

# Interação entre qualidade do meio ambiente, estresse e a variação do gene APOE na determinação da suscetibilidade à fibromialgia

Roze Mary Ribas Becker<sup>1</sup>, Vanessa Kappel da Silva<sup>2</sup>, Fernanda da Silva Machado<sup>2</sup>, Adriana Freitag dos Santos<sup>3</sup>, Daiane Cristine Meireles<sup>3</sup>, Michelle Mergener<sup>4</sup>, Geraldine Alves dos Santos<sup>5</sup>, Fabiana Michelsen de Andrade<sup>6</sup>

## RESUMO

**Introdução:** A fibromialgia se trata de uma desordem multifatorial, cuja etiologia reside na interação entre a susceptibilidade genética e o ambiente. No entanto, poucos trabalhos procuram detectar quais seriam os fatores considerados de risco. **Objetivo:** Investigar a influência genética e sua interação com qualidade ambiental e com estresse como possíveis fatores de risco para o desenvolvimento da fibromialgia. **Pacientes e Métodos:** Neste estudo transversal, foram investigados dois grupos de mulheres, sendo 47 com diagnóstico clínico de fibromialgia, e 41 mulheres do grupo controle, todas da comunidade de Novo Hamburgo, RS. O polimorfismo do gene da apolipoproteína E (APOE) foi analisado, a partir do DNA extraído do sangue total de ambas as amostras. Os fatores ambientais foram avaliados através do inventário de sintomas para adultos de Lipp (ISSL), para a averiguação do estresse comportamental, e da aplicação do domínio V do WHOQOL-100. **Resultados:** Dentre as pacientes, foram encontradas mais mulheres com níveis altos de estresse, quando comparado à amostra controle ( $P < 0,001$ ); além disto, os escores médios do domínio V do WHOQOL-100, que avalia qualidade do meio ambiente, foram inferiores neste grupo ( $P < 0,001$ ). As frequências genotípicas e alélicas do gene APOE foram similares entre os dois grupos. A análise multivariada demonstrou que baixos escores do WHOQOL-100, aumentaram a chance de desenvolvimento da doença em 57,7 vezes ( $P < 0,001$ ), e que altos níveis de estresse foram significativamente relacionados com a doença ( $OR = 197,2$ ;  $P < 0,001$ ). Essa abordagem apontou para uma interação entre estresse e a presença do alelo E\*2 ( $P = 0,028$ ). A doença foi muito mais frequente em pacientes com altos níveis de estresse que não eram portadoras do alelo E\*2 ( $OR$  estimado = 265,1), quando comparada a pacientes com o mesmo nível de estresse e portadoras do alelo E\*2 ( $OR$  estimado = 1,06). **Conclusão:** A presença do alelo E\*2 pode indicar possível ação protetora para a relação entre fibromialgia e estresse.

**Palavras-chave:** fibromialgia, estresse, qualidade ambiental, interações gene x ambiente, apolipoproteína E.

## INTRODUÇÃO

A fibromialgia é uma doença caracterizada por história clínica de dor muscular generalizada por mais de três meses e por pontos dolorosos específicos (*tender points*). O diagnóstico da fibromialgia é fundamentalmente clínico,<sup>1</sup> não havendo

evidências de anormalidades laboratoriais ou nos exames de imagem. De acordo com Neumann e Buskilla,<sup>2</sup> a prevalência de fibromialgia em diferentes países é estimada em 2% da população em geral. A prevalência da síndrome aumenta com a idade (aproximadamente 1% em mulheres que estão entre 18 e 29 anos, e 7% em mulheres com idade entre 70 e 79

Recebido em 05/03/2009. Aprovado, após revisão, em 04/10/2010. Declaramos a inexistência de conflito de interesse.

Instituto de Ciências da Saúde e Instituto de Ciências Humanas, Letras e Artes. Universidade Feevale, Novo Hamburgo, Brasil.

1. Fisioterapeuta, Mestre em Qualidade Ambiental pela Universidade Feevale, Professora Adjunta do Curso de Fisioterapia da Universidade Feevale

2. Biomédica, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Feevale

3. Estudante do curso de Psicologia, Instituto de Ciências Humanas, Letras e Artes, Universidade Feevale

4. Biomédica, Mestre em Qualidade Ambiental pela Universidade Feevale

5. Psicóloga, Mestre e Doutora em Psicologia; Professora Titular do Curso de Psicologia, e Mestrado em Acessibilidade e Inclusão social da Universidade Feevale

6. Bióloga, Mestre e Doutora em Genética e Biologia Molecular; Professora Titular dos cursos de Psicologia e Biomedicina, e Mestrado em Qualidade Ambiental da Universidade Feevale

Correspondência para: Fabiana Michelsen de Andrade. Pró-Reitoria de Pesquisa, Tecnologia e Inovação – PROPI, Sala 201 F. Universidade Feevale; RS 239, nº 2755. Vila Nova, Novo Hamburgo, RS. CEP 93352-000. Tel: +55 51 3586-8800, ext. 8938, Fax: +55 51 3586-8800, ext. 9000.

E-mail: fabiana.andrade@feevale.br

anos). Até o momento, nenhuma investigação científica que buscasse determinar a prevalência dessa doença foi publicada para populações brasileiras.

