



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

**Evaluación Inmunológica en
Pacientes con Fibromialgia Tipo I**

D^a María Gema Salgado Cecilia

2019



UNIVERSIDAD DE MURCIA FACULTAD DE MEDICINA

EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA EN PACIENTES CON FIBROMIALGIA TIPO I

Memoria presentada por la licenciada M^a Gema Salgado Cecilia para optar al grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

Murcia, 2019

D PEDRO MARTÍNEZ GARCÍA, Doctor en Biología por la Universitat de Les Illes Balears, Especialista en Inmunología, adjunto del Servicio de Inmunología del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca del Servicio Murciano de Salud.

AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA EN PACIENTES CON FIBROMIALGIA TIPO I", realizada por DÑA. MARÍA GEMA SALGADO CECILIA, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes firmo la presente en Murcia, a 23 de septiembre de 2019.



Fdc. Pedro Martínez García



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

D^a. Lourdes Gimeno Arias, Doctora de Universidad del Área de Anatomía y Embriología Humana en el Departamento de Anatomía Humana y Psicobiología, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "Evaluación Inmunológica en pacientes con Fibromialgia tipo I", realizada por D^a. M^a Gema Salgado Cecilia, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 23 de Septiembre de 2019

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Lourdes", with a long horizontal stroke extending to the right.

D^a ANA MARÍA GARCÍA ALONSO, Doctora en Medicina por la Universidad de Murcia, Especialista en Inmunología, jubilada del Servicio de Inmunología del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca del Servicio Murciano de Salud.

AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA EN PACIENTES CON FIBROMIALGIA TIPO I", realizada por D^{ña}. MARÍA GEMA SALGAO CECILIA, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes firmo la presente en Murcia, a 23 de septiembre de 2019.



Fdo. Ana Maria Garcia Alonso

Para todas aquellas personas importantes en mi vida:

Para mis padres y mi hermana, a quienes tanto amo,

Para mi familia y amigos

Para mis compañeros

Para todos vosotros,

A quienes tanto quiero y admiro.

AGRADECIMIENTOS:

Quiero expresar mi agradecimiento más sincero a todas aquellas personas que durante estos años me habéis ayudado de una manera u otra a realizar y finalizar este trabajo.

A mis directores de tesis, los Dres Lourdes Gimeno Arias, Pedro Martínez, y Ana M^a Garcia Alonso por dirigirme a lo largo de estos años, por su ayuda en la consecución, redacción y corrección de este trabajo, por su paciencia y sus consejos, y por estar siempre ahí cuando los he necesitado.

Al mi tutor el Dr. Antonio Ruíz, por ofrecerme su ayuda siempre que le he necesitado y por mantenerme siempre informada de los trámites administrativos de la universidad.

A los Dres Alberto Bermudez Torrente, Isabel Lozano Olmos, Anselmo Martínez León y Ana María Montoya Perís, de los servicios de Reumatología, Psiquiatría y Atención primaria, por su implicación en este proyecto, por estar siempre dispuestos a colaborar y por facilitarnos las muestras y los datos clínicos de los pacientes con FM que han participado en este estudio.

Al Dr. Manuel Muro Amador, jefe del servicio de Inmunología por su apoyo en este proyecto. A la Dra. Maria del Rocío Alvarez López que alentó la investigación en este tema durante su etapa como Jefa de Servicio de Inmunología.

A la Asociación Murciana de Síndrome de Fátiga Crónica y Fibromialgia de la región de Murcia (AFFIRMA), sin cuyo colaboración no hubiese sido posible abordar este trabajo, y en especial a los pacientes y controles sanos que han participado en este estudio, que demuestran una gran calidad humana y generosidad al querer ayudar a otras personas en su misma situación, sin su colaboración y aportación desinteresadas este estudio no hubiera sido posible.

A Toñi Bernal, Sandra Soriano, Beatriz Las Heras, Anna Mrowiec, Isabel Legaz y Francisco Boix, por su excelente labor técnica, y gracias a la cual ha sido posible concluir este trabajo.

A Jose Miguel Bolarín y Guadalupe Ruíz, por resolver mis dudas respecto al análisis estadístico y estar siempre disponibles cuando os he necesitado, y por vuestra amistad.

A todos mis compañeros y compañeras de servicio de inmunología del HCUVA.

A mis amigas Susana, Belén, Rocío, Ruthi, por estar a mi lado, siempre apoyándome, en los buenos y malos momentos, por animarme siempre a continuar y concluir este trabajo, por su amistad y por sacarme siempre una sonrisa.

A mis compañeras y además amigas de los "QCR", Vicki, Rocío y Guadalupe.

Y en especial a Helios, por tu amistad siempre desinteresada, tu apoyo incondicional, tu paciencia infinita, y por todos los buenos momentos que hemos pasado juntos y que han hecho que este trayecto fuera mucho más agradable. Sin tu ayuda simplemente no hubiera podido. Gracias.

Y por último a mis padres, Aniceto y Esther, y a mi hermana Esthercita, las personas más importantes en mi vida, por vuestro amor incondicional, apoyo, sinceridad, compañía, cariño y comprensión.

“Nada en este mundo debe ser temido...solo entendido. Ahora es el momento de entender más, para que podamos temer menos”

Marie Curie

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

ACR	Sociedad Americana de Reumatología, del inglés “ <i>American College of Rheumatology</i> ”
ACs	ACS.
ACTH	Hormona Adrenocorticotropa
AEM	Agencia Europea del Medicamento
AEMS	Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitario
AINE	Antiinflamatorios No Esteroideos
AJI	Artritis Juvenil Idiopática
AR	Artritis Reumatoide
AFFIRMA	Asociación Murciana de Síndrome de Fátiga Crónica y Fibromialgia de la región de Murcia
Asn	Aspargina
BBAT	Terapia de conciencia corporal básica, del inglés “ <i>Basic Body Awareness Therapy</i> ”
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro, del inglés “ <i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i> ”
CGI	Escala de Impresión Clínica Global de Salud, del inglés “ <i>Clinical Global Impression</i> ”.
CIE	Clasificación Internacional de Enfermedades
CMH	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
CMV	Citomegalovirus
COS	Cuestionario de Oviedo del Sueño
CRH	Hormona Liberadora de Corticotropina, del inglés “ <i>Corticotropin Liberar Hormone</i> ”
CCV	Cuestionario sobre Calidad de Vida
DA	Dopamina
DM	Diabetes Mellitus
DO	Densidad Óptica
DS	Desviación estándar

EA	Espondiloartritis Aquilosa
EBV	Virus del Epstein Barr, del inglés "Epstein Barr Virus"
EG	Enfermedad de Graves
EII	Enfermedad Inflamatoria Intestinal
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas, del inglés " <i>Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay</i> "
EM	Esclerosis Múltiple
EMT	Estimulación Magnética Trascraneal
ES	Esclerosis Sistémica
EVA	Escalas Visuales Analógicas
FIQ	Cuestionario de impacto de la fibromialgia , del inglés, " <i>Fibromyalgia impact questionnaire</i> "
FM	Fibromialgia
GrpMI	Música de Grupo e Intervención de imágenes, del inglés "Randomized Trial of a Group Music and Imagery Method"
HARS	Test HAMILTON para evaluar la ansiedad, del inglés <i>Hamilton Anxiety Rating Scale</i>
HCUVA	Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca
HDRS	Escala HAMILTON para evaluar el grado de Depresión, del inglés " <i>Hamilton Depression Rate Scale</i> "
HHA	Hipotálamo-Hipofisario-Adrenal
HLA	Antígeno Leucocitario Humano, del inglés " <i>Human Leukocyte Antigens</i> "
5-HT	Serotonina
HRP	Peroxidasa de rábano, del inglés " <i>Horseradish Peroxidase</i> "
HSP	Proteínas de Choque Térmico, del inglés, " <i>Heat Shock Proteins</i> "
HVR	Región hipervariable del inglés, " <i>Hypervariable Region</i> "
IASP	Asociación Internacional para el Estudio del Dolor, del inglés " <i>International Association for the Study of Pain</i> "
IFI	Inmunofluorescencia Indirecta
IFN-	Interferon gamma
Igs	Inmunoglobulinas

IL	Interleuquinas
IL-2R	Receptor de la IL-2
Ile	Isoleucina
IL-1	Interleuquina 1 beta
IL-4	Interleuquina-4
IL-6	Interleuquina-6
IL-8	Interleuquina-8
IL-10	Interleuquina-10
IL-17	Interleuquina-17
IL-1RA	Antagonista del Receptor de la IL-1, del inglés " <i>IL-1 receptor antagonist</i> "
IRSN	Inhibidor de la Recaptación de Serotonina y Norepinefrina
ITIM	Motivos de Inhibición del inmunoreceptores basado en tirosina, del inglés " <i>Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibition Motif</i> "
ITAM	Motivo de activación del inmunorreceptores basado en tirosina, del inglés, " <i>Immunoreceptor Tyrosine-based Activating Motif</i> "
kDa	KiloDalton
KIR	Receptores de las células NK, del inglés " <i>Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor</i> "
LCR	Líquido Ceforraquideo
LES	Lupus Eritematoso Sistémico
Lys	Lisina del, inglés " <i>Lysine</i> "
LPS	Lipopolisacárido
LRC	Complejo de receptores leucocitarios, del inglés " <i>Leukocyte Receptor Complex</i> "
MCD	Modulación Condicionada del Dolor
Mb	Megabases
NA	Noradrenalina
NK	Asesina Natural , del inglés "Natural Killer"
NT	Neurotrasmisor
NWC	Número de palabras elegido, del inglés " <i>Number of Word</i> "

	<i>Chosen</i> ”
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	Odds Ratio
PBMCs	Células monocleares de sangre periférica, del inglés “ <i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i> ”
PET	Tomografía de Emisión de Positrones, del inglés “Positrón Emission Tomography”
PHA	Fitohemaglutinina, del inglés “ <i>Phytohaemagglutinin</i> ”
PPI	Índice de intensidad de dolor, del inglés “ <i>Present Pain Index</i> ”
PRI	Índice de valoración del dolor, del inglés “ <i>Pain rating index</i> ”
TEPT	Trastorno por Estrés Postraumático.
SA-PE	Estreptavidina conjugada con R-ficoeritrina, del inglés “ <i>Streptavidine-R-Phycoerythrin</i> ”
SCID-I/P	Entrevista clínica estructurada para los trastornos del eje I del DMS , del inglés “ <i>Structured Clinical Interview for DSM IV Axis I Disorders-Patient Edition</i> ”
SER	Sociedad Española de Reumatología
SI	Sistema Inmunitario
SN	Sistema Nervioso
SNC	Sistema Nervioso Central
SPECT	Tomografía Computarizada con Emisión de Fotón Simple, del inglés “ <i>Photon Emission computed tomography</i> ”
SS	Síndrome de Sjögren
SSC	Síndrome de Sensibilización Central
SSS	Escala de Severidad de los Síntomas, del inglés “ <i>Symptom Severity Scale</i> ”.
TCC	Terapia Cognitivo Conductual
TCO	Terapia Conductual Operante
TCR	receptor de la células T , del inglés T cell receptor
TENS	Termoterapia, Estimulación Nerviosa Transcutánea
TGF- .	Factor de crecimiento transformante beta 1, del inglés “ <i>Transforming Growth Factor Beta</i> ”
TH	Tiroiditis de Hashimoto

Thr	Treonina
TLR	Receptores tipo Toll del inglés, <i>“Toll Like Receptors”</i>
TNF-	Factor de Necrosis Tumoral alfa , del ingles, <i>“Tumor Necrosis Factor alfa “</i>
TP	Puntos sensibles , del inglés <i>“Tender Points”</i>
TPI	Índice de puntos sensibles, del inglés <i>“Tender Point Index”</i>
WPI	Índice de Dolor Generalizado, del inglés <i>“ Windespread Pain Index”</i>

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	
1. ASPECTOS HISTÓRICOS Y DEFINICIÓN ACTUAL.	1
2. DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN CLÍNICA.	3
3. EPIDEMIOLOGIA Y PREVALENCIA DE LA FIBROMIALGIA.	8
4. EVOLUCIÓN Y PRONÓSTICO.	8
5. ETIOLOGÍA.	9
5.1 Síndrome de Sensibilización Central	10
5.2. Otras teorías implicadas en la patogenia de la FM	14
5.2.1. Riesgo genético.	14
5.2.2. Alteraciones musculares y modulación del dolor	16
5.2.3. Factores neuropsicológicos, asociación con trastornos depresivos	16
5.2.4. Factores predisponentes a la FM: traumas durante la infancia, trastornos de estado de ánimo y ansiedad.	16
5.2.5. Factores inflamatorios y autoinmunitarios	17
6. INMUNOPATOGENIA DE LA FIBROMIALGIA: AUTOINMUNIDAD, FACTORES INFLAMATORIOS, SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA Y FACTORES AMBIENTALES.	19
6.1. Autoinmunidad.	19
6.1.1. Pérdida de los mecanismos de tolerancia.	19
6.1.2. AutoACS.	20
6.2. Factores inflamatorios.	22
6.2.1. Citoquinas.	23
6.2.2. Polimorfismos de citoquinas.	26
6.3. Factores de susceptibilidad genética.	28
6.3.1. Complejo Mayor de Histocompatibilidad: El sistema HLA y su polimorfismo.	28
6.3.2. HLA y enfermedad.	35
6.3.3. Receptores KIR.	36
6.3.3.1. Estructura molecular de los receptores KIR.	37
6.3.3.2. Ligandos HLA clase-I de los receptores KIR.	40
6.3.3.3. Interacción entre los receptores KIR y sus ligandos.	41
6.3.3.4. KIR y enfermedad.	45

