANG, P. et al. Novel histone modifications in microglia derived from a mouse model of chronic pain. **Proteomics**, n. January, p. 1–14, 2022.

ZHANG, Z. et al. Epigenetic suppression of GAD65 expression mediates persistent pain. **Nature medicine**, v. 17, n. 11, p. 1448–1455, out. 2011.

ZHU, X. et al. Integrated Analysis of Omics Data Reveal AP-1 as a Potential Regulation Hub in the Inflammation-Induced Hyperalgesia Rat Model. **Frontiers in Immunology**, v. 12, n. May, p. 1–11, 2021.

ANEXO A - Direitos autorais - Lei n. 9.610, de 19 de fevereiro de 1998



Presidência da República
Casa Civil
Subchefia para Assuntos Jurídicos

LEI Nº 9.610, DE 19 DE FEVEREIRO DE 1998¹.

Mensagem de veto

Altera, atualiza e consolida a legislação sobre direitos autorais e dá outras providências.

O PRESIDENTE DA REPÚBLICA Faço saber que o Congresso Nacional decreta e eu sanciono a seguinte Lei:

Título I - Disposições Preliminares

Art. 1º Esta Lei regula os direitos autorais, entendendo-se sob esta denominação os direitos de autor e os que lhes são conexos.

Art. 2º Os estrangeiros domiciliados no exterior gozarão da proteção assegurada nos acordos, convenções e tratados em vigor no Brasil.

Parágrafo único. Aplica-se o disposto nesta Lei aos nacionais ou pessoas domiciliadas em país que assegure aos brasileiros ou pessoas domiciliadas no Brasil a reciprocidade na proteção aos direitos autorais ou equivalentes.

Art. 3º Os direitos autorais reputam-se, para os efeitos legais, bens móveis.

Art. 4º Interpretam-se restritivamente os negócios jurídicos sobre os direitos autorais.

Art. 5º Para os efeitos desta Lei, considera-se:

I - publicação - o oferecimento de obra literária, artística ou científica ao conhecimento do público, com o consentimento do autor, ou de qualquer outro titular de direito de autor, por qualquer forma ou processo;

II - transmissão ou emissão - a difusão de sons ou de sons e imagens, por meio de ondas radioelétricas; sinais de satélite; fio, cabo ou outro condutor; meios óticos ou qualquer outro processo eletromagnético;

III - retransmissão - a emissão simultânea da transmissão de uma empresa por outra;

IV - distribuição - a colocação à disposição do público do original ou cópia de obras literárias, artísticas ou científicas, interpretações ou execuções fixadas e fonogramas, mediante a venda, locação ou qualquer outra forma de transferência de propriedade ou posse;

V - comunicação ao público - ato mediante o qual a obra é colocada ao alcance do público, por qualquer meio ou procedimento e que não consista na distribuição de exemplares;

VI - reprodução - a cópia de um ou vários exemplares de uma obra literária, artística ou científica ou de um fonograma, de qualquer forma tangível, incluindo qualquer armazenamento permanente ou temporário por meios eletrônicos ou qualquer outro meio de fixação que venha a ser desenvolvido;

VII - contrafação - a reprodução não autorizada;

VIII - obra:

a) em co-autoria - quando é criada em comum, por dois ou mais autores;

b) anônima - quando não se indica o nome do autor, por sua vontade ou por ser desconhecido;

c) pseudônima - quando o autor se oculta sob nome suposto;

d) inédita - a que não haja sido objeto de publicação;

e) póstuma - a que se publique após a morte do autor;

f) originária - a criação primígena;

g) derivada - a que, constituindo criação intelectual nova, resulta da transformação de obra originária;

h) coletiva - a criada por iniciativa, organização e responsabilidade de uma pessoa física ou jurídica, que a publica sob seu nome ou marca e que é constituída pela participação de diferentes autores, cujas contribuições se fundem numa criação autônoma;

i) audiovisual - a que resulta da fixação de imagens com ou sem som, que tenha a finalidade de criar, por meio de sua reprodução, a impressão de movimento, independentemente dos processos de sua captação, do suporte usado inicial ou posteriormente para fixá-lo, bem como dos meios utilizados para sua veiculação;

IX - fonograma - toda fixação de sons de uma execução ou interpretação ou de outros sons, ou de uma representação de sons que não seja uma fixação incluída em uma obra audiovisual;

X - editor - a pessoa física ou jurídica à qual se atribui o direito exclusivo de reprodução da obra e o dever de divulgá-la, nos limites previstos no contrato de edição;

XI - produtor - a pessoa física ou jurídica que toma a iniciativa e tem a responsabilidade econômica da primeira fixação do fonograma ou da obra audiovisual, qualquer que seja a natureza do suporte utilizado;

XII - radiodifusão - a transmissão sem fio, inclusive por satélites, de sons ou imagens e sons ou das representações desses, para recepção ao público e a transmissão de sinais codificados, quando os meios de decodificação sejam oferecidos ao público pelo organismo de radiodifusão ou com seu consentimento;

XIII - artistas intérpretes ou executantes - todos os atores, cantores, músicos, bailarinos ou outras pessoas que representem um papel, cantem, recitem, declamem, interpretem ou executem em qualquer forma obras literárias ou artísticas ou expressões do folclore.

Art. 6º Não serão de domínio da União, dos Estados, do Distrito Federal ou dos Municípios as obras por eles simplesmente subvencionadas.

¹ Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/19610.htm.