Os estudos realizados até agora apontam a fibromialgia como uma doença multifatorial, com uma possível suscetibilidade genética como necessária, mas não suficiente, para o desencadeamento da fibromialgia.<sup>2,3</sup> Essa predisposição genética, quando associada a fatores ambientais, dentre os quais os agentes estressores relacionados aos aspectos psicossociais e afetivos, parecem aumentar o risco para o desencadeamento e agravo dos sintomas. Wood<sup>4</sup> afirma que a fibromialgia tem sido chamada “desordem relacionada ao estresse”, devido ao fato de ter o início e/ou a exacerbação dos sintomas no contexto de eventos estressores. Van Houdenhove *et al.*,<sup>5</sup> determinaram o estresse como um fator etiopatogênico, desde que associado a fatores de predisposição genética.

Embora existam estas evidências, ainda não estão determinados quais seriam os genes associados a essa doença, e nem de que maneira a variabilidade nesses genes interagem com fatores ambientais. Essas investigações são principalmente associadas a genes do sistema serotoninérgico,<sup>6,7</sup> mas nenhum estudo procurou relacionar o gene da apolipoproteína E com a fibromialgia.

O papel da apolipoproteína E sobre a resposta ao estresse, e sua relação com dor crônica tem sido registrado tanto por estudos clínicos<sup>8,9</sup> quanto experimentais.<sup>10,11</sup> Estes trabalhos demonstraram que os níveis de apolipoproteína E estão relacionados com a resposta ao estresse, com dor induzida em modelos animais, e com diferentes tipos de dor crônica em humanos. Ainda assim, nenhuma investigação procurou associar a variação do tipo de proteína apo E, codificada por três diferentes alelos denominados E\*2, E\*3 e E\*4, com a suscetibilidade à fibromialgia.

Desta maneira, o presente trabalho tem o objetivo de investigar se a qualidade do meio ambiente e níveis de estresse são fatores relacionados à fibromialgia, e também se algum dos alelos do gene APOE está associado ao risco de desenvolvimento da fibromialgia. Além disto, a interação entre essas três variáveis será testada, de maneira a determinar a relação entre as mesmas, como influência sobre a fibromialgia.

---

## PACIENTES E MÉTODOS

### Pacientes

A amostra de pacientes foi constituída de 41 indivíduos adultos do sexo feminino, com diagnóstico clínico de fibromialgia

segundo os critérios do Colégio Americano de Reumatologia (ACR),<sup>1</sup> e idade média de  $47,93 \pm 11,21$  anos. Como critérios de exclusão, foram utilizadas a presença de déficit cognitivo e a incapacidade motora. Integrantes dessa amostra realizaram avaliação psicológica para a determinação dos níveis de estresse por meio do Inventário de Sintomas de Stress para Adultos de Lipp (ISSL),<sup>12</sup> e responderam o questionário sobre qualidade do meio ambiente (domínio V do WHOQOL-100),<sup>13</sup> o qual foi aplicado de maneira retrospectiva, ou seja, foi solicitado que as mesmas respondessem as perguntas com base no período de tempo anterior ao início dos sintomas.

A amostra de controles foi constituída de 49 indivíduos adultos do sexo feminino, com idade média de  $41,48 \pm 10,78$  anos. Todos os indivíduos passaram pela avaliação de sintomas clínicos e exame de pontos sensíveis a palpação, e só foram incluídas nesta amostra mulheres que não se enquadraram nos critérios para o diagnóstico clínico de fibromialgia, segundo os critérios do ACR.<sup>1</sup> Além disto, foi realizada avaliação psicológica através do ISSL para a determinação dos níveis de estresse, e as voluntárias responderam também o questionário sobre qualidade do meio ambiente (domínio V do WHOQOL-100).

Os indivíduos pesquisados pertencem à comunidade de Novo Hamburgo, sendo que as pacientes pertencem a Clínica de Fisioterapia e/ou Projeto de Extensão que atende pacientes portadores de fibromialgia do Centro Universitário Feevale.

### Métodos de genotipagem

O DNA dos indivíduos de ambas as amostras foi extraído a partir de sangue total, utilizando a técnica descrita por Lahiri e Nurnberger.<sup>14</sup> O polimorfismo no exon 4 do gene *APOE* foi genotipado por meio da técnica de PCR/RFLP, descrita por de Andrade *et al.*,<sup>15</sup> no laboratório de Genética e Biologia Molecular do Centro Universitário Feevale. Esse método de genotipagem detecta a presença de três alelos possíveis no gene *APOE*, denominados de E\*2, E\*3 e E\*4, e a combinação dos mesmos origina a possibilidade de existência na amostra de três genótipos homocigotos (E\*2/E\*2, E\*3/E\*3 e E\*4/E\*4), e três diferentes heterocigotos (E\*2/E\*3, E\*2/E\*4 e E\*3/E\*4).

### Método de avaliação de qualidade de vida relativa ao meio ambiente

A Organização Mundial da Saúde desenvolveu um instrumento para avaliação de qualidade de vida através de um projeto multicêntrico, chamado WHOQOL-100. A versão em português desse Instrumento foi desenvolvida no Departamento de Psiquiatria e Medicina Legal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), e publicado por Fleck *et al.*<sup>13</sup>

O WHOQOL-100 é constituído por 6 domínios, tendo sido selecionado para este estudo o Domínio V (Ambiente), o qual avalia 8 diferentes facetas: segurança física e proteção; ambiente no lar; recursos financeiros; disponibilidade e qualidade dos cuidados sociais e à saúde; oportunidades de adquirir novas informações e habilidades; participação e oportunidades de recreação e lazer; ambiente físico (poluição, ruído, trânsito, clima); e transporte.