6.4. Factores ambientales (agentes vivos de enfermedad).	46
7. TRATAMIENTO DE LA FM.	47
7.1. Tratamiento farmacológico:	49
7.2. Tratamiento no farmacológico.	51
HIPOTESIS Y OBJETIVOS	55
PACIENTES Y MÉTODOS	58
1. DISEÑO DEL ESTUDIO	58
2. DIAGNOSTICO DE FM	58
3. PACIENTES Y COTROLES	60
3.1. Criterios de selección de pacientes con FM	60
3.1.1. Criterios de inclusión de pacientes con FM	60
3.1.2. Criterios de exclusión de pacientes con FM	60
3.2. Criterios de selección de controles	61
3.2.1. Criterios de inclusión de controles	61
3.2.2. Criterios de exclusión de controles	61
3.3. Variables demográficas, clínicas y procedimentales	62
3.3.1. Variables demográficas y clínicas.	62
3.3.2. Cuestionarios utilizados para evaluar el impacto y la presentación de la enfermedad:	63
3.3.2.1. Cuestionario sobre la capacidad funcional de la FM (FIQ)	63
3.3.2.2. Cuestionario sobre Calidad de Vida (CCV)	65
3.3.2.3. Cuestionario del dolor de McGill .(MPI)	66
3.3.2.4. Índice de dolor generalizado e Índice de gravedad de síntomas.	69
3.3.2.5. Escala HAMILTON para evaluar el grado de Depresión (HDRS)	73
3.3.2.6. Test HAMILTON para evaluar el grado de la ansiedad. (HARS)	77
3.3.2.7. Cuestionario de Oviedo del Sueño (COS)	79
3.3.2.8. Escala de Impresión Clínica Global. (GPI)	81
3.3.3. Variables experimentales	82
4. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS	82
4.1. Extracción y amplificación del ADN	83

5. MÉTODOLOGÍA POR OBJETIVOS	83
5.1. OBJETIVO 1: DETERMINACIÓN DE AUTOACS EN SUERO	
5.1.1. Determinación de ACS IgG e IgM anti- serotonina	83
5.1.2. Determinación de ACS anti-Gangliósidos y otros ACS	85
5.1.3. Determinación de los niveles de serotonina en suero.	87
5.2. OBJETIVO 2: DETERMINACIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE CITOQUINAS PRO- Y ANTI-INFLAMATORIAS Y POLIMORFISMO DE CITOQUINAS	87
5.2.1. Cuantificación sérica de citoquinas pro- y anti- inflamatorias por Luminex	87
5.2.2. Cuantificación de TGF- por ELISA	90
5.2.3. Determinación del polimorfismo de citoquinas.	91
5.3. OBJETIVO 3: DETERMINACIÓN DE POLIMORFISMOS HLA/KIR.	96
5.3.1. Genotipaje de HLA-A, -B, - C y –DR por PCR-SSO	96
5.3.2. Genotipaje de HLA-A, -B, - C y –DR PCR-SSP	98
5.3.3. Genotipaje de los genes KIR.	101
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	102
RESULTADOS	104
1. SERIE ESTUDIADA Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS AL DIAGNÓSTICO	104
1.1. Datos demográficos.	104
1.2. Características clínicas al diagnóstico.	104
2. RESULTADOS POR OBJETIVOS.	
2.1. OBJETIVO 1. Cuantificación de ACS séricos anti-serotonina, anti-gangliósidos y otros autoACS relacionados, en pacientes con FM y controles.	110
2.1.1. Cuantificación de los ACS anti-serotonina en suero.	110
2.1.2. Cuantificación de los niveles de serotonina en suero de pacientes	113

con FM y en controles sanos	
2.1.3. Determinación de los ACS anti-gangliosidos y anti-sulfátidos	116
2.1.4. Determinación de otros autoACS relacionados	118
2.2. OBJETIVO 2. Determinación de niveles séricos de citoquinas pro- y anti-inflamatorias y polimorfismos de citoquinas	120
2.2.1. Cuantificación sérica de citoquinas pro- y anti inflamatorias por Luminex y ELISA	120
2.2.2. Análisis de polimorfismos genotípicos de citoquinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias.	120
2.3. OBJETIVO 3: Determinación de polimorfismos HLA/KIR.	131
2.3.1. Polimorfismo de los genes HLA en pacientes con FM	131
2.3.2. Polimorfismo de los genes KIR en pacientes con FM	143
2.3.3. Polimorfismo de los ligando de los genes KIR en pacientes con FM	148
2.3.3.1. Dimorfismo en posición 80 de los ligandos HLA-C en FM	148
2.3.3.2. Epítomos Bw4 y Bw6 en pacientes em FM.	150
 DISCUSIÓN.	 153
 CONCLUSIONES	 170
 BIBLIOGRAFIA	 172
 ANEXO	 206

INTRODUCCION

1. ASPECTOS HISTÓRICOS Y DEFINICIÓN ACTUAL.

El término fibromialgia (FM) procede del latín “*fibra*”, que hace referencia al tejido fibroso, del griego “*mío*” (músculo) y de “*algia*” (dolor), por lo tanto, la FM se podría definir como un dolor musculoesquelético, sin embargo, los criterios que definen la fibromialgia son variados y consecuencia de un proceso que evoluciona en el tiempo que aún no se ha definido con exactitud.

En 1815, *William Balfour*, un cirujano de la Universidad de Edimburgo, ya describió la FM como la presencia de nódulos o abultamientos en el músculo “*músculo reumático*” atribuyéndolo a un proceso inflamatorio del tejido conectivo (Fibrositis síndrome, 1989).

En 1843, el anatomista alemán *Robert R. Floriep* describió la existencia de unos lugares “*duros*” dolorosos a la presión en los músculos de la mayoría de los pacientes con reumatismo de partes blandas (Froriep R. et al., 1843; Julia Uceda Montañés, et al., 2000).

La primera definición oficial de la enfermedad se atribuye al neurólogo británico *Sir William Gowers*, quien introdujo el término “*fibrositis*” en 1904, definiendo la FM como un proceso inflamatorio (Gowers WR., 1904). Paralelamente, *Ralph Stockman*, de la Universidad de Glasgow, publicó diversos estudios en los que combinaba el concepto de nódulos con el concepto de tejido conectivo inflamado. Examinó microscópicamente los nódulos dolorosos y los describió como inflamatorios: “*hiperplasia inflamatoria del tejido conectivo*” (Stockman, R., 1904). A falta de otros estudios que confirmaran dichos hallazgos, durante muchos años el término fibrositis dominó la bibliografía en el campo de los síndromes musculares dolorosos.

Posteriormente, aparecen los conceptos de *síndrome doloroso miofascial* y *el reumatismo psicógeno* para referirse a la FM. El *síndrome doloroso miofascial*, fue introducido por Steindler, que mencionaba la existencia de los puntos dolorosos característicos de la FM (Steindler, A., 1938). Años más tarde, en 1952, *Travell JG* terminaría de describir clínicamente el cuadro de dolor miofascial (Travell JG, et al., 1983). En 1945, *Kelly y colaboradores*, trataron de explicar las características de la fibrositis, postulando su teoría refleja. En base a esta teoría, los impulsos que se generan en la lesión tisular viajarían al sistema nervioso central (SNC), donde tendrían lugar conexiones directas con otras células, desde donde estos impulsos

viajarían antidrójmicamente y producirían dolor en el punto miálgico. Además, desde estos puntos miálgicos se generarían impulsos que viajarían a áreas de dolor referido. *Kelly* postulaba que factores como el estrés o ciertas enfermedades podrían aumentar la excitabilidad del SNC, favoreciendo el desarrollo de la FM (*Kelly M. et al., 1945; M. López Espino et al., 2008*).

Durante este periodo, diversos estudios anatomopatológicos, realizados fundamentalmente en la Clínica Mayo, descartaron la presencia de inflamación en el tejido conectivo de los pacientes con fibrositis. Esto dio lugar a que en 1947, *Boland* introdujera el concepto de «reumatismo psicójeno o reumatismo tensional», basándose en la ausencia de hallazgos demostrables que justificasen la sintomatología, por lo que la FM se clasificó como una psiconeurosis (*Manuel López Espino, et al., 2008*)

Posteriormente, en 1975, *Hench* utilizó por primera vez el término fibromialgia para resaltar la ausencia de signos inflamatorios, y la importancia de los fenómenos dolorosos a nivel muscular, en algunas zonas concretas del cuerpo que se dan en esta enfermedad (*Casanuev, B., 2007*). Esto ocasionó el abandono progresivo del término fibrositis.

El término FM fue utilizado posteriormente por otros autores para desarrollar un método que cuantificara y discriminara este trastorno. *Smythe & Moldofsky* en 1977, publicaron los primeros criterios diagnósticos de la FM (*Smythe HA, et al., 1977*), y describieron la distribución de los puntos dolorosos y posible repercusión en la calidad del sueño y en los síntomas de fatiga asociados que se producen en los pacientes con esta patología.

En los años 90 la Sociedad Americana de Reumatología, ACR (del inglés “*American College of Rheumatology*”), estableció y publicó unos criterios de clasificación de la FM basados en la existencia de dolor crónico generalizado y de determinados “puntos dolorosos”, lo que permitió establecer un diagnóstico más certero de la enfermedad, la realización de estudios científicos más fiables y la mejora en el tratamiento de la misma (*Wolfe F, et al., 1990*).

Posteriormente, en 1992 el término FM fue reconocido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (*Quitner, 1992*), y recogido en su manual de Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-10) otorgándole el código M79.0 (WHO, 1992).

En 1994, la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), clasificó la FM dentro del grupo de Síndromes relativamente Generalizados (Merskey H, et al., 1994), siendo reconocida como una enfermedad universalmente aceptada (Casanuev, B., 2007)

En el año 2010, Wolfe y cols. publicaron unos nuevos criterios diagnósticos para la FM (Wolfe F, et al., 2010a), los cuales se encuentran en fase de evaluación en la actualidad. Mientras que los primeros criterios de la ACR del año 1990 definían la FM como una enfermedad crónica, exclusivamente dolorosa, actualmente se considera como un síndrome, constituido por un conjunto de signos y síntomas, entre los cuales el dolor es probablemente el más importante o característico de la enfermedad.

Hasta ahora, no se han descrito los mecanismos fisiopatológicos específicos de la FM. Además, algunos síntomas de la FM son compartidos con otras enfermedades que cursan con dolor crónico (Veale D, et al., 1991; Aaron LA, et al. 1994; Hasset AL, et al., 2010), por lo que existen dudas de que la FM pueda considerarse como una enfermedad con una fisiopatología específica y diferenciada (Hazemeijer I et al., 2003; Aceves-Ávila JJ. et al., 2004; Ferrari R, et al., 2007; Wolfe F et al., 2010 b).

Recientemente, la FM se ha relacionado con los llamados “síndromes de sensibilización central” (SSC) (Yunus MB. 2008; Henningsen P, et al., 2007). En esta línea, existen estudios que han puesto en duda la especificidad diagnóstica de los puntos dolorosos en la FM, ya que estos pueden variar en función del grado de estrés psicológico del paciente (Wolfe F et al., 2010b; Harden RN, et al., 2007). De esta manera, cabe destacar, que la utilización del recuento de puntos dolorosos ha sido excluida en los últimos criterios diagnósticos de la ACR para la FM (Wolfe F, et al., 2016).

2. DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN CLÍNICA.

Los primeros criterios diagnósticos de la ACR fueron establecidos en 1990 (Wolfe F, et al., 1990), y fueron revisados 20 años más tarde por la misma institución (Wolfe F et al., 2010 b). Estos criterios (1990) se convirtieron en un modelo aceptado en todo el mundo para el diagnóstico de la FM y establecen que el diagnóstico de la misma tiene que cumplir las siguientes condiciones:

1. Paciente con historia de dolor generalizado durante al menos tres meses de forma continua. El dolor debe aparecer en las siguientes áreas: lado derecho e izquierdo del cuerpo, por encima y por debajo de la cintura y en el esqueleto axial (columna cervical, pared torácica anterior, columna dorsal o columna lumbar). Por tanto, se cumplen las condiciones de dolor generalizado si existe dolor en alguna región del esqueleto axial y en, al menos, tres de los cuatro cuadrantes corporales (dividiendo el cuerpo con una línea vertical longitudinal que separe los dos hemicuerpos, derecho e izquierdo, y una línea transversal que pase por la cintura y separe las dos mitades superior e inferior) o, excepcionalmente si existe dolor en dos cuadrantes opuestos de los dos ejes de división corporal (Wolfe F, et al., 1990).
2. Ausencia de otra enfermedad sistémica que pueda causar el dolor y el resto de síntomas.
3. Dolor a la presión en al menos 11 de los 18 puntos simétricos (nueve pares) denominados, puntos gatillo o TP (Punto sensible, del inglés "*tender points*"), que corresponden a áreas muy sensibles, con bajo umbral para estímulos mecánicos. Los TP son los siguientes: occipital, cervical bajo, trapecio, supraespinoso, segundo espacio intercostal en la unión costal, epicóndilo, glúteo, trocánter mayor y rodilla (Figura 1.) La palpación digital de los TP ha de realizarse con una fuerza de 4 kilogramos, y el paciente debe indicar que ha sentido dolor a la palpación, para ser considerado TP positivo.