### Método de avaliação do estresse comportamental: inventário de Sintomas de Stress para Adultos de Lipp (ISSL)

Segundo Lipp,<sup>12</sup> este inventário identifica de maneira objetiva se o indivíduo apresenta a sintomatologia de estresse e se os sintomas do estresse são predominantemente físicos ou psicológicos. Este inventário ainda estabelece a fase de estresse em que o sujeito se encontra: alerta, resistência, quase exaustão e exaustão. A fase de alerta identifica o momento em que o organismo está se preparando para enfrentar o problema ou fugir dele, preservando a sua existência. Na segunda fase, resistência, o organismo está procurando se adaptar para sobreviver e equilibrar-se, e aparecem sensações de desgaste e cansaço. A terceira fase é a de quase exaustão em que o sujeito não consegue lidar com o evento estressor que se mantém contínuo e começa a adoecer. Quando a situação se agrava ainda mais, surge a quarta e última fase, exaustão, em que toda a energia adaptativa do sujeito foi exaurida e neste momento é que surgem as doenças mais graves.

### Métodos estatísticos

A pontuação do domínio V do WHOQOL, assim como a avaliação para cada faceta separadamente, foi realizada seguindo as instruções do teste (disponíveis em <http://www.ufrgs.br/psiq/whoqol85.html>). Assim, os escores finais de cada voluntário puderam variar de 0 a 20 em cada faceta, e também no domínio V de uma maneira geral.

Para a avaliação das influências genéticas e ambientais separadamente, foram utilizados os testes t e qui-quadrado. Para testar as influências genéticas e ambientais conjuntamente, foi utilizada a regressão logística multivariada. O modelo de regressão utilizado foi o “backward stepwise”, com a retirada da variável menos significativa a cada análise, iniciando pelas interações. As variáveis simples inseridas no modelo foram níveis de estresse (codificados como ‘1’ - exaustão ou quase exaustão e ‘0’ - sem estresse a resistência), escores do domínio V do WHOQOL (codificados de acordo com o percentil 50, como ‘1’ para menores de 13,05, e ‘0’ para maiores de 13,05)

e os genótipos da APOE em duas variáveis *dummy* (portadores do alelo E\*2, e portadores do alelo E\*4). As interações testadas foram todas as possíveis dentre as variáveis simples inseridas no modelo (cinco ao todo). Todos os testes foram feitos com o programa SPSS para Windows, versão 11.0.

### Implicações éticas

O presente projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética do Centro Universitário Feevale, sob número 2.02.02.06.346, e as coletas das amostras foram iniciadas somente após a aprovação do mesmo. Todas as voluntárias assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, antes da participação no projeto.

## RESULTADOS

A Tabela 1 mostra que os níveis de estresse diferem de forma significativa entre o grupo de pacientes e controles ( $P < 0,001$ ). A maior parte (62,5%) dos pacientes encontra-se no nível de “Exaustão” ou “Quase Exaustão”, enquanto este grupo corresponde a 8,6% da amostra controle; além disso, grande parte dos controles (48,9%) apresenta-se sem estresse, comparados a somente 5% de pacientes na mesma categoria.

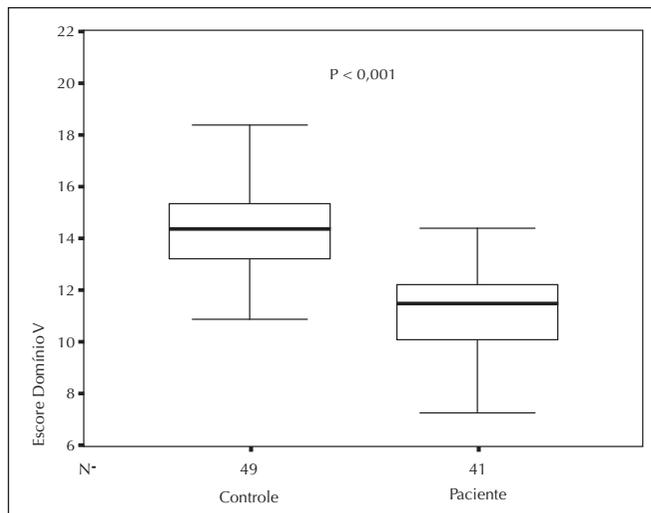
Os escores médios do questionário WHOQOL para os dois grupos estão demonstrados na Figura 1, e é possível perceber que os mesmos diferiram entre controles e pacientes de forma estatisticamente significativa ( $P < 0,001$ , Figura 1), sendo que os controles apresentam uma qualidade do domínio Ambiente melhor ( $14,43 \pm 1,96$ ) em relação ao grupo de pacientes ( $11,48 \pm 2,15$ ).

A Tabela 2 mostra a análise de influência do polimorfismo no gene APOE sobre a suscetibilidade à fibromialgia. Assim, são comparadas as frequências dos três alelos (E\*2, E\*3 e E\*4) e de quatro genótipos entre as amostras de pacientes e controles. Esta análise univariada mostra que, uma vez que

**Tabela 1**  
Inventário de sintomas de stress para adultos de Lipp (ISSL): comparação dos níveis de estresse entre pacientes e controles

Níveis de estresse	Pacientes n = 40 (%)	Controles n = 47 (%)
Sem estresse	2 (5)*	23 (48,9)
Alerta	5 (12,5)	1 (2,1)
Resistência	6 (15)*	19 (40,4)
Quase exaustão	22 (55)*	2 (4,3)
Exaustão	5 (12,5)	2 (4,3)

$\chi^2 = 44,75$ ;  $P < 0,001$ . Na análise de resíduos, comparações significantes entre pacientes e controles ( $P < 0,01$ )\*.



**Figura 1.** Boxplot dos escores do Domínio V do questionário WHOQOL em pacientes com SFM (11,48 ± 2,15) e controles (14,43 ± 1,96), calculado a partir das médias de todas as facetas.

**Tabela 2**

Comparação entre frequências alélicas e genotípicas do gene *APOE* entre pacientes e controles

	Pacientes (n = 38)	Controles (n = 40)	P
<b>Alelos</b>			
E*2	14,5%	12,5%	
E*3	84,2%	85%	0,82
E*4	1,3%	2,5%	
<b>Genótipos</b>			
E*2/E*2	-	1 (2,5%)	
E*2/E*3	11 (28,9%)	8 (20%)	0,59
E*3/E*3	26 (68,4%)	29 (72,5%)	
E*3/E*4	1 (2,7%)	2 (5%)	

**Tabela 3**

Análise de regressão logística múltipla: modelagem através do método *Backward*

	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 4	Modelo 5
-2log Likelihood	33,89	33,89	33,89	34,54	36,44
$\chi^2$	52,2 (P < 0,001)	52,2 (P < 0,001)	52,2 (P < 0,001)	51,5 (P < 0,001)	49,6 (P < 0,001)
R <sup>2</sup> x 100	75,6	75,6	75,6	75,0	73,2
<b>OR (95%CI)</b>					
Whoqol <sup>a</sup>	53.473 (0-8,75 x 10 <sup>43</sup> )	57.485 (0-3,15 x 10 <sup>44</sup> )	54.108 (0-2,06 x 10 <sup>43</sup> )	7.405.606 (0-3,95 x 10 <sup>84</sup> )	57,7 (5,0-665,7)
Lipp <sup>b</sup>	133.683 (0-2,23 x 10 <sup>44</sup> )	143.712 (0-8,01 x 10 <sup>44</sup> )	135.270 (0-5,24 x 10 <sup>43</sup> )	1,9 x 10 <sup>7</sup> (0-9,71 x 10 <sup>84</sup> )	197,2 (8,6 – 4.507)
Portadores de E*2	11.140 (0-1,86 x 10 <sup>43</sup> )	11.976 (0-6,66 x 10 <sup>43</sup> )	11.272 (0-4,36 x 10 <sup>42</sup> )	1.158.223 (0-6,24 x 10 <sup>83</sup> )	5,5 (0,39-78,4)
Portadores de E*4	0,608 (0-4,13 x 10 <sup>233</sup> )	0,653 (0-5,44 x 10 <sup>233</sup> )	0 (0-8,86 x 10 <sup>84</sup> )	0 (0-2,69 x 10 <sup>51</sup> )	0,069 (0-23,0)
Lipp x E*4	14,67 (0-14,67)	-	-	-	-
Whoqol x E*4	0 (0-0)	0 (0- 1,08 x 10 <sup>251</sup> )	-	-	-
Lipp x Whoqol	2.743 (0-7,41 x 10 <sup>59</sup> )	3.282 (0-9,28 x 10 <sup>61</sup> )	3.139 (0-5,1 x 10 <sup>60</sup> )	-	-
Whoqol x E*2	0 (0-2,6 x 10 <sup>35</sup> )	0 (0-8 x 10 <sup>35</sup> )	0 (0-5,9 x 10 <sup>34</sup> )	0 (0-1,1 x 10 <sup>72</sup> )	-
Lipp x E*2	0 (0-3,48 10 <sup>60</sup> )	0 (0-8,74 x 10 <sup>59</sup> )	0 (0-2,69 x 10 <sup>58</sup> )	0 (0-4,1 x 10 <sup>70</sup> )	0,004 (0-0,55)

<sup>a</sup>Escore total do domínio V do WHOQOL foram divididos de acordo com o percentil 50 em menores de 13,05 (1), e maiores de 13,05 (0);

<sup>b</sup>Níveis de estresse foram recodificados como exaustão ou quase exaustão (1), e sem estresse a resistência (0).

não existe nenhuma diferença estatisticamente significativa, não foi possível comprovar a influência isolada desse gene sobre a doença.

Com o objetivo de avaliar se os fatores já investigados isoladamente (estresse, qualidade do ambiente e polimorfismo no gene *APOE*) possuem alguma influência em conjunto sobre a fibromialgia, foi realizada uma análise de regressão logística multivariada, na qual variáveis de interação foram inseridas. A Tabela 3 mostra parâmetros de cada modelo testado pelo método de modelagem *backward*. A partir desses dados, é possível perceber que os parâmetros relativos aos diferentes modelos praticamente não são modificados com as retiradas das variáveis de interação, e que todas as regressões realizadas são altamente significantes (P < 0,001). Desta maneira, o modelo escolhido foi o 5º apresentado, uma vez que nele estão presentes os menores intervalos de confiança para os valores de *odds ratio* (OR). Assim, a Tabela 4 mostra o modelo de regressão mais adequado, com a interpretação da interação detectada. Esses dados confirmaram a influência do meio ambiente sobre a doença, uma vez que detectamos que pessoas com escores do domínio avaliado inferiores a 13,05 (percentil 50), ou seja, pessoas com uma má qualidade do meio ambiente possuem uma chance 57,7 vezes maior de desenvolver fibromialgia (P = 0,001). Da mesma forma, a relação entre fibromialgia e estresse foi confirmada por esta análise (OR = 197,2; P = 0,001), mas nenhuma interação entre níveis de estresse e meio ambiente foi detectada. Esta análise demonstrou que a presença dos dois alelos raros do gene *APOE* (E\*2 e E\*4) não está associada isoladamente com a chance de desenvolver fibromialgia, mas que existe uma interação significativa entre a presença do alelo E\*2 e os níveis de estresse (P = 0,028). Assim, o cálculo dos