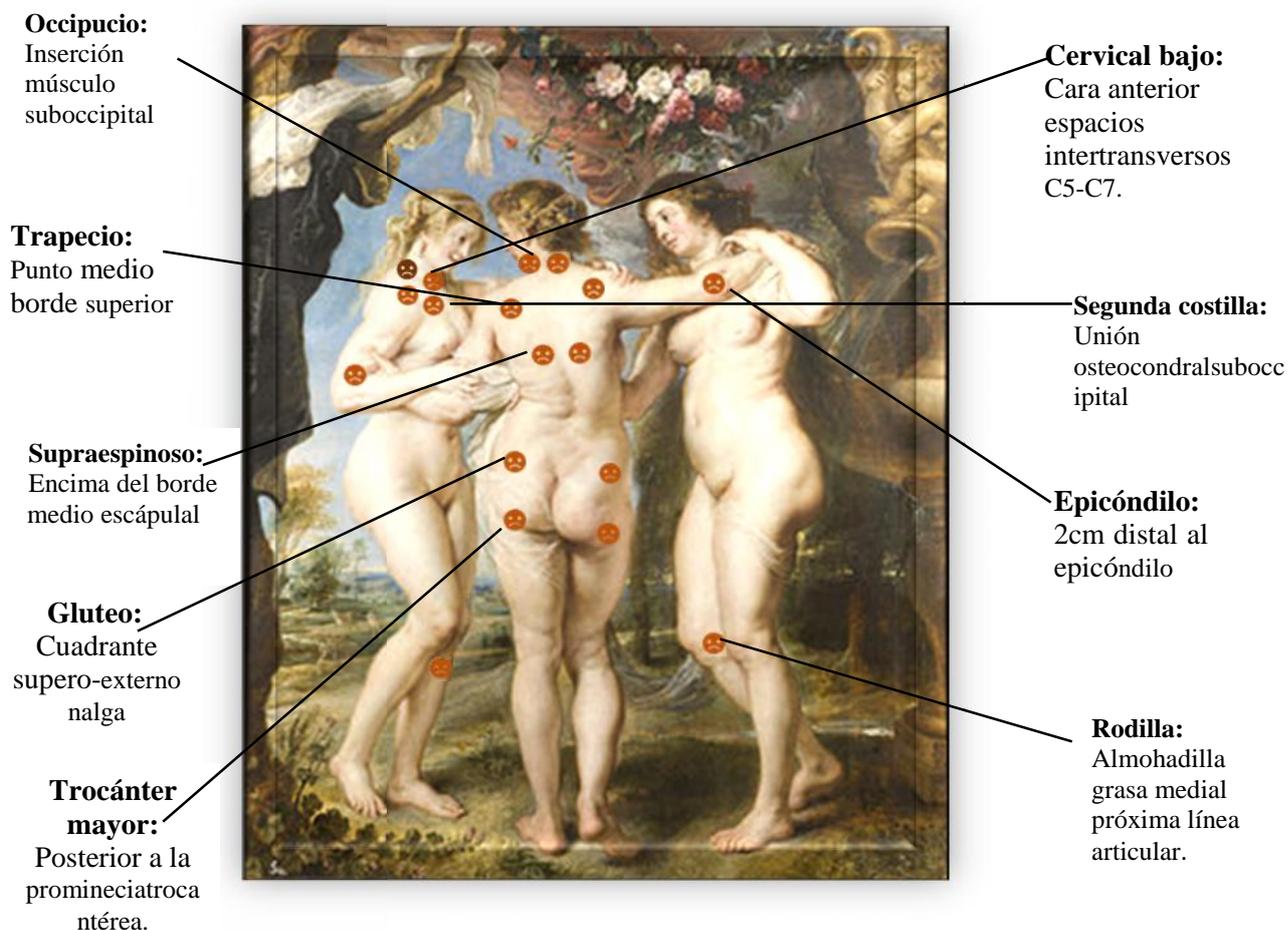


Figura 1. Localización de los 18 “puntos gatillo”. Modificado de libro Publicado por MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL E IGUALDAD 2011; ISBN: 978-84-7670-717-3

Para establecer el diagnóstico de FM es importante que los puntos dolorosos no presenten signos de inflamación. Además, existe la posibilidad de que los pacientes con FM presenten dolor provocado por presión en otras áreas corporales distintas a los TP. La presencia de dolor generalizado, unida a la positividad en al menos 11 de los 18 TP valorados, presenta una alta sensibilidad y especificidad diagnóstica (Wolfe et al., 1990; Yusta A, et al., 2001).

Aunque los criterios diagnósticos de la ACR de 1990 han sido de mucha utilidad, también presentan importantes limitaciones, por lo que han sido muy cuestionados y criticados por los expertos, debido a que:

1. No incluyen como criterio diagnóstico otras variables como la disfunción psicológica.
2. Se basan exclusivamente en datos subjetivos (percepción del dolor que refiere el paciente).
3. La posible falta de validez de los TP (uno de los puntos más criticados).

En el año 2010, los criterios diagnósticos fueron revisados y modificados. Estos nuevos criterios, no basan el diagnóstico en el uso de los TP, sino que establecen una valoración cuantitativa del dolor generalizado y tienen en cuenta otras manifestaciones de la FM como el cansancio, el sueño no reparador, los síntomas cognitivos y los síntomas orgánicos. De esta manera, los nuevos criterios diagnóstico de la ACR, se basan en dos variables que definen mejor la FM y su sintomatología:

1. El Índice de Dolor Generalizado (WPI, del inglés “*Widespread Pain Index*”), que puntúa las zonas del cuerpo donde el paciente refiere dolor, de 0-19, y que debe ser igual o superior a 7 para establecer el diagnóstico de FM.

2. La Escala de Severidad de los Síntomas (SS, del inglés “*Symptom Severity Scale*”), que puntúa la severidad o intensidad de los síntomas, de 0-12, y que debe ser mayor o igual a 5, para establecer el diagnóstico de FM.

También se considera diagnóstico de FM una puntuación de WPI entre 3 y 6 y una puntuación en la SS superior o igual a 9 (WPI 7 y SS 5 ó WPI 3-6 y SS 9)(Wolfe F., 2010b).

Según los autores de estos nuevos criterios, estos son una herramienta que complementa y no sustituye a los creados en el año 1990 (Wolfe F., 2010b).

En España, el Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad (2011), aconseja seguir utilizando los criterios diagnósticos iniciales de la ACR, y recomienda unos protocolos de actuación concretos para realizar un correcto diagnóstico (Fibromialgia 2011):

1. Anamnesis detallada con valoración integral del dolor, la funcionalidad y el contexto psicosocial del paciente.
2. Exploración física detallada y exhaustiva, para confirmar la FM y descartar otras enfermedades relacionadas (tabla 1). La exploración física debe hacerse de forma sistematizada y precisa, como indica el *Manual Tender Point Survey* (Okifuji A, et al., 1997).

3. Diagnóstico diferencial con otros procesos asociados. Se deben descartar otras patologías que pudieran causar el cuadro de síntomas que presentan los pacientes mediante la realización de pruebas complementarias de laboratorio como el hemograma, una bioquímica básica, o la medición de reactantes de fase aguda, ya que en la actualidad no existe un test específico para la FM.

Tabla 1. Enfermedades más frecuentes que pueden compartir manifestaciones clínicas con la FM. Modificado de libro Publicado por MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL E IGUALDAD 2011; ISBN: 978-84-7670-717-3

- | | |
|--|---|
| • Lupus eritematoso sistémico | • Miopatías (metabólica o inflamatoria) |
| • Artritis reumatoide | • Polimialgia reumática |
| • Espondiloartropatías | • Trastorno depresivo mayor |
| • Esclerosis múltiple | • Poliartrosis |
| • Hipotiroidismo | • Afectación muscular por fármacos |
| • Neuropatías periféricas | • Hiperparatiroidismo |
| • Alteraciones estructurales mecánicas o degenerativas del raquis. | |

En el año 2016, se volvieron a revisar los criterios diagnósticos de la FM, que pasaron a ser los siguientes (Wolfe F, et al., 2016):

1. Dolor generalizado, en al menos 4 o 5 zonas.
2. Síntomas presentes durante al menos 3 meses.
3. WPI 7 y SS 5 o WPI 3-6 y SS 9.
4. El diagnóstico de FM no excluye de padecer otras patologías.

Por otro lado, la necesidad de segregar a los pacientes en distintos subgrupos según una serie de características distintivas, y de esta manera establecer diferentes tratamientos en función de los grupos, dio lugar a la confección de una serie de clasificaciones de los pacientes con FM en subgrupos (Miquel et al. 2011), por parte de las principales sociedades médicas que intervienen en el tratamiento de esta enfermedad. De todas ellas, la de mayor evidencia científica y utilidad fue la clasificación de subgrupos de FM de Giesecke por la que se establecen los siguientes grupos diagnósticos (T. Giesecke, et al., 2003).

- Grupo 1: Incluye pacientes con depresión y ansiedad moderadas, un grado moderado de catastrofismo y control del dolor, y baja hiperalgesia y sensibilidad al dolor.
- Grupos 2: Incluye pacientes con un grado elevado de depresión, ansiedad, y catastrofismo, un bajo grado de control del dolor y valores altos de hiperalgesia y sensibilidad al dolor.
- Grupos 3. Incluye pacientes con niveles normales de depresión y ansiedad, un muy bajo grado de catastrofismo, un elevado control sobre el dolor, y un nivel elevado de hiperalgesia y sensibilidad al dolor.

3. EPIDEMIOLOGIA Y PREVALENCIA DE LA FIBROMIALGIA.

En los países desarrollados, la prevalencia de la FM se sitúa entre el 1% y el 4% (Clawn DJ., 2001). En España, datos publicados por el estudio EPISER de la Sociedad Española de Reumatología, (SER, 2011), estiman que la prevalencia de la FM es del 2,45%. Por lo que la FM en España es una enfermedad frecuente en la población general mayor de 20 años, siendo más frecuente en mujeres (4,2%) que en hombres (0,2%), lo que supone una relación mujer:hombre de 21:1. Se da principalmente en el intervalo de edad de 40 a 49 años; y es más frecuente en las zonas rurales (4,1%) que en las urbanas (1,7%). Asimismo, la FM se asoció en este mismo estudio con un bajo nivel educativo, una clase social baja, mayores alteraciones de la funcionalidad y peor calidad de vida.

En definitiva, según los datos de este estudio la FM está asociada con el sexo femenino, comorbilidades, edad comprendida entre 40 y 49 años, y un entorno rural (datos obtenidos del Estudio EPISER 2011).

4. EVOLUCIÓN Y PRONÓSTICO.

Diversos estudios han demostrado que la FM no destruye las articulaciones ni otras estructuras del sistema esquelético-muscular, y tampoco afecta a la esperanza de vida, sin embargo, y a pesar de ello, la FM esta considerada como una enfermedad crónica para la que actualmente no existe cura. De hecho, la mayor parte de los pacientes con FM padecen la enfermedad durante toda su vida, si bien sus síntomas pueden ser oscilantes, pudiendo aparecer, desaparecer y reaparecer en distintas épocas. El pronóstico de la FM es variable y depende de cada paciente y de la

presencia de enfermedades asociadas. Puede variar desde una afectación leve en las actividades de la vida diaria, hasta una afectación grave que impide el desarrollo de una vida normal (afectación personal, familiar, social y laboral). Uno de los factores que influyen más en el pronóstico es la capacidad del paciente para asumir la enfermedad, evitando actitudes catastrofistas y aprendiendo a asumir sus síntomas siendo, al mismo tiempo, lo más activo posible (White, KP, et al., 1999; Nielson, et al., 2004).

Un estudio constató que 2/3 de los pacientes con FM, pasados 14 años de su diagnóstico, continuaban con la enfermedad pero esta interfería solo de una forma poco importante en su vida, y eran capaces de mantener su capacidad de trabajo, mientras que el resto de los pacientes no se sentían capacitados para trabajar (Fitzcharles, MA., et al., 2003; Wolfe, F, et al., 1997).

Según un estudio de la SER, en España la FM es la enfermedad musculoesquelética que más bajas produce por incapacidad laboral. Según datos de este estudio, comparado con otros grupos de pacientes con dolor crónico, los pacientes con FM presentan un mayor grado de sensación de incapacidad e invalidez (Estudio EPISER. 2011).

5. ETIOLOGÍA.

Actualmente, siguen sin conocerse los mecanismos patogénicos y la etiología de la fibromialgia, sin embargo existen numerosos estudios y teorías que intentan explicar la etiopatogenia de esta enfermedad.

La FM, está relacionada con otras enfermedades con una sintomatología común, como el síndrome de intestino irritable, la dispepsia no ulcerosa, el síndrome premenstrual o dolor pélvico crónico, el síndrome de hiperventilación, la fatiga crónica, el dolor tensional y el síndrome de piernas inquietas o sensibilidad química (Diaz Robredo. 2014). Todos estos síndromes junto con la FM, se podrían englobar dentro del término de Síndrome de Sensibilización Central (SSC), descrito por Yunus (Yunus MB. 2007), quien estableció que una hipersensibilidad a los estímulos que recibe el Sistema Nervioso (SN) podrían ser la base etiológica de la FM.

5.1 Síndrome de Sensibilización Central.

La hipótesis más aceptada actualmente es que la FM es un Síndrome de sensibilización central (Üçeyler, N., et al., 2011), en el que se produce una alteración en el sistema de procesamiento del dolor debido probablemente a un desequilibrio en la concentración de neuromoduladores a nivel del SNC.

La sensibilización central se define como un estado de hiper-excitación del SNC y particularmente de las neuronas del asta dorsal (figura 2). Durante el proceso de sensibilización central, las neuronas del asta dorsal se hacen hiper-excitable en respuesta a los estímulos aferentes originados en los tejidos profundos (Bingham. B., et al., 2009).

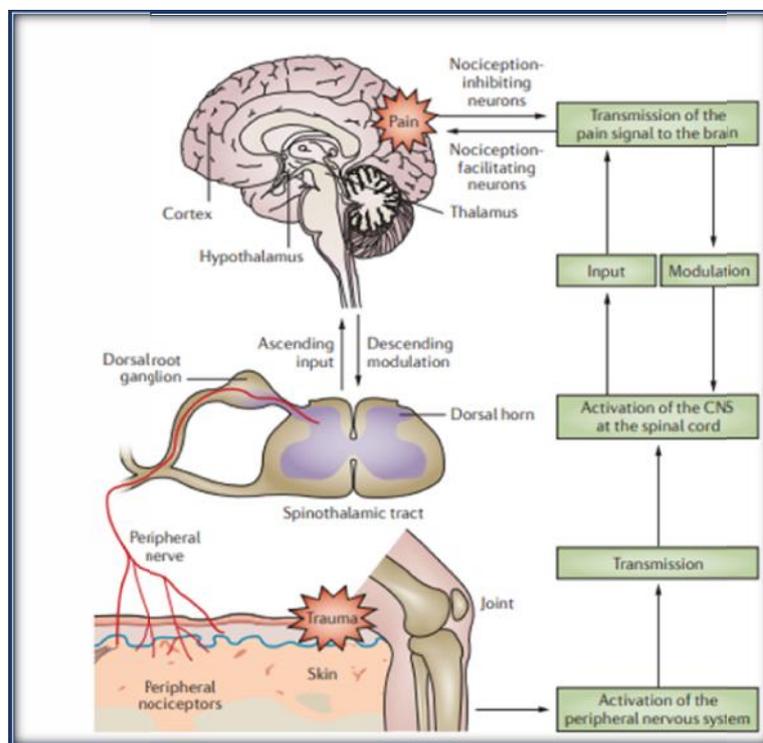


Figura 2. Procesamiento del dolor y su modulación. La activación de los receptores de daño periférico (Nociceptores), por estímulos nocivos generan señales que viajan desde el asta dorsal de la médula espinal a través del ganglio de la raíz dorsal. Desde el asta dorsal, las señales son transportadas a lo largo de la vía del dolor ascendente o tracto espinotalámico del talamo y del cortex. El dolor puede ser controlado por las neuronas que participan en la inhibición del dolor o por neuronas que facilitan el dolor. Las señales descendientes que se originan en los centros supraespinales pueden modular la actividad del asta dorsal controlando la transmisión del dolor espinal. Figure from REF 160, Nature Publishing group. Modificado de Nat. Clin. Pract. Rheumatol. 5, 28-37 (2009)

Se han descrito varios mecanismos que podrían explicar el concepto de sensibilización central, incluyendo mecanismos que actúan a nivel de la médula espinal, así como interacciones y conexiones alteradas entre el dolor y las áreas cerebrales no relacionadas con el dolor. A nivel espinal, la activación persistente de las fibras A, delta y C, que conducen el impulso nociceptivo a las neuronas del asta dorsal de la médula espinal, estimula la liberación de neurotransmisores y neuromoduladores como la sustancia P, el factor de crecimiento nervioso, el neuropéptido relacionado con el gen de la calcitonina, el glutamato y el aspartato (Giovengo, S. L., et al., 1999; Russell, I. J. et al., 1994). Estas sustancias sensibilizan a las neuronas, que responden a las sensaciones del tacto, presión, temperatura, y dolor, lo que las convierte en neuronas hiperexcitables, amplificando el dolor proveniente de los estímulos nociceptores y reclutando la entrada de impulsos sensoriales de bajo umbral que pueden activar el circuito del dolor (Woolf, C. J. 2011). De esta manera, estos pacientes responden a niveles más bajos de estímulos nociceptivos (hiperalgesia), así como a estímulos que previamente no eran dolorosos (alodinia), (Graven-Nielsen T, et al., 2002). Además, mediante la activación de neuronas adyacentes, y la sumación temporal del segundo dolor, que refleja un mecanismo de sumación de neuronas del asta dorsal (Staud, R., et al., 2007), pueden expandirse las zonas receptoras de los estímulos, contribuyendo a la sensación de hiperalgesia.