**Tabela 4**

Parâmetros do melhor modelo da análise de regressão logística múltipla

	OR (95% CI)	P	beta
WHOQOL <sup>a</sup>	57,7 (5,0 – 665,7)	0,001	4,06
Lipp <sup>b</sup>	197,2 (8,6 – 4.507)	0,001	5,28
Portadores de E*2	5,5 (0,39 – 78,4)	0,205	1,71
Portadores de E*4	0,069 (0 – 23,0)	0,367	-2,68
<b>Lipp<sup>b</sup> x E*2</b>	<b>0,004 (0 – 0,55)</b>	<b>0,028</b>	<b>-5,50</b>
<b>Interpretação da interação Lipp<sup>a</sup> x E*2</b>			
		<b>beta</b>	<b>OR</b>
- altos níveis de estresse ( <b>beta Lipp = 1</b> ) e portadores de E*2 ( <b>beta Lipp<sup>a</sup> x E*2 = 1</b> ) = 5,28 + (-5,50)		0,06	<b>1,06</b>
- altos níveis de estresse ( <b>beta Lipp = 1</b> ) e <u>não</u> portadores de E*2 ( <b>beta Lipp<sup>a</sup> x E*2 = 0</b> ) = 5,28 + 0		5,58	<b>265,1</b>

<sup>a</sup>Escores totais do domínio V do WHOQOL foram divididos de acordo com o percentil 50 em menores de 13,05 (1), e maiores de 13,05 (0);<sup>b</sup>Níveis de estresse foram recodificados como exaustão ou quase exaustão (1), e sem estresse a resistência (0).

OR estimados em cada grupo mostra que no grupo de mulheres portadoras do alelo E\*2 e com altos níveis de estresse, a chance de desenvolver a doença é de 1,06, enquanto no grupo de não portadoras de E\*2, mas ainda com altos níveis de estresse, essa chance aumenta para 265,1, demonstrando assim um possível papel protetor da presença do alelo E\*2.

## DISCUSSÃO

O presente trabalho procurou realizar uma investigação sobre a relação entre níveis de estresse, qualidade do meio ambiente, a variação no gene APOE, e a maneira como essas variáveis interagem para influenciar a suscetibilidade à fibromialgia. Uma vez que esta se trata de uma síndrome com etiologia multifatorial, ainda pobremente entendida, o aumento do número de estudos sobre suas bases, tanto fisiológicas quanto genéticas e ambientais, é de extrema importância.

A utilização do instrumento para avaliação de estresse de Lipp mostrou um alto nível de estresse entre pacientes. Apesar da relação entre estresse e fibromialgia já ter sido apontada na literatura,<sup>3,4</sup> até o momento nenhum trabalho havia investigado essa relação em pacientes brasileiros. Os presentes dados mostraram um número altíssimo (95%) de mulheres com fibromialgia que se enquadraram em algum nível de estresse, contra 51.2% da amostra controle. Esses números são bem maiores do que aqueles já detectados em outras investigações brasileiras. Moreira *et al.*,<sup>16</sup> ao investigar mulheres inférteis, detectou que quase 62% possuíam algum nível de estresse. Santos e Alves

Jr.,<sup>17</sup> avaliando estudantes de mestrado em Sergipe, detectaram um valor de 40.7%, embora o mesmo tenha tido uma variação expressiva entre os sexos: 80% das mulheres e 18% dos homens. Outro estudo que mostra que o estresse é mais frequente em mulheres é o de Calais *et al.*,<sup>18</sup> em uma amostra de jovens em Campinas, registrando que 79% de jovens do sexo feminino possuíam estresse, comparando com 52% de jovens do sexo masculino. Desta maneira, os dados apresentados mostram que a relação entre estresse e fibromialgia é bastante forte, uma vez que até o momento, a maior frequência de estresse encontrada em estudos brasileiros ocorreu em nossa amostra de pacientes. No entanto, alguns trabalhos mostram que mulheres são muito mais propensas a apresentar esse quadro, e como nossa amostra é composta somente de mulheres, este poderia ser um fator de confusão. Para testar essa hipótese, nossa amostra de pacientes foi comparada com uma amostra controle, composta também somente de mulheres, na qual a frequência de estresse detectada (51.2%) esteve dentro da faixa de variação já detectada por outros trabalhos com mulheres saudáveis, que gira em torno de 36%.<sup>16, 17</sup>

Com relação aos níveis de estresse, uma proporção preocupante de nossa amostra de pacientes se enquadrou nos dois níveis superiores e exaustão e quase exaustão (67.5%), quando comparada a 8.6% de nossa amostra controle. Esses dados são superiores a todos já encontrados na literatura brasileira: em mulheres inférteis, esta frequência foi de 12.7%,<sup>16</sup> enquanto em mulheres saudáveis, esse valor variou em torno de zero ou próximo deste valor em jovens,<sup>17,18</sup> 7,4% em mulheres adultas<sup>16</sup>

até 15% e 23% em adultos residentes em São Paulo (capital e interior, respectivamente).<sup>19</sup> Desta maneira, percebemos que os dados de estresse detectados na presente análise estão dentro da faixa de variação já detectada para indivíduos saudáveis, mas são muito superiores a qualquer outro valor já registrado, quando se trata de pacientes com fibromialgia. Isto demonstra a importante relação entre essa doença e o estresse, mas infelizmente, não é possível sugerir uma relação de causa e efeito, uma vez que ambas as possibilidades são plausíveis: tanto a fibromialgia pode aumentar a chance de desenvolver estresse, quanto o surgimento do estresse pode aumentar a chance de desenvolver a doença. Essa é uma hipótese que deve ser testada com estudos longitudinais e prospectivos.

Toda a literatura existente mostra que a fibromialgia se trata de uma doença multifatorial e, portanto, o domínio V do questionário WHOQOL foi escolhido para avaliar a relação entre meio ambiente e a chance de surgimento da doença. Uma vez que o tipo de pergunta utilizada neste instrumento possibilita que seja adaptada para um tempo passado, esse método foi utilizado para realizar uma investigação retrospectiva e, portanto, em pacientes o questionário foi aplicado com base no período anterior ao desenvolvimento da doença. Essa abordagem permitiu que os resultados finais sobre meio ambiente fossem relacionados com o surgimento da doença, e não como uma consequência dela. Assim, foi possível detectar uma qualidade do meio ambiente significativamente inferior em pacientes, quando comparada à amostra controle ( $P < 0,001$ ). Obviamente, como em qualquer estudo com delineamento retrospectivo, existe a possibilidade de as pacientes não terem sido capazes de responder fielmente às perguntas, com base em seu período saudável, mas que tenham se deixado influenciar pela doença. Por outro lado, uma análise subjetiva das pesquisadoras que aplicaram o instrumento mostra que as pacientes tenderam a ser excessivamente otimistas com relação ao período anterior ao surgimento dos sintomas, uma vez que compararam suas vidas com o período atual. De qualquer modo, os dados detectados ainda mostram uma forte relação entre ambiente e fibromialgia, e os valores detectados para pacientes e controles estão dentro da faixa de variação encontrada na literatura.<sup>20-23</sup>

A relação entre os escores do domínio V do WHOQOL e outras doenças, embora não tendo sido avaliada de maneira retrospectiva, já foi investigada por vários outros trabalhos no mundo inteiro. No entanto, poucos detectaram uma associação significativa entre os escores do domínio V com alguma doença ou característica. A relação entre qualidade do meio ambiente diminuída e doença de Parkinson foi detectada por Valeikiene *et al.*,<sup>23</sup> embora Schestatsky *et al.*<sup>24</sup> não tenham detectado diferença entre pacientes e seus cuidadores. Uma investigação

com trabalhadores de uma montadora de carros da Malásia mostrou que os escores do domínio V foram correlacionados positivamente com controle no trabalho, suporte social, saúde física, status psicológico e relações sociais, e negativamente com demanda de trabalho, estresse, ansiedade e depressão.<sup>22</sup> Por outro lado, os escores deste domínio não foram significativamente associados com aderência ao tratamento para diabetes melito tipo 2,<sup>25</sup> osteoartrite,<sup>23</sup> envelhecimento bem sucedido,<sup>26</sup> exercício físico em pacientes de radioterapia,<sup>21</sup> narcolepsia<sup>27</sup> e lúpus eritematoso sistêmico.<sup>28</sup> A maior parte destes trabalhos determinou associações significantes entre as doenças investigadas e os escores do outros domínios do WHOQOL, mostrando que o instrumento é eficiente, mas que aparentemente, o meio ambiente não possui relação com essas características. Assim, a análise demonstrada detecta a importância da relação entre meio ambiente e fibromialgia especificamente, uma vez que conseguimos encontrar uma associação significativa que nem sempre é encontrada na literatura, e que não havia sido ainda investigada para essa doença em nenhum trabalho mundial.

O último objetivo do presente trabalho foi avaliar se a variação no gene da apolipoproteína E poderia estar associada com o aparecimento da fibromialgia. Esse gene foi escolhido devido ao seu papel sobre a resposta ao estresse, e também à modificação no limiar da dor, mostrado tanto em estudos com humanos quanto em modelos animais.<sup>8-11</sup> Além disto, uma breve revisão da literatura mostra que o polimorfismo encontrado neste gene está relacionado com aumento da suscetibilidade a uma série de doenças, como por exemplo a doença de Alzheimer,<sup>29,30</sup> doença de Parkinson,<sup>31</sup> colelitíase,<sup>32</sup> aterosclerose,<sup>33</sup> densidade óssea,<sup>34</sup> artrite reumatoide,<sup>35</sup> depressão na 3ª idade,<sup>36</sup> esquizofrenia e transtorno bipolar,<sup>37</sup> dentre outras. Ainda assim, até o momento, nenhuma investigação tentou determinar a associação entre a variação no gene APOE e a suscetibilidade à fibromialgia, em nenhuma população do mundo, embora outros genes já tenham sido relacionados com a doença, como, por exemplo, o receptor de serotonina 5HT2A,<sup>6</sup> e a região HLA.<sup>38</sup> Os dados apresentados neste trabalho não mostram nenhuma relação significativa entre a presença dos alelos raros deste gene (E\*2 e E\*4) e a suscetibilidade à fibromialgia (Tabela 3). No entanto, quando uma análise multivariada foi realizada, procurando detectar a relação entre fibromialgia, o gene APOE, a qualidade do ambiente, e níveis de estresse, uma interação significativa foi identificada entre a presença do alelo E\*2 e níveis de estresse (Tabela 4). Não existe nenhum trabalho na literatura mundial, com o qual possamos comparar esta análise. Além disto, é preciso uma grande cautela no momento de interpretar estes dados, devido a limitações inerentes ao questionário Lipp, e