Atendiendo al concepto de sensibilización central se pueden definir dos grupos de individuos (Phillips, K. et al., 2013):

- El primer grupo está compuesto por individuos en los cuales no hay información nociceptiva identificable, como daño o inflamación, que pueda explicar el dolor. Estos individuos desarrollan dolor regional que incluye dolor de cabeza, alteración temporomandibular, Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII), dismenorrea y cistitis intersticial, siendo este grupo en el que se incluye a los pacientes con FM primaria.

- El segundo grupo de individuos con sensibilización central, lo comprenden aquellos individuos en los que el dolor forma parte de una enfermedad que tiene una entrada nociceptiva identificable, como la osteoartritis, las enfermedades autoinmunes u otras.

Otro mecanismo estrechamente relacionado con la sensibilidad central, implica la reducción de la capacidad del SNC para modular el dolor descendente. Este efecto denominado Modulación Condicionada del Dolor (MCD), se atenúa en numerosos pacientes con FM. La MCD está mediada por las vías opiodérgicas y serotoninérgicas-noradrenérgicas (Julien, N., et al., 2005). A pesar de que ambos sistemas inhibitorios pueden teóricamente estar implicados en la atenuación de la MCD en la FM, la disminución de la actividad de la vía serotoninérgica-noradrenérgica, es la que parece tener una mayor implicación en esta patología (Clauw, D. J., et al., 2011). Así, se ha encontrado que los niveles en Líquido Cefalorraquídeo (LCR) de los principales metabolitos de la Noradrenalina (NA) como el 3-metoxi, 4 hidroxifeniletílen, y los niveles en suero de 5-Hidroxitriptamina o 5-HT (5-HT), triptófano y 5 hidroxindol-acético, están disminuidos en pacientes con FM respecto a los individuos sanos (Russell, I. J., et al., 1992; Ablin, J., et al., 2008).

También se ha asociado el SSC con alteraciones en el llamado eje hipotálamo-hipofisario-adrenal (HHA). Este mecanismo neuroendocrino es el encargado de transmitir las señales de estrés y relajación, a través del tejido neuronal, desde su recepción a nivel cerebral hasta los órganos diana (órganos inervados o las cápsulas suprarrenales), (Diaz Robredo. 2014).

Por otra parte, se ha descrito en varios estudios que, la Interleuquina-6 (IL-6) y otras citoquinas pro-inflamatorias se encuentran alteradas en los pacientes con FM (Salemi S, Rethage J, et al., 2003). Además, se sabe que estas citoquinas, bajo condiciones de estrés, pueden alterar el eje HHA y producir cambios en el sistema neuroendocrino, como un aumento de los niveles de 5-HT, NA y Dopamina (DA) (Wood PB, et al., 2009; Light KC, et al., 2009).

A su vez, la 5-HT y la NA están implicada en los procesos de excitación en casos de estrés agudo y son muy importantes para el funcionamiento circadiano del eje HHA (figura 3), (Carrasco GA, et al., 2003). Este eje, se encuentra habitualmente alterado en pacientes con FM y también con fatiga crónica.

Por otro lado, los estudios sobre la hormona cortisol en pacientes con FM son controvertidos. Hay estudios en los que se observa una alteración del eje HHA con una respuesta anormal de la variación diurna de cortisol plasmático en pacientes con FM (McCain GA, et al., 1989), mientras que otros estudios más recientes indican que puede existir una disminución de los niveles basales de cortisol (Macedo JA, et al.,

2008) e incluso niveles normales o elevados de cortisol en pacientes con FM (Catley Det al., 2000; Díaz Robredo et al., 2011).

Es conocido que los pacientes con FM presentan una mayor supresión matinal de cortisol con dosis bajas de dexametasona y una falta de variabilidad entre el cortisol matinal y el vespertino en comparación con personas sanas, las cuales presentan una gran variación circadiana de cortisol, con niveles altos matinales y niveles bajos vespertinos. El eje HHA posee una respuesta normal, pero carece de resiliencia; esto no es relevante en condiciones basales, pero se exacerba con el estrés, especialmente cuando éste es repetido. La respuesta a dexametasona sugiere algo similar a lo que ocurre con el trastorno conocido como estrés postraumático, donde también se observa hipersupresión con bajas dosis de dexametasona y se han descrito niveles elevados de Hormona Liberadora de Corticotropina (CRH) en LCR (figura 3) (Williams et al. Presentado en el *Meeting ACR* 2004, San Antonio, Tx).

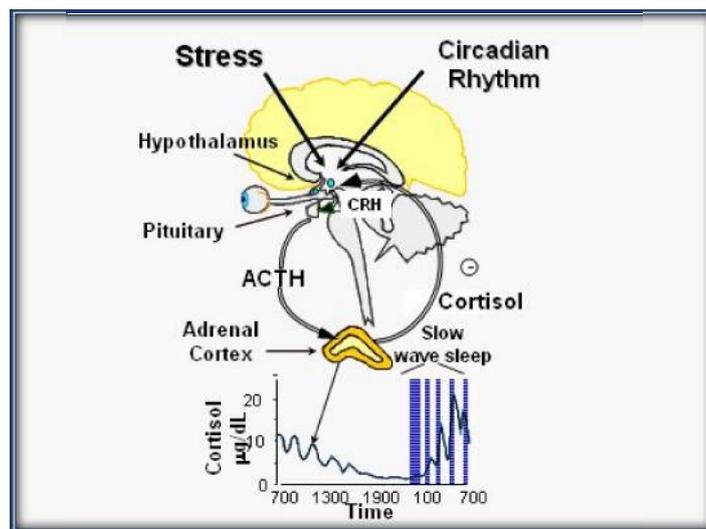


Figura 3. Efecto del estrés sobre el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal. Las neuronas de la región parvocelular del hipotálamo secretan hormona liberadora de corticotropina (CRH) y vasopresina; estas actúan sobre la pituitaria anterior, estimulando la secreción de hormona adrenocorticotropa (ACTH). La ACTH llega a la corteza adrenal, donde estimula la producción de cortisol, que estimula la secreción de señales inhibitorias al hipotálamo e hipófisis. El eje HHA tiene un ritmo circadiano normal. La actividad de este eje es dinámica y depende mucho de la fisiología del sueño, la comida y el ejercicio, de tal modo que el ritmo depende en gran medida del comportamiento (Medwave., 2005).

Otras hormonas relacionadas con alteraciones del eje HHA en pacientes con FM son la DA y la hormona del crecimiento (HC) (Loevinger BL, et al., 2012; Cuatrecasas G, et al., 2007)

El estrés psicológico es otro de los factores intrínsecamente relacionados con el eje HHA y con el SSC. El estrés puede modular las rutas descendientes del SN de la misma forma que las situaciones estresantes presentes o pasadas pueden exacerbar los síntomas de la FM, incluyendo el dolor. (Yunus MB. et al., 2008)

En la actualidad se están desarrollando interesantes ensayos de Neuroimagen en pacientes con FM, mediante técnicas de Resonancia Magnética (RM) cerebral funcional, Tomografía de Emisión de Positrones (PET del inglés "*Positron Emission Tomography*") y Tomografía Computarizada con Emisión de Fotón Simple (SPECT, del inglés "*Photon Emission computed tomography*").

En cuanto a las imágenes de SPECT y PET muestran una disminución del flujo sanguíneo en determinadas áreas cerebrales de los pacientes con FM. En lo que respecta a la RM funcional, se ha observado un aumento del flujo sanguíneo en zonas activadas por estímulos dolorosos en paciente con FM, siendo inferior la cantidad de estímulo necesaria para producir una activación cortical somato sensorial central, en pacientes con FM que en controles sanos (Gracely et al., 2002).

5.2. Otras teorías implicadas en la patogenia de la FM :

5.2.1. Riesgo genético.

Se ha observado que el riesgo de padecer FM entre los familiares de pacientes con esta enfermedad es 8,5 veces mayor que en otras poblaciones (Ablin, J.N., et al., 2006). En el seno de estas familias, tanto los factores psicológicos como el estado de salud son similares en los sujetos con y sin FM, lo que indica que la base genética puede contribuir a la aparición de la enfermedad (Docampo, E. et al., 2014). En este sentido se han encontrado indicios de que algunos fenotipos genéticos son más frecuentes en los enfermos con FM (Sommer, C. et al., 2012).

Dos estudios, relativamente recientes, sobre el dolor generalizado realizado en gemelos, establecieron que el riesgo de padecer una enfermedad de este tipo, por causas genéticas estaría entre el 48-54 %. Además, la evidencia reciente sugiere un papel para los polimorfismos de los genes en los sistemas serotoninérgicos, dopaminérgicos y catecolaminérgicos en la etiopatogenia de FM (Buskila D, et al

2007). Se han identificado polimorfismos en tres genes que podrían estar asociados con el origen de esta enfermedad, como son el SNP rs841 (guanosa trifosfato ciclohidrolasa I), el SNP rs2097903 (catecol-orto-metil-transferasa) y el SNP rs1799971 (receptor opioide μ 1) (Häuser, W, et al., 2011). Otros genes que podrían estar implicados serían los que aparecen en la tabla 2.

Tabla 2. Genes candidatos en la patogénesis de la Fibromialgia.

(Tabla modificada de Dong-Jin Park and Shin-Seok Le. New insights into the genetics of fibromyalgia. Korean J InternMed 2017; 32:984-995.)

Sistema afectado	Genes	Efecto en la FM	Referencia
Serotoninérgico	T102C en el gen del receptor 5-HT _{2A} Región promotora 5-HTT (5-HTTLPR) Región promotora 5-HTT (5-HTTLPR) T102C en el gen del receptor 5-HT _{2A}	Desarrollo de FM y síntomas psiquiátricos Desarrollo de la FM y trastornos psicológicos. Rasgos relacionados con la ansiedad Desarrollo de FM y síntomas psiquiátricos.	(Bondy B, et al., 1999; Gursoy S, et al., 2001; Offenbacher M, et al., 1999; Cohen H, et al., 2002)
Catecolaminérgico	Rs4680 del gen COMT Haplótipo ACCG del gen COMT Otros genes COMT	Desarrollo de FM Mayor severidad del dolor Más afrontamiento y dolor inadaptados. Desarrollo de la FM y aumento de la severidad del dolor Desarrollo de la FM y sensibilidad al dolor.	(Matsuda JB, et al., 2010; Barbosa FR, et al., 2012; Vargas-Alarcon G, et al., 2007; Finan PH, et al. 2011).
Dopaminérgico	DRD4 exón 3 polimorfismo de repetición	Desarrollo de FM y perfil de personalidad en pacientes con FM.	(Buskila D, et al., 2004)
Otros			
Canales iónicos	Gen SCN9A (codificado en DRG) Genes TRPV2 y TRPV3	Desarrollo de FM y síntomas graves en pacientes con FM. Desarrollo y algunos síntomas psicológicos en pacientes con FM.	(Vargas-Alarcon G, et al., 2012; Park DJ, et al., 2016)
NO metabolismo	Haplotipos GCH1	Desarrollo de la FM y sensibilidad al dolor.	(Kim SK, et al., 2013)
Receptores adrenérgicos	Gen AR	Desarrollo de FM y diferentes dominios de síntomas de FM.	(Tegeeder I, et al., 2006)
Vías neuroplásticas	BDNF-NTRK2-CREB1 vías	Desarrollo de la FM y síntomas en pacientes.	Datos no publicados

FM, fibromialgia; 5-HTTLPR, región promotora del transportador de 5-HT (5-HTT); COMT, catecol-O-metiltransferasa; DRD4, receptor de dopamina D4; DRG, ganglios de la raíz dorsal; TRPV, receptor transitorio potencial vanilloide; NO, óxido nítrico; GCH1, GTP ciclohidrolasa 1; AR, receptor adrenérgico; BDNF, factor neurotrófico derivado del cerebro; NTRK2, receptor neurotrófico de tirosina quinasa tipo 2; CREB1, proteína 1 de unión al elemento de respuesta al monofosfato de adenosina cíclica.

5.2.2. Alteraciones musculares y modulación del dolor.

Con respecto a la patología muscular, se han realizado estudios de biopsias musculares, hallándose cambios morfológicos y funcionales en pacientes con FM.