ao baixo poder estatístico ocasionado pelo pequeno tamanho amostral, o que provoca um aumento excessivo dos valores de OR detectados. Desta maneira, apesar de nossos dados sugerirem uma interação entre estresse e o gene APOE, é necessária uma grande cautela na interpretação dos mesmos, especialmente no que se relaciona à magnitude dos valores de OR estimados.

Primeiramente, uma vez que o inventário de estresse aplicado é adequado para detectar sintomas atuais, ou no máximo dos dias anteriores, possui a limitação de não poder ser aplicado de maneira retrospectiva. Assim, se torna impossível estabelecer uma relação causal para a forte relação encontrada entre estresse e fibromialgia, de maneira que qualquer uma das duas características pode desencadear a outra. Portanto, o papel protetor da presença do alelo E\*2 pode ser interpretado como proteção para o aparecimento da doença em mulheres com altos níveis de estresse, ou como proteção para o desenvolvimento de altos níveis de estresse em pacientes com fibromialgia. A única maneira de testar essas hipóteses seria a realização de

um estudo prospectivo, o que deve ser grandemente encorajado para próximas pesquisas sobre o assunto. Além dessa questão, existe obviamente a possibilidade dos presentes dados refletirem um erro tipo I, ocasionado pelo pequeno tamanho amostral.

Apesar das limitações discutidas, a importância do presente trabalho reside principalmente no fato de se tratar do primeiro a investigar a relação entre o gene APOE e a fibromialgia. Os dados aqui apresentados mostraram uma influência significativa da presença do alelo E\*2, atuando como protetor para a relação existente entre estresse e fibromialgia, embora esteja fora do objetivo do presente estudo determinar qual desses dois eventos é o agente causador. Além disto, uma revisão do papel fisiológico da apo E mostra que ela possui uma influência sobre a fisiologia do estresse ao menos em modelos animais, o que dá suporte para a influência detectada em nossa amostra. No entanto, acreditamos que a interação identificada no presente trabalho deve servir como geradora de uma hipótese a ser investigada em amostras maiores, a fim de contribuir para o aumento do conhecimento sobre a etiologia da fibromialgia.

## REFERÊNCIAS

### REFERENCES

1. Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, Bennett RM, Bombardier C, Goldenberg DL. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of fibromyalgia: report of the multicenter criteria committee. *Arthritis Rheum* 1990; 33(2):160-72.
2. Neumann L, Buskila D. Epidemiology of Fibromyalgia. *Current Pain and Headache Reports*, 2003; 7:362-8.