Aunque, hasta el momento, no hay evidencia científica que apoyen el argumento de que una alteración o un daño en el tejido muscular sea específico de pacientes con FM, sin embargo, sí se ha encontrado la presencia de hipoxia en zonas musculares afectadas (dolorosas) en pacientes con FM.

Otros estudios sugieren que ciertas anormalidades metabólicas como la vasoconstricción muscular (Síndrome de Raynaud), contribuirán a la debilidad y agotamiento muscular en pacientes con FM. Todas estas alteraciones periféricas podrían estar creando un ambiente bioquímico que contribuya a la sensibilización local, y a una mayor sensibilidad o susceptibilidad al dolor a nivel central.

5.2.3. Factores neuropsicológicos, asociación con trastornos depresivos.

En relación con la perspectiva más psicosocial de la FM, diversos estudios han investigado la relevancia del estrés y su regulación como un elemento clave en la misma, ya sea como factor de riesgo, desencadenante o factor cronificador (Milligan, E.D. & Watkins, L.R., 2009).

La asociación de la FM con trastornos depresivos ha hecho que se realicen numerosos esfuerzos para estudiar las posibles causas psiquiátricas de esta patología. En estudios llevados a cabo en Israel, se ha observado que la FM estaba asociada al trastorno por estrés postraumático (TEPT) en un 57% de los casos, y que la prevalencia de TEPT en pacientes con FM es mucho mayor que en el resto de la población. En personas predispuestas a padecer FM, el cuadro clínico acontece de forma brusca tras situaciones de estrés postraumático de índole tanto físicas como psicológicas (accidentes de tráfico, cirugías, etc).

5.2.4. Factores predisponentes a la FM: traumas durante la infancia, trastornos de estado de ánimo y ansiedad.

Existe también otra serie de factores comunes a algunos pacientes con FM, como son antecedentes de haber experimentado situaciones traumáticas en la infancia (violencia física o psicológica, abuso sexual, separación de los padres, alcoholismo de

los padres, etc..) y trastornos del estado de ánimo o ansiedad, estos dos últimos con base genética demostrada (Uçeyler N., et al., 2011)

5.2.5. Factores inflamatorios y autoinmunitarios.

Aunque la FM ha evolucionado históricamente desde ser considerada un síndrome inflamatorio a un síndrome no inflamatorio, las investigaciones recientes en este campo apuntan a la posibilidad de que un factor inmunológico e inflamatorio pueda tener un papel relevante en la etiología de la FM.

La activación neuroinmunitaria es uno de los mecanismos potenciales que pueden estar involucrados en las alteraciones del SNC descritas en la FM. Recientemente, un grupo de investigación de Suecia y Estados Unidos demostró por primera vez la presencia de activación de las células de la glía y por tanto de la activación de una respuesta neuroinflamatoria en el cerebro de los pacientes con FM, lo que abre una vía de investigación futura sobre el papel de la microglia en la FM con la potencial identificación de biomarcadores diagnósticos o estrategias terapéuticas (Albrecht Ds, et al., 2019)

Las células de la glía han sido implicadas en el mantenimiento de la sensibilización central y parecen participar en el dolor crónico, a través de la producción de varias quimioquinas y citoquinas, como la IL-6 y la Interleuquina-8 (IL-8), las cuales se han encontrado elevadas en el suero de los pacientes con FM en comparación con individuos normales (Milligan, E.D., 2009).

Además, en algunos pacientes con FM se ha detectado la presencia de elevadas concentraciones de citoquinas, receptores solubles, péptidos proinflamatorios, reactantes de fase aguda y diversos tipos de ACS, lo que apunta hacia la posibilidad de la activación de un proceso inflamatorio o autoinmunitario, como posible mecanismo causante de la FM

También, los mastocitos, otras células que componen el Sistema Inmunitario (SI), han sido asociadas con la inflamación y el dolor (Theoharides TC., et al. 2012; Chatterjea D et al., 2015), pudiendo, de esta manera estar implicadas en la FM. (Lucas HJ, et al., 2015). Así lo demuestra el hecho de que el número de mastocitos se encuentre significativamente aumentado en la dermis papilar de los pacientes con FM (Blanco I., et al., 2010). Además la urticaria crónica, patología en la que están

implicados los mastocitos, es más común en los pacientes con FM que en otros individuos (Torresani C, et al, 2009)

Otras moléculas relacionadas con la inflamación como la proteína atrayente de monocitos (MCP-1/CCL2) y la eotaxina (CCL), también están incrementadas en el plasma de pacientes con FM (Zhang Z, et al., 2008) Un estudio realizando usando un modelo de rata, evaluó la participación de la MCP-1 en el dolor crónico inducido por estrés y demostró que MCP-1 induce hiperalgesia muscular de larga duración y un estado de sensibilización crónica latente a otras sustancias alogénicas a través de la activación de su receptor de alta afinidad CCR2, localizado en el terminal periférico de los nociceptores IB4+ (Alvarez P, et al., 2014)

Los mastocitos también expresan TLR (del inglés, *Toll Like Receptors*), los cuales pueden activarse por agentes bacterianos y víricos (Abraham SN et al., 2010). Una vez estimulados, los mastocitos secretan numerosos mediadores vasoactivos y proinflamatorios produciendo múltiples síntomas (Theoharides TC, et al. 2012)

La activación de los mastocitos puede ser potenciada por la IL-33 (Fux M, et al., 2014), la cual sinergiza con la sustancia P para inducir la liberación de VEGF, y actúa como un sensor del daño celular (Enoksson M, et al., 2011)

Las moléculas preformadas almacenadas en los granulos secretores de los mastocitos, como histamina, 5-HT, bradikinina, proteasa y Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- del inglés, Tumor Necrosis Factor), también participan en la activación de las células T (Kempuraj D, et al., 2008)

Los mastocitos también liberan otras moléculas pro-inflamatorias y neurosensibilizantes como leucotrienos recién sintetizados, prostaglandinas, factores estimulantes de plaquetas, citoquinas (IL-6, IL-9, IL-13, TNF-) y quimiocinas (CXCL8, CCL2, CCL5) (Theoharides TC, et al., 2015).

Por todo ello, actualmente se considera a los mastocitos células muy importantes en la inmunidad innata, autoinmunidad y neuroinflamación.

Así pues, atendiendo a los mecanismos etiológicos expuestos anteriormente, la FM puede dividirse en 4 tipos (Belenger, et al., 2008):

- FM tipo I ó Idiopática. Incluye pacientes con una sensibilización extrema al dolor que no presentan procesos sistémicos ni locales asociados, ni enfermedades psiquiátricas. La etiopatogenia de este tipo de FM podría ser una disfunción del Sistema Inmunitario innato.

- FM tipo II. Incluye pacientes en los que la aparición de la FM es consecuencia de una enfermedad autoinmunitaria o reumatológica de base crónica que cursa con dolor.
- FM tipo III. Incluye pacientes en los que la FM se considera una manifestación somática de un proceso psicopatológico subyacente.
- FM tipo IV ó simulada. Incluye pacientes capaces de simular la sintomatología de la FM, por lo que es importante detectarlos mediante la evaluación de estos paciente en una unidad altamente especializada.

6. INMUNOPATOGENIA DE LA FIBROMIALGIA: AUTOINMUNIDAD, FACTORES INFLAMATORIOS, SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA Y FACTORES AMBIENTALES.

Si consideramos la FM en el contexto de una enfermedad relacionada con el SI, en su etiopatogenia, podrían participar múltiples factores.

Estos factores comprenden:

1. Autoinmunidad, pérdida de mecanismos de tolerancia.
2. Factores inflamatorios (citoquinas y moléculas estimuladoras entre otros).
3. Factores inmunogenéticos de susceptibilidad (polimorfismos HLA principalmente, y otros genes no HLA, como los genes KIR).
4. Factores ambientales (agentes vivos de enfermedad, agentes inorgánicos, hormonas y otros).

6.1. Autoinmunidad.

6.1.1. Pérdida de los mecanismos de tolerancia.

El término tolerancia implica la falta de respuesta a una molécula propia o extraña, denominada antígeno, provocada por la exposición previa a este (Matzinger, P., et al., 1994). Así, en función del tipo de respuesta que el antígeno genera en el SI pueden existir *antígenos tolerogénicos*, que el SI reconoce y acepta como propios, o *antígenos inmunogénicos*, que el SI reconoce como extraños, generando una respuesta inmunitaria frente a los mismos. Si la tolerancia se produce frente a antígenos propios se denomina autotolerancia (Nicole Jadue, et al., 2012).

Existen dos tipos de tolerancia:

La *tolerancia central*, en la que participan los órganos linfoides primarios (médula ósea y timo), y en la que se produce el fenómeno denominado delección clonal, que consiste en la muerte celular programada (apoptosis), de linfocitos inmaduros y autoreactivos. Estos últimos son aquellos en los que su receptor antigénico reconoce a un antígeno propio con alta afinidad, motivo por el cual son destruidos antes de madurar y salir a la circulación, proceso que se conoce como selección negativa (Matzinger, P, et al., 1994; Nicole Jadue, et al., 2012).

Sin embargo, hay linfocitos autoreactivos que escapan al proceso de apoptosis, porque la afinidad con la que reconocen un antígeno propio es menor, estos linfocitos son capaces de madurar y salir a la circulación. En este momento es cuando actúa la *tolerancia periférica*, que se desarrolla en órganos linfoides secundarios como el bazo y los ganglios linfáticos principalmente mediante tres mecanismos: La anergia clonal, supresión e ignorancia. La anergia clonal es una inactivación funcional de los linfocitos autoreactivos, que no da lugar a muerte celular, y se lleva a cabo por los linfocitos reguladores, mediante la secreción de citoquinas o por contacto directo célula a célula. La ignorancia inmunológica o ausencia de respuesta inmunitaria, cuyo mecanismo exacto es desconocido, parece estar relacionada con los antígenos crípticos u ocultos para el SI, como antígenos presentes en órganos inmunoprivilegiados, el ojo o los testículos (Matzinger, P., et al., 1994; Nicole Jadue, et al., 2012).

La pérdida de estos mecanismos de autotolerancia se relaciona con el desarrollo de enfermedades autoinmunes, aunque este hecho por sí solo no es suficiente, ya que también participan otros factores como la susceptibilidad genética, los factores ambientales y factores inmunológicos.

6.1.2. Autoanticuerpos.

La FM y otros desordenes de sensibilización central tienen en común el papel del neurotransmisor (NT) 5-HT como elemento central de su patogenia (Mujagic Z, et al., 2017; Arnold LM, et al., 2015)

Desde el punto de vista inmunológico, la existencia de una respuesta inmunitaria contra antígenos propios, en este caso contra la 5-HT, está respaldada por el hallazgo de linfocitos T autorreactivos que reconocen la 5-HT y el triptófano, y que pueden ser

detectados en individuos sanos y con una incidencia mayor en pacientes con FM (Barth H, et al., 2001)

En el año 1992 Klein y colaboradores (Klein R, et al., 1992), describieron que los ACS (ACS) anti-5-HT podían ser detectados en aproximadamente el 74% de los pacientes con FM. Además, en 1994 describieron por primera vez la asociación entre los ACS anti-serotonina y los anti-fosfolípidos en la FM (Klein R, et al., 1994).

Sin embargo, la elevada incidencia de estos ACS no pudo ser reproducidas por otros grupos de investigación (Reinhild Klein et al., 2002), que obtuvieron una incidencia bastante más baja, de un 58%, para los acs. anti-5-HT, por lo que la presencia de ACS anti-5-HT en pacientes con FM puede variar dependiendo de la cohorte de pacientes estudiada. En estos estudios, también analizaron individuos sanos, encontrando la presencia de ACS anti-5-HT en el 11-15%, de manera que el porcentaje de individuos sanos con ACS anti-5-HT fue significativamente menor que el de los pacientes con FM.

En lo que respecta a los ACS anti-fosfolípidos, se detectaron en un 43% de los pacientes con FM, lo cual es interesante pues los pacientes con FM y fatiga crónica presentan un estado de hipercoagulación similar a los pacientes con síndrome anti-fosfolípido. Todo ello sugiere que los anti-fosfolípido y en especial los ACS anti-5-HT, pueden tener un papel relevante en la FM.

Los mecanismos que desencadenan la aparición de estos ACS en la FM, no se conocen con exactitud, sin embargo, una de las explicaciones podría ser el mimetismo molecular que conduce a la pérdida de tolerancia hacia el autoantígeno (Naparstek Y, et al., 1993), y que puede ser inducido por un agente infeccioso (Goldenberg D. L., et al, 1988).

Puesto que la autorreactividad es una condición fisiológica, también se han encontrado ACS asociados a la FM como acs anti-5-HT y antifosfolípidos, en individuos sanos aunque con una baja incidencia (Avrameas S, et al., 1995).

A su vez, el grupo de Reinhild en 1992, encontró que la mayoría de pacientes con FM, en los que se detectaba ACS anti-5-HT, la presencia de estos ACS estaba asociada a la presencia de ACS anti-gangliósidos (Reinhild Klein, et al., 1992). Esta fuerte asociación, así como el hecho de que los gangliósidos son componentes de los receptores de 5-HT (Fishman PH, et al., 1988), podría significar que los ACS anti-gangliósidos pueden actuar como ACS anti-receptor de 5-HT.

Por otro lado, algunos estudios han observado un ligero aumento de ACS contra la queratina y la glándula tiroides en pacientes con FM (Reinhid Klein, et al., 1992), hecho que también se produce en individuos sanos durante procesos infecciosos. Esto apoya la teoría antes mencionada del mimetismo molecular en la que una estimulación oligoclonal de las células B al reaccionar de forma cruzada con epítomos de un agente infeccioso, daría lugar a la formación de estos autoACS en la FM.

Según esta teoría, la FM podría ser una enfermedad heterogénea, en la que la presencia de estos ACS reflejaría la existencia de un subgrupo de pacientes con una etiología autoinmune, además esto explicaría la variación reportada por diferentes grupos de trabajo respecto a la incidencia de autoACS en la FM

Por lo tanto, la identificación de un grupo definido de autoACS, asociados con unas manifestaciones clínicas específicas, podrían indicar un trastorno autoinmune, y en el caso de los ACS anti-5-HT, poner de manifiesto la relevancia de estos autoACS para el diagnóstico de la FM. (Barth H, et al., 2001).

6.2. Factores inflamatorios.

Existen numerosos componentes del SI involucrados en procesos inflamatorios, como las células dendríticas (Corthay, A., et al, 2009), los receptores tipo Toll (TLR) (Matzinger, P., et al, 1994), las células reguladoras (Corthay, A., et al, 2009), la respuesta Th17 (Bi, Y., et al., 2007), y las citoquinas. Estas últimas, como ya se comentó anteriormente, tienen un papel importante como mediadores y efectores de la respuesta inmunitaria, contribuyendo al desarrollo y perpetuación de cuadros inflamatorios (Matzinger, P., et al., 1994; Cavallo, M.G., et al., 1994). En esta línea, cabe destacar el papel de la IL-6 como una de las principales citoquinas implicadas en la patogenia de la enfermedad de Still (Cavallo, M.G., et al., 1994), y de la IL-8 en la Artritis Reumatoide (AR) (Saxena, V., et al., 2008). Además, las citoquinas pueden mediar la expresión aberrante del MHC de clase II en células no inmunitarias, convirtiéndolas en células presentadoras de antígeno, capaces de activar linfocitos T autoreactivos dentro de un ambiente pro-inflamatorio, como ocurre en la tiroiditis autoinmune y en la Diabetes Mellitus (DM) tipo I (Saxena, V., et al., 2008; Meylan, F., et al., 2008).

6.2.1. Citoquinas.

Existen múltiples teorías sobre la etiología de la FM. Una de ellas sugiere que un desequilibrio en el balance de las citoquinas liberadas por el SI, podría causar alteraciones en el llamado eje HHA (Abeles, et al.2007; Mease, P.et al. 2007).

Además, las citoquinas debido a su papel como mediadores y efectores de la respuesta inmunitaria, pueden también contribuir al desarrollo y mantenimiento de la FM.

Las citoquinas o Interleuquinas (IL) son proteínas liberadas por las células del SI con una función inmunomoduladora, que poseen una amplia gama de funciones biológicas y que intervienen en la inflamación del SNC. Atendiendo a su funcionalidad, hay dos tipos principales de citoquinas: proinflamatorias que son aquellas que favorecen la inflamación, y anti-inflamatorias, aquellas que atenúan la inflamación. Las principales citoquinas proinflamatorias son: IL-1 , IL-1 , IL-2, IL-6 yTNF- , por otro lado, las principales citoquinas anti-inflamatorias son: IL-4, IL-10, IL-13 y Factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- , del inglés transforming growth factor beta 1).

En los pacientes con FM se ha descrito la existencia de un desequilibrio entre estos dos tipos de citoquinas, predominando las citoquinas proinflamatorias frente a las anti-inflamatorias.

Estas citoquinas pueden activar los receptores del dolor localizados en las terminaciones de las neuronas, aumentando así la sensibilidad al dolor. De hecho, el dolor generalizado, uno de los síntomas más característico de los pacientes con FM, ha sido atribuido a la liberación de citoquinas y otras moléculas proinflamatorias por parte de los mastocitos. (Lucas HJ et al., 2006; Pollack S. et. al., 2015).

Además, el SI adaptativo, también parece tener un papel en la inflamación crónica implicada en la FM, ya que las mismas señales que activan a los mastocitos podrían activar también a los linfocitos T, que en consecuencia liberarían aún más citoquinas.

También se ha descrito que las células gliales pueden ser activadas por la Sustancia P, glutamato y BDNF y liberar citocinas proinflamatorias y una variedad de neuropéptidos, lo que puede contribuir a la amplificación del dolor en pacientes con FM (Milligan, et al., 2009).

En la FM, el interés por las citoquinas como mediadores potenciales de los síntomas a nivel central, comenzó cuando Wallace, Margolin y Waller en 1988,

observaron que los pacientes con cáncer (melanoma y carcinoma de células renales) que recibían terapia con IL-2, una citoquina que estimula el SI para producir células T CD4 colaboradoras (T-helper) (Levine, S. J. et al., 2004), tenían síntomas similares a los observados en pacientes con FM como dolor, fatiga, trastornos de sueño y del estado de ánimo (Wallace, D. J. et al., 2006).

Estas observaciones van en la línea del llamado fenómeno de "comportamiento de la enfermedad" ó en inglés "sicknessbehavior" (Miller, A. H. et al., 2003), en el que se cree que el conjunto de síntomas que caracterizan a las enfermedades asociadas con inflamación y activación de SI, como que la fatiga, el dolor y las conductas depresivas, están causadas por citoquinas que actúan a nivel cerebral (Kelley KW, et al., 2003). De hecho, hay evidencias científicas de que citoquinas como IL-1 , IL-6 y TNF- contribuyen directamente al dolor neuropático central y periférico (Abbadie C, et al., 2003), y producen numerosos cambios fisiológicos, de comportamiento y hormonales. Estos cambios como se ha mencionado anteriormente son referidos como "comportamiento de la enfermedad ", y parecen ser representativos de los pacientes con FM. (Kelley KW, et al., 2003)

Además, se ha postulado, que algunas características clínicas de la FM están asociadas con la acción de varias citoquinas (tabla 3), de hecho, estudios recientes relacionan los trastornos del sueño, la hiperalgesia, las disfunciones cognitivas, la fatiga por estrés y la ansiedad observados en pacientes con FM con la expresión de las citoquinas (Wallace, D. J., 2006)

Tabla 3. Asociaciones potencialmente relevantes de las citoquinas con la FM.

Citoquina	Asociación
IL-1	Hiperalgnesia, fatiga, fiebre, sueño, mialgias, antinocepción mediada por la sustancia P (incrementa el GABA y disminuye el NMDA), la Norepinefrina y la epinefrina estimulan su liberación
TNF-	Estrés, regula la expresión de la sustancia P, el sueño REM, alodinia, incrementa los aminoácidos excitatorios, la Norepinefrina y la epinefrina estimulan su liberación
IL-1Ra	Estrés, inhibe la expresión de IL-8
IFN-	Estrés, ansiedad, disminuye la sustancia P, mialgias
IL-2	Mialgias, disfunción cognitiva.
IL-6	Estrés, fatiga, hiperalgnesia, depresión: la Norepinefrina, la Epinefrina y la sustancia P estimulan su liberación, activa en Sistema Nervioso Simpático.
IL-8	La sustancia P estimula su producción y media el dolor simpático
IL-10	Bloquea el dolor.

GABA= ácido gamma aminobutírico; NMDA. N-metil D-aspartato. Tabla tomada y modifica de Wallace et al, 2006

En diversos estudios se ha observado que los niveles de citoquinas proinflamatorias en pacientes con FM como la IL-1, IL-6 e IL-8 están elevados, mientras que los niveles de TNF- serían normales y los niveles de las citoquinas antiinflamatorias como IL-4 e IL-10 no se modificarían o estarían disminuidos. (Rodríguez-Pinto, et al., 2014; Uceyler, et al., 2011).

Además, muchos de los estudios que examinan los niveles de citoquinas en pacientes con FM, estudian a la vez la relación de estos niveles con los síntomas centrales de la enfermedad como el dolor, la fatiga, el estado de ánimo y los trastornos del sueño entre otros.

Existen varios trabajos que han estudiado la relación entre las citoquinas y el dolor, estableciendo una asociación significativa entre el aumento de los niveles de citoquinas y el dolor. En esta línea se ha descrito que los niveles de IL-8 en pacientes con FM se correlacionaban significativamente con la intensidad del dolor medida por TPi (Índice de puntos sensibles, del inglés "*Tende Point Index*"), (Gür et al., 2002b),

además, también se observó una correlación significativa entre el TPi y niveles aumentados del receptor de la IL-2 (IL-2R) en pacientes con FM en comparación con los controles sanos (Gür et al. (2002a).

Posteriormente, un estudio realizado en 81 mujeres con FM, observó una correlación positiva entre los niveles plasmáticos de IL-6 y la intensidad de dolor medida por el TPi y el cuestionario de impacto de la FM (FIQ del inglés “Fibromyalgia impact questionnaire”). En este mismo estudio también encontraron que los niveles de TNF- se correlacionaban positivamente con la puntuación del cuestionario FIQ (Bazzichi et al. (2007).

En lo que respecta a la relación entre dolor, depresión y niveles de citoquinas en pacientes con FM, los hallazgos encontrados son inconsistentes y en algunos casos contradictorios. (Gür et al. 2002a; Gür et al., 2002b). De la misma manera los resultados obtenidos al estudiar la asociación entre la fatiga y los niveles de citoquinas han sido también inconsistentes. (Wallace et al., 1989; Wallace et al. 2001; Üçeyler et al. 2006)

Finalmente, un estudio examinó la asociación entre el sueño y los niveles de citoquinas, describiendo una mayor producción de IL-2 por parte de las células monocleares de sangre periférica (PBMCs, del inglés “peripheral blood mononuclear cells”), estimuladas con el mitógeno PHA (Fitoheماغلوتينina, del inglés “*Phytohaemagglutinin*”) en pacientes con peor calidad de sueño comparado con pacientes con mejor calidad de sueño. (Hesse-Husain, 2007)

En conclusión, los estudios sobre la asociación de las citoquinas con la patógenisis y síntomas centrales de la FM, son escasos y los hallazgos encontrados en los mismos, son en general bastante controvertidos.

6.2.2. Polimorfismos de citoquinas.

Se han identificado polimorfismos en los genes de diversas citoquinas, como la IL-2, IL-12, IL-18, TNF- e Interferon gamma (IFN-), implicados en el desarrollo de enfermedades autoinmunes. Estos polimorfismos pueden dar lugar a la hiperproducción de estas citoquinas, dando lugar a un desbalance de las mismas y promoviendo un ambiente proinflamatorio (Cavallo, et al., 1994).

La familia de genes de la IL-1, ha sido relacionada con la susceptibilidad a una serie de enfermedades sistémicas del tejido conectivo, que incluyen la AR juvenil

pauciarticular de inicio temprano (McDowell TL et al.1995), la artritis psoriásica (Rahman P, et al., 2006), la enfermedad de Behçet (Karasneh J, et al., 2003) y la Esclerosis Sistémica (ES) (Kawaguchi Y et al., 2003). En pacientes con AR, la variante + 3953T del gen de la IL-1 se ha asociado con una enfermedad más activa y erosiva, con una mayor producción de IL-1 en monocitos estimulados "in vitro" con lipopolisacárido (LPS) (Pociot F, et al., 1992) y con niveles plasmáticos más bajos del antagonista del receptor de la IL-1, (IL-1RA del inglés IL-1 receptor antagonist) (Tolusso B, et al., 2006).

En el caso de la Enfermedad de Graves (EG), enfermedad autoinmune caracterizada por hipertiroidismo, bocio y la presencia de ACSs anti-tiroideos, se ha observado que ciertos polimorfismos del gen de la IL-1 están asociados con el desarrollo de la enfermedad y de la oftalmopatía de Graves, una de las manifestaciones extratiroideas más común en esta patología. En concreto el alelo C del SNP rs1143634 del gen de la IL-1, se asoció con EG, mientras que el genotipo T / T de los SNPs rs1143634 y rs16944 presentaban una menor asociación con la enfermedad. En este mismo estudio, también se observó que el genotipo A / A de los SNPs rs3917368 y rs1143643 del gen de la IL-1, puede aumentar el riesgo de desarrollar oftalmopatía de Graves (Yu-HueiLiu., et al 2010)

En el caso de la Artritis Juvenil Idiopática (AJI), también se han realizado estudios que indican una asociación estadísticamente significativa entre el alelo A del SNP 238A / G del gen del TNF- y la disminución del riesgo de AJI en las poblaciones caucásica e iraní (Xing-yan Li et al., 2018).

Por otra parte, los polimorfismos genéticos del TNF y de la IL-1 contribuyen al desarrollo de la Dermatomiositis Juvenil y también pueden ser indicadores de la gravedad de esta enfermedad, como lo muestra un estudio realizado en el año 2009. (Gulnara, et al., 2009). En este estudio, se observa que los genotipos TNF -308AG, TNF -238GG e IL-1 + 4845TT son factores de riesgo para el desarrollo de la DM juvenil, mientras que los genotipos TNF -308GG y TNF -238AG tienen un efecto protector frente al desarrollo de la misma.

En relación a la FM, Jinong Feng y col, realizaron un estudio basado en la secuenciación completa del exoma de pacientes con FM para descubrir nuevas variantes en los genes de las citoquinas proinflamatorias (Feng J et al., 2013). Estos investigadores encontraron dos genes candidatos, el C11orf40 y ZNF77. Los pacientes con FM portadores de mutaciones en estos genes presentaron valores

significativamente más altos en los niveles de citoquinas que los controles sanos. Concretamente, los pacientes con la mutación C11orf40, presentaban niveles plasmáticos más elevados de citoquinas inflamatorias, como MCP-1 e IP-10, en comparación con los controles sanos. De manera similar, los pacientes con la mutación ZNF77, tenían niveles elevados de IL-12, en comparación con los controles sanos. Estos resultados confirman la existencia de una etiología inflamatoria en la FM, así como una disregulación específica de las citoquinas en un grupo importante de pacientes con esta patología (Feng J et al., 2013).

6.3 Factores de susceptibilidad genética.

6.3.1 Complejo Mayor de Histocompatibilidad: El sistema HLA y su polimorfismo.

Los organismos multicelulares han desarrollado mecanismos de defensa imprescindibles para su supervivencia que se basan principalmente en el reconocimiento de lo propio y de lo no propio. Entre estos mecanismos, uno de los más importantes está constituido por las moléculas codificadas por el CMH, que son expresadas en las células y tejidos de los organismos y pueden ser reconocidas por las células del SI, las cuales son capaces de discernir entre aquellas moléculas del CMH propias y no propias.

El CMH en humanos se denomina sistema de Antígenos Leucocitarios Humanos o sistema HLA (del inglés, *human leukocyte antigens*) y está compuesto por más de 200 genes localizados en la región 6p21.3 del brazo corto del cromosoma 6 (Figura 4). Esta región tiene un tamaño de cuatro megabases (Mb) y contiene genes que codifican para un amplísimo grupo de moléculas que son esenciales para la adaptación de los individuos a las agresiones del entorno y que constituyen uno de los principales soportes del SI (Dunham I, et al., 1989; Kumanovics A, et al., 2003)

Las moléculas HLA tienen un elevado polimorfismo génico y alélico, debido al elevado número de genes y variantes alélicas existentes en humanos (Klein J., et al., 2000). Este elevado polimorfismo, confiere a estas moléculas la posibilidad de unir diferentes péptidos antigénicos contribuyendo y/o condicionando así la diferente respuesta inmunitaria observada entre individuos, el rechazo o aceptación de injertos alógenos y la susceptibilidad a ciertas enfermedades (Shiina T., et al., 2004).