3. Buskila D. Genetics of chronic pain states. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2007; 21(3):535-47.
4. Wood BP. Stress and dopamine: implications for the pathophysiology of chronic widespread pain. *Med Hypotheses* 2004; 62:420-4.
5. van Houdenhove B, Egle U, Luyten P. The Role of Life Stress in Fibromyalgia. *Curr Rheumatol Rep* 2005; 7:365-70.
6. Bondy B, Spaeth M, Offenbaecher M, Glatzeder K, Stratz T, Schwarz M *et al.* The T102C polymorphism of the 5-HT<sub>2A</sub>-Receptor Gene in Fibromyalgia. *Neurobiol Dis* 1999; 6:433-9.
7. Frank B, Niesler B, Bondy B, Späth M, Pongratz DE, Ackenheil M *et al.* Mutational analysis of serotonin receptor genes: HTR3A and HTR3B in fibromyalgia patients. *Clin Rheumatol* 2004; 23:338-44.
8. VanderPutten DM, Cameron BM, Merrill CR. Increased apolipoprotein-E concentrations in individuals suffering chronic low back syndrome identified by two-dimensional gel electrophoresis. *Appl Theor Electrophor* 1993; 3:247-52.
9. Cameron BM, VanderPutten DM, Merrill CR. Preliminary study of an increase of a plasma apolipoprotein E variant associated with peripheral nerve damage. A finding in patients with chronic spinal pain. *Spine* 1995; 20:581-9.
10. Gordon I, Ben-Eliyahu S, Rosenne E, Sehayek E, Michaelson DM. Derangement in stress response of apolipoprotein E-deficient mice. *Neurosci Letters* 1996; 206:212-4.
11. Choudhuri R, Cui L, Yong C, Bowyer S, Klein RM, Welch KM *et al.* Cortical spreading depression and gene regulation: relevance to migraine. *Ann Neurol* 2002; 51:499-506.
12. Lipp MN. Manual do inventário de sintomas de stress de Lipp. São Paulo: Casa do Psicólogo, 2000.
13. Fleck M, Louzada S, Xavier M, Chachamovich E, Vieira G, Santos L *et al.* Desenvolvimento e aplicação da versão em português do instrumento de avaliação de qualidade de vida da Organização Mundial da Saúde (WHOQOL-100). *Revista HCPA* 1999; 19(1):9-24.
14. Lahiri DK, Nurnberger JI. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res* 1991; 19:5444.
15. de Andrade FM, Larrandaburu M, Callegari-Jacques SM, Gastaldo G, Hutz MH. Association of apolipoprotein E polymorphism with plasma lipids and Alzheimer's disease in a Southern Brazilian population. *Br J Med Biol Res* 2000; 33:529-37.
16. Moreira SNT, Melo COM, Tomaz G, de Azevedo GD. Estresse e ansiedade em mulheres inférteis. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2006; 28(6): 358-64.
17. Santos AF, Alves Jr A. Estresse e estratégias de enfrentamento em mestrandos de ciências da saúde. *Psicologia: Reflexão e crítica* 2007; 20 (1):104-13.
18. Calais SL, de Andrade LMB, Lipp MEN. Diferenças de Sexo e Escolaridade na Manifestação de Stress em Adultos Jovens. *Psicologia: Reflexão e crítica*, 2003; 16(2):257-63.
19. da Silva EAT, Martinez A. Diferença em nível de *stress* em duas amostras: capital e interior do estado de São Paulo. *Estudos de Psicologia Campinas*, 2005; 22(1):53-61.
20. dos Santos ECM, França Jr I, Lopes F. Quality of life of people living with HIV/AIDS in São Paulo, Brazil. *Rev Saúde Pública* 2007; 41(Supl. 2):1-7.
21. Hwang JH, Chang HJ, Shim YH, Park WH, Park W, Huh SJ *et al.* Effects of Supervised Exercise Therapy in Patients Receiving Radiotherapy for Breast Cancer. *Yonsei Med J* 2008; 49(3):443-50.
22. Rusli BN, Edimansyah BA, Naing L. Working conditions, self-perceived stress, anxiety, depression and quality of life: A structural equation modelling approach. *BMC Public Health* 2008; 8:48.
23. Valeikiene V, Ceremnych J, Alekna V, Juozulynas A. Differences in WHOQOL-100 domain scores in Parkinson's disease and osteoarthritis. *Med Sci Monit* 2008; 14(4):CR221-7.
24. Schestatsky P, Zanatto VC, Margis R, Chachamovich E, Reche M, Batista RG *et al.* Quality of life in a Brazilian sample of patients with Parkinson's disease and their caregivers. *Rev Bras Psiquiatr* 2006; 28(3):209-11.
25. Martínez YV, Prado-Aguilar CA, Rascón-Pacheco RA, Valdivia-Martínez JJ. Quality of life associated with treatment adherence in patients with type 2 diabetes: a cross-sectional study. *BMC Health Services Research* 2008; 8:164.
26. de Moraes JFD, de Azevedo e Souza VB. Factors associated with the successful aging of the socially-active elderly in the metropolitan region of Porto Alegre. *Rev Bras Psiquiatr* 2005; 27(4):302-8.
27. Rovere H, Rossini S, Reimão R. Quality of life in patients with narcolepsy - a WHOQOL-Bref study. *Arq Neuropsiquiatr* 2008; 66(2-A):163-7.
28. Khanna S, Pal H, Pandey RM, Handa R. The relationship between disease activity and quality of life in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2004; 43:1536-40.
29. Laws SM, Hone E, Gandy S, Martins RN. Expanding the association between the APOE gene and the risk of Alzheimer's disease: possible roles for APOE promoter polymorphisms and alterations in APOE transcription. *J Neurochem* 2003; 84:1215-36.
30. Bertram L, McQueen MB, Mullin K, Blacker D, Tanzi R. Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database. *Nat Genet* 2007; 39:17-23.
31. Huang X, Chen PC, Poole C. APOE-[epsilon] 2 allele associated with higher prevalence of sporadic Parkinson disease. *Neurology* 2004; 62:2198-202.
32. Hasegawa K, Terada S, Kubota K, Itakura H, Imamura H, Ohnishi S *et al.* Effect of apolipoprotein E polymorphism on bile lipid composition and the formation of cholesterol gallstone. *Am J Gastroenterol* 2003; 98:1605-9.
33. Paternoster L, González NA, Lewis S, Sudlow C. Association between apolipoprotein E genotype and carotid intima-media thickness may suggest a specific effect on large artery atherothrombotic stroke. *Stroke* 2008; 39:48-54.
34. Lee SI, Lee SY, Yoo WH. Association of apolipoprotein E polymorphism with bone mineral density in postmenopausal women with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44:1067-8.
35. Maury CP, Liljeström M, Tiitinen S, Laiho K, Kaarela K, Ehnholm C. Apolipoprotein E phenotypes in rheumatoid arthritis with or without amyloidosis. *Amyloid* 2001; 8:270-3.
36. Yen YC, Rebok GW, Gallo JJ, Yang MJ, Lung FW, Shih CH. ApoE4 allele is associated with late-life depression: a population-based study. *Am J Geriatr Psychiatry* 2007; 15:858-68.
37. Digney A, Keriakous D, Scarr E, Thomas E, Dean B. Differential changes in apolipoprotein E in schizophrenia and bipolar I disorder. *Biol Psychiatry* 2005; 57:711-5.
38. Yunus MB, Khan MA, Rawlings KK, Green JR, Oslon JM, Sahah S. Genetic linkage analysis of multicase families with fibromyalgia syndrome. *J Rheumatol*.1999; 26:408-12.