Los alelos HLA se denominan con una letra que se refiere al loci al que pertenecen seguidos de un número que se corresponde con una especificidad antigénica en particular (Marsh SG., 2012).

El sistema HLA está compuesto por tres regiones: HLA de clase I, HLA de clase II y HLA de clase III (Figura 4).

La región HLA de clase I está situada en la posición más telomérica y comprende los loci que codifican para las moléculas clásicas HLA-A, -B y -C, y para los antígenos no clásicos HLA-E, -F y -G. La región HLA de clase II está situada en la posición más centromérica y engloba a los genes que codifican para las moléculas HLA-DR, -DQ y -DP. La región HLA de clase III se sitúa entre las regiones de clase I y clase II y contiene genes que codifican para distintos factores del complemento (C4, C2 y Bf), proteínas HSP (proteínas de choque térmico, del inglés, *Heat Shock Proteins*), citoquinas (TNF- α y TNF- β), y otros genes no relacionados con el SI o la inflamación (Klein J., et al., 2000; Shiina T., et al., 2004).

Los genes HLA de clase I clásicos se caracterizan por ser altamente polimórficos, en especial el locus HLA-B (6537 alelos), seguido del locus HLA-A (5266 alelos) y del locus HLA-C que es el menos polimórfico de los tres (5140 alelos), según la base de datos IMGT/HLA: <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html>) consultada en julio de 2019.

El polimorfismo de los alelos no se distribuye al azar sino que está localizado en regiones específicas donde se sitúan los aminoácidos que interaccionan con los péptidos procesados. Las regiones de variabilidad de los genes HLA de clase I se encuentran en los exones 2 y 3 y las de los genes HLA de clase II en el exón 2. Los mecanismos genéticos de generación de la variabilidad se deben fundamentalmente a conversión génica, mutaciones puntuales y recombinaciones intergénicas.

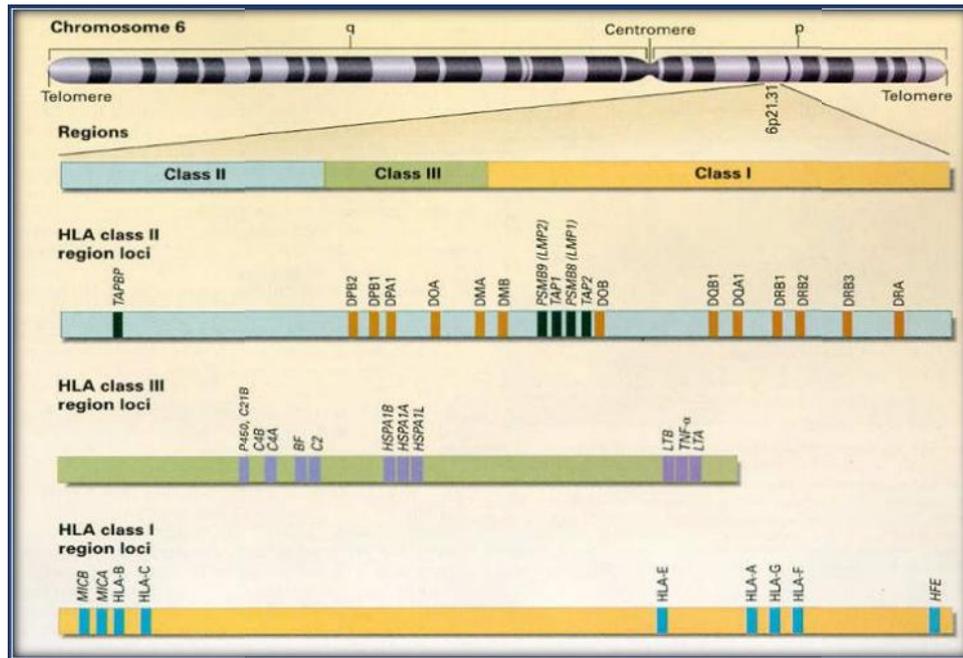


Figura 4. Localización de los genes del sistema HLA en el cromosoma 6. Los genes HLA se localizan en el brazo corto del cromosoma 6 humano y se organizan en tres regiones. La Región HLA clase I contiene los genes HLA de clase I clásicos (HLA-A, HLA-B y HLA-C), y no clásicos (HLA-E, HLA-G y HLA-F). La región de HLA clase II contiene los genes HLA de clase II (HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP). Por último, la región HLA de clase III contiene otros genes no relacionados con el sistema inmunitario. (Adaptado de Klein J, Sato A. N Engl J Med. 2000a; 343:702-9)

Moléculas HLA de clase I

La región de clase I se extiende aproximadamente a lo largo de 2Mb. Contiene los genes HLA de clase I clásicos (HLA-A, HLA-B y HLA-C), los no clásicos (HLA-E, HLA-F, HLA-G y 12 pseudogenes) y genes similares a los de clase I (HFE, MICA, MICB y 5 pseudogenes) (Horton R., et al., 2004).

Estructura de las moléculas HLA de clase I.

Las moléculas HLA de clase I están compuestas por una cadena pesada o alfa de 45 kilodalton (kDa) y altamente polimórfica que se une de forma no covalente a una cadena ligera no polimórfica de 12 kDa, llamada β_2 microglobulina, codificada por genes localizados en el cromosoma 15. La cadena pesada o alfa, es una glicoproteína de membrana tipo I, que consta de tres dominios extracelulares (1, 2 y 3), una región transmembrana y una región intracitoplasmática (Figura 5).

La zona de mayor polimorfismo en la secuencia de las moléculas HLA-I se localiza en unas regiones hipervariables (HVR, del inglés Hypervariable Region), situadas dentro de los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$ (Arnett K. L., et al., 1995)

El dominio $\alpha 3$ es menos polimórfico que los anteriores, y en su estructura se encuentra el sitio de unión al correceptor CD8 de los linfocitos T.

La $\beta 2$ -microglobulina o cadena ligera, es una proteína que no presenta polimorfismo, tiene una estructura de dominio tipo Inmunoglobulinas (Igs) y que se encuentra codificada fuera del CMH. Esta molécula a diferencia de la cadena α no contiene una región transmembrana, por lo que se mantiene unida al complejo mediante su interacción con los dominios $\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$ (Figura 5). Su principal función es la de estabilizar la estructura terciaria de la molécula HLA-I y su adecuada expresión en la superficie celular.

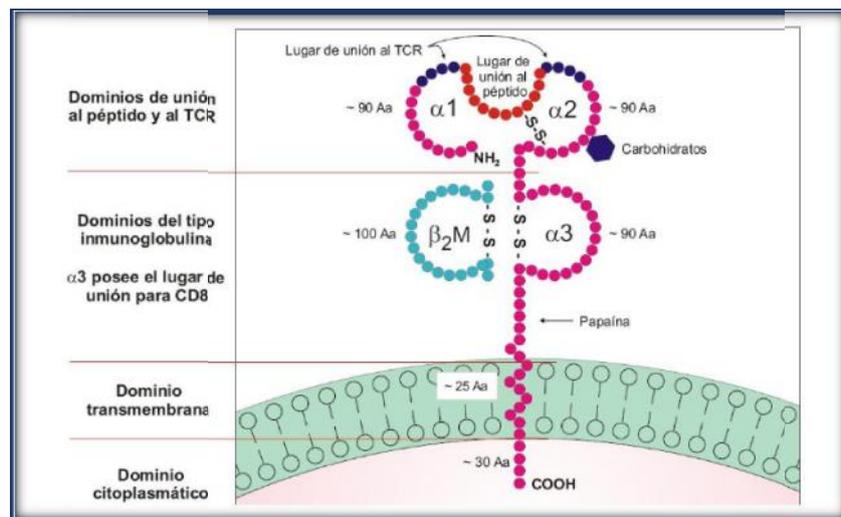


Figura 5. Estructura de una molécula de clase I. La estructura de las moléculas HLA de clase I se compone de la cadena ligera extracelular beta-2-microglobulina ($\beta 2M$) y de una cadena pesada (la cadena α) que contiene dos dominios extracelulares $\alpha 1$ y $\alpha 2$, que conforman la hendidura de unión al péptido, y otro dominio extracelular tipo inmunoglobulina ($\alpha 3$). Además también presenta una región transmembrana y una región citoplasmática. Se pueden observar los grupos carboxilo y aminoterminales de la molécula HLA de clase I. Abreviaciones: NH₂, amino terminal; COOH, carboxilo terminal; S-S, puente disulfuro; PO₄, fosfato. Tomado de <http://exa.unne.edu.ar/bioquímica/inmunoclinica/documentos/claseCMH.pdf>

Los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$ se unen formando una lámina de 8 hojas antiparalelas, y 2 regiones de hélices (Bjorkman P. J. et al., 1987), formando una estructura en forma un surco cerrado donde se sitúa el péptido. Esta estructura tiene forma de hendidura y se denomina "bolsillo" o sitio de unión al péptido (en inglés, peptide binding groove)

en el que los residuos más polimórficos se encuentran en la base y las paredes de la hendidura (Kumanovics A, et al., 2003; Lim DG, et al., 2003). En esta hendidura se acoplan péptidos antigénicos de aproximadamente 8-10 aminoácidos procedentes de proteínas endógenas previamente procesadas intracelularmente (Figura 5). Los denominados epitopos o sitios antigénicos polimórficos se sitúan en el “bolsillo”, próximos al sitio de unión con el receptor de las células T (TCR, del inglés T cell receptor). Lo que ha conducido a la hipótesis de que estos polimorfismos pueden tener un papel importante en la susceptibilidad a múltiples enfermedades (Lim DG, et al., 2003).

Debido a las características estructurales especiales descritas anteriormente, la función principal de las moléculas HLA de clase I en la inmunidad adaptativa consiste en la presentación de péptidos a los linfocitos T citotóxicos o T CD8⁺, que reconocen el complejo péptido/HLA-I a través de su receptor clonotípico, TCR. Otra función de estas moléculas es la de actuar como ligandos específicos de los receptores KIR (KIR, del inglés Killer-cell immunoglobulin-like receptor) y CD94/NKG2, expresados en las células asesinas naturales (NK, del inglés Natural Killer).

Moléculas HLA de clase II.

La región génica HLA de clase II contiene los genes que codifican para las moléculas HLA de clase II y se organiza en 3 subregiones, HLA-DR, -DQ y -DP. La región HLA-DR, está constituida por un gen que codifica para la cadena α (HLA-DRA), cinco genes que codifican las cadenas β (HLA-DRB1-5), y 4 pseudogenes (HLA-DRB6-9). Las regiones HLA-DQ y -DP contienen 2 genes que codifican para la cadena α y dos para la cadena β .

Estructura de las moléculas HLA de clase II.

Las moléculas HLA de clase II son glicoproteínas de membrana de tipo I formadas por un heterodímero compuesto por una cadena α (31-34 kDa) y una cadena β (26-29 kDa). Cada una de estas cadenas está formada por una región citoplasmática, una región transmembrana, y una región extracitoplasmática. La región extracitoplasmática está compuesta por los dominios β_2 y α_2 , que tienen una estructura del tipo de la superfamilia de las Igs y se sitúan próximos a la membrana celular, por otro lado, los dominios β_1 y α_1 conforman la estructura de unión al péptido

(bolsillo de unión) y se sitúan en una localización más distal de la membrana celular. Este bolsillo lo conforman 8 plegamientos en hoja, 4 procedentes del dominio 1 y 2 plegamientos en hélice procedentes de las cadenas α y β . Por su parte, el dominio 2 posee el lugar de unión a la molécula CD4 expresada en la superficie de los linfocitos T (Figura 6).

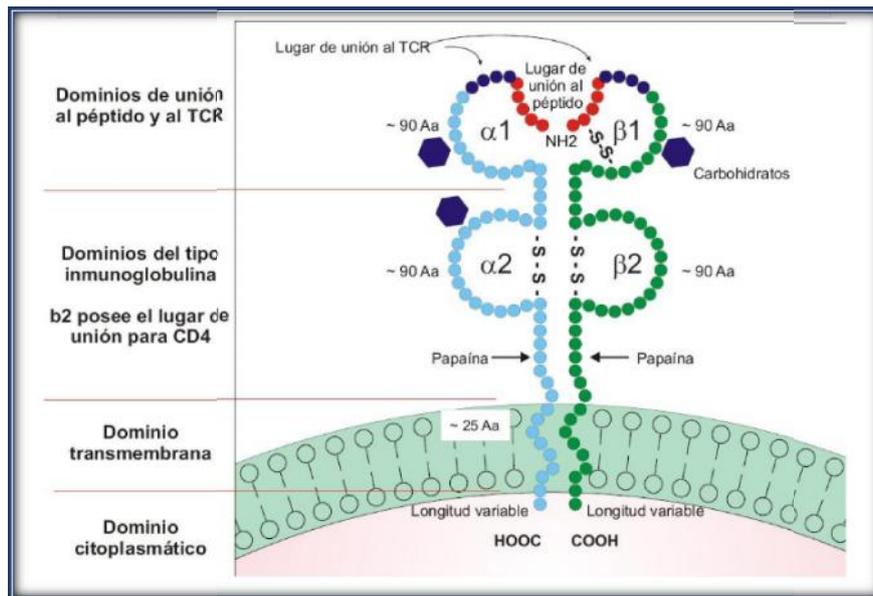


Figura 6. Estructura de una molécula de clase II. Las moléculas HLA de Clase II están formadas por las cadenas α y β . Cada una de estas cadenas contiene un dominio extracelular ($\alpha 1$ y $\beta 1$, respectivamente) que conforman el lugar de unión al péptido, otro dominio extracelular tipo inmunoglobulina más próximo a la membrana ($\alpha 2$ y $\beta 2$, respectivamente), una región transmembrana y una región citoplasmático. Se pueden observar los grupos carboxilo y aminotermiales de la molécula HLA de clase II. Abreviaciones: NH₂, amino terminal; COOH, carboxilo terminal; S-S, puente disulfuro; PO₄, fosfato. Tomado de <http://exa.unne.edu.ar/bioquímica/inmunoclinica/documentos/claseCMH.pdf>

Las regiones hipervariables de las moléculas HLA-DRB1, están situadas entre las posiciones aminoacídicas 24 a 40 y 65 a 80 de la cadena β . Por otro lado, las moléculas HLA-DQ y -DP presentan polimorfismo en ambas cadenas α y β .

El bolsillo de unión al péptido de las moléculas HLA de clase II difiere ligeramente respecto al de las moléculas HLA de clase I. Estas diferencias radican principalmente en el hecho de que sus extremos permanecen abiertos, lo que permite la unión de péptidos de mayor tamaño y de origen exógeno (Harrison. 2019; Abbas AK, et al., 2010; Muro et al., 2008) (Figura 7)

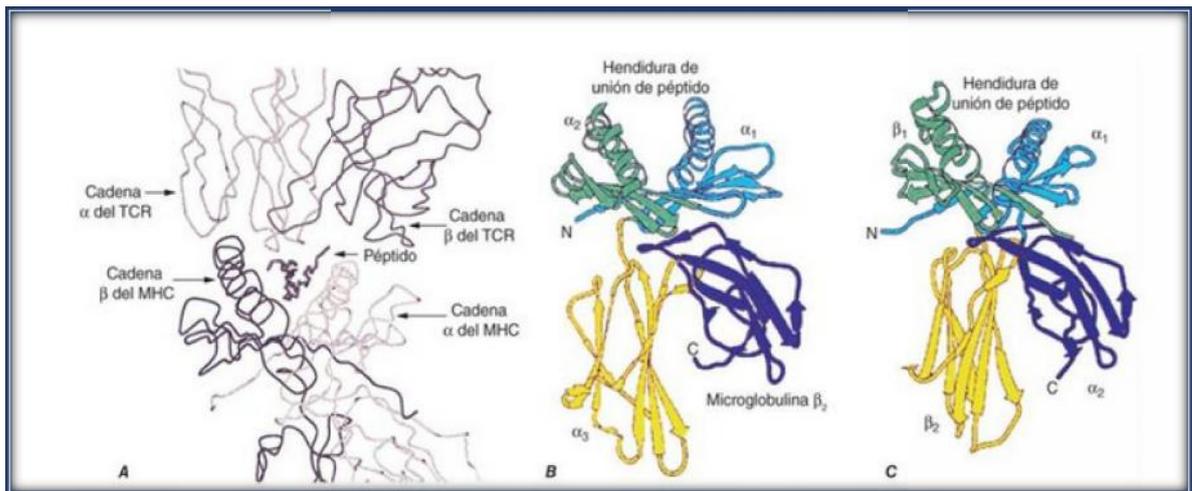


Figura 7. Estructura tridimensional de las moléculas HLA de clase II. (A) El complejo trimolecular del TCR (arriba), molécula del MHC (abajo) y péptido unido forman los determinantes estructurales del reconocimiento de antígeno específico. Otros grupos (B) y (C) muestran las estructura de dominio de las moléculas del MHC clase I (B) y clase II (C). Los dominios α_1 y α_2 de clase I y los dominios α_1 y β_1 de clase II forman una plataforma de lámina que constituye el piso del surco de unión al péptido, y las hélices que forman las partes laterales del surco. Los dominios α_3 (B) y β_2 (C) se proyectan desde la superficie celular y forman los sitios de contacto para el CD8 y CD4 respectivamente. (Adaptado de EL Reinhertz et al: Science 286:19133, 1999 y C Janeway et al: Immunobiology Bookshelf, 2nd ed. Garland Publishing, New York, 1997, con autorización.

6.3.2. HLA y enfermedad.

El descubrimiento de asociaciones entre ciertas enfermedades y las moléculas HLA ha proporcionado un fundamento firme para entender la etiología de muchas enfermedades (Trowsdale, 2011).

La hipótesis general radica en que ciertos polimorfismos de estos genes HLA codificarían para proteínas que contribuirían a la pérdida de la tolerancia o facilitarían el desarrollo de autoinmunidad (Van Driel, I.R., et al., 2002; Vyse, T.J. et al, 1996).

Una de las asociaciones más relevantes entre el desarrollo de una enfermedad autoinmune y el polimorfismo HLA, es la asociación entre el HLA-B*27 y el desarrollo de Espondiloartritis Aquilosa (EA). Otra asociación también destacable es la descrita entre los alelos HLA-DR 1*04 y la AR (Masson-Bessière, C. et al., 2001; Van Venrooij et al., 2000). Además, existen evidencias de otras asociaciones entre alelos del HLA y enfermedades autoinmunes como la EG, la Esclerosis Múltiple (EM), el Síndrome de Sjögren (SS) entre otras (ver tabla 4) (Thorsby, E., 2011).

En la FM, ciertos autores han sugerido un papel directo del sistema HLA en la patogénesis de la enfermedad, encontrando un aumento en la prevalencia de algunos antígenos HLA-DR y HLA-B, mientras que otros autores no han encontrado una asociación significativa entre la FM primaria y los alelos del sistema HLA (Biasi GL et al., 1994; Hørven SL, et al., 1992), por lo que los estudios realizados hasta la fecha no son concluyentes.

Tabla 4. Enfermedades autoinmunes y alelos HLA relacionados. Tabla adaptada de Thorsby, E., 2011.

Enfermedad autoinmune	Alelo HLA asociado
Artritis Reumatoide	DRB1*0101, DRB1*0404, DRB1*0104
Artritis Idiopática Juvenil	DRB1*0801, DRB1*11
Dermatomiosistis	DQA1*0501
Enfermedad Celiaca	DQB1*0201, DQB1*0302
Enfermedad de Allison	DRB1*0404
Enfermedad de Graves	DRB1*0301
Esclerodermia	DRB1*11
Esclerosis Múltiple	DRB1*4, DRB1*1501
Hepatitis Autoinmune	DRB1*0301, DRB1*0401
Hipotiroidismo Autoinmune	DRB1*0301
Diabetes Mellitus Insulo dependiente	DRB1*0302, DRB1*0201
MiastemiaGravis	DRB1*0301
Pénfijo vulgar	DRB1*0402
Síndrome de Good Pasture	DRB1*15
Síndrome de Sjögren	DRB1*0301, DRB1*0201

6.3.3. Receptores KIR.

En la actualidad, la familia de receptores KIR consta de siete receptores KIR a los que se les atribuye una función inhibidora y seis a los que se les atribuye una función activadora, además de KIR2DL4, que presenta una función activadora con potencial inhibidor.

Los receptores KIR se expresan en células NK (Natarajan et al., 2002) y en una subpoblación de linfocitos T (CD8+) (Van Bergen et al., 2010), y están codificados por distintos genes que se localizan en el complejo de receptores leucocitarios (LRC, del inglés, *Leukocyte Receptor Complex*) en la región 19q13.4 del cromosoma 19 (Vilches

y Parham, 2002; Bashirova y cols., 2006, Parham P. 2005), tal y como se representa en el esquema de la Figura 8.

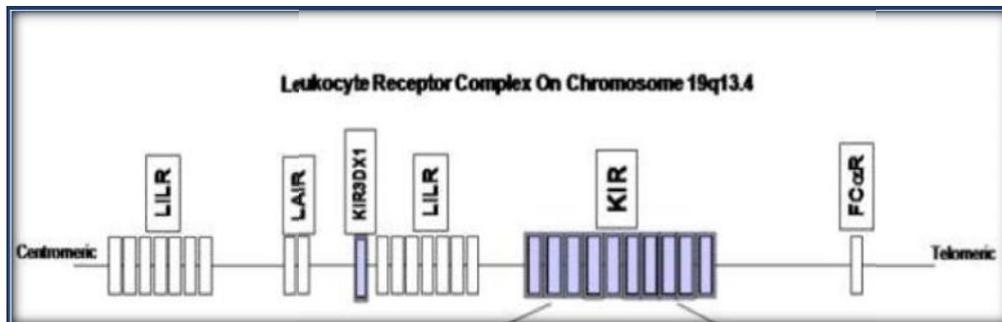


Figura 8. Localización cromosómica de los genes KIR. Los genes que codifican para los receptores KIR están localizados en el complejo de receptores leucocitarios (LCR) dentro del cromosoma 19 (19q13.4). Figura modificada de Human Disease Semin Immunol. 2008

Hasta la fecha, en humanos se han caracterizado 14 genes KIR polimórficos y 2 pseudogenes (KIR2DP1 y KIR3DP1), de los que 10 codifican para receptores con dos dominios de Ig (genes KIR2D) y 4 codifican para receptores con 3 dominios de Ig (genes KIR3D) (Marsh y cols., 2003).

6.3.3.1. Estructura molecular de los receptores KIR.

Los receptores KIR son proteínas constituidas por 3 regiones: una región extracelular, una región transmembrana y una región citoplasmática.

La región extracelular puede presentar 2 ó 3 dominios de tipo Igs, denominados D0, D1 y D2 (Figura 9). De tal manera que si los receptores presentan 2 dominios extracelulares se clasifican como KIR2D y si presentan 3 dominios como KIR3D. Adicionalmente, y según el tipo de dominios extracelulares que presentan, los receptores KIR2D se clasifican como receptores tipo I si están constituidos por los dominios D1-D2, o receptores tipo II si portan los dominios D0-D2. Los receptores KIR2D de tipo I son los más frecuentes, mientras que los de tipo II únicamente están representados por los receptores KIR2DL4 y KIR2DL5 (Vilches et al., 2000a; 2000b) (figura 9).

La región transmembrana y el tallo citoplasmático determinan la función de los receptores KIR. Así, los receptores que presentan un tallo intracitoplasmático largo con 1 ó 2 motivos ITIM (del inglés, *Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibition Motif*)

presentan una función inhibidora, se les distingue añadiendo la letra L (L, del inglés, *Long tail*) al final de su nombre, y se denominan KIR2DL y KIR3DL (Burshtyn et al., 1999). Por el contrario, los receptores de tallo corto, se identifican con una letra S (del inglés, *Short tail*) al final de su nombre, y se denominan receptores KIR2DS y KIR3DS. Estos receptores, carecen de motivos ITIMs, pero poseen un residuo de Lisina (Lys, del inglés Lysine) cargado positivamente en la región transmembrana que permite la asociación electrostática del receptor KIR con la molécula adaptadora DAP12 (Proteína activadora de DNAX de 12 kDa, del inglés DNAX activation protein of 12 kDa), que transmite una señal activadora a través de sus motivos ITAM (del inglés, *Immunoreceptor Tyrosine-based Activating Motif*), implicanda en la activación de las tirosin quinazas ZAP70 y syk (Moretta y cols., 1997; Vilches y cols., 2002; Moretta y cols., 2004). Figura 9.

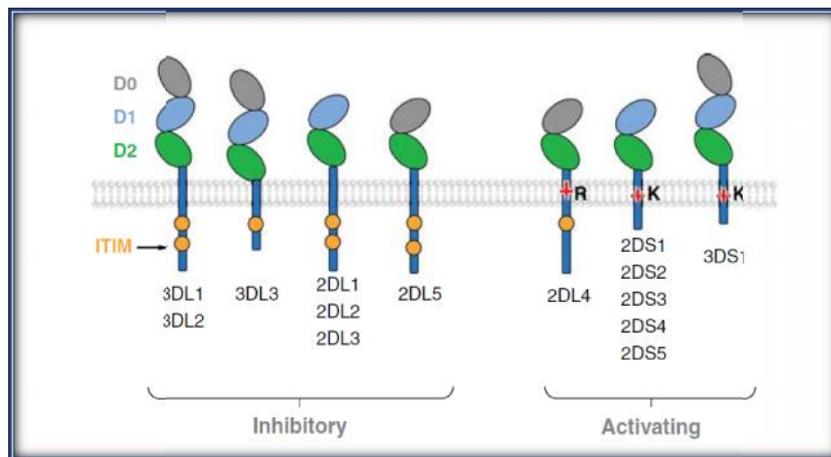


Figura 9. Estructura de los receptores KIR. Algunos receptores KIR presentan 2 dominios extracelulares tipo inmunoglobulina (KIR2D), mientras que otros presentan 3 (KIR3D). Además, estos receptores, pueden presentar una región citoplasmática larga (KIR2DL, KIR3DL) o corta (KIR2DS, KIR3DS), que determina una función efectora inhibidora o activadora, respectivamente. Bashirova et al. *Annual Reviews of Genomics and Human Genetics*. 2006; 7: 277-300

Los genes KIR presentan una distribución uniforme entre las regiones centroméricas y teloméricas del locus KIR, de manera que estas regiones tienen un contenido de genes alternativo y distintivo. Los haplotipos A se forman por la combinación de los motivos centroméricos y teloméricos A, y codifican en la región centromérica, los receptores inhibidores para HLA-C1 (KIR2DL3) y HLA-C2 (KIR2DL1) y en la región telomérica, los receptores inhibidores para HLA-Bw4 (KIR3DL1) y HLA A3/11 (KIR3DL2). Los haplotipos A, únicamente contienen un

receptor activador (KIR2DS4), que reconoce como ligandos a las moléculas HLA-A3/11 y algunas moléculas HLA-C C1 y C2, (figura 10).

Los haplotipos KIR B contienen el receptor inhibidor KIR2DL2 que reacciona específicamente con el epítipo C1, pero carecen de los genes que codifican para los receptores inhibidores KIR2DL1 y KIR3DL1, cuyos ligandos específicos son las moléculas HLA-C2 y HLA-Bw4, respectivamente. Los haplotipos KIR B se caracteriza por presentar el receptor activador KIR2DS1 y otros receptores KIR que no reconocen moléculas HLA de clase I, como el receptor inhibidor KIR2DL5 y los receptores activadores KIR2DS2, KIR2DS3 KIR2DS5 y KIR3DS1 (figura 10). Todos los haplotipos portadores de un dominio centromérico B o telomérico B, y aquellos portadores de ambos motivos centromérico B y telomérico B, se agrupan dentro de los haplotipos KIR B. Múltiples estudios han demostrado que la frecuencia de estos haplotipos varía entre las diferentes poblaciones humanas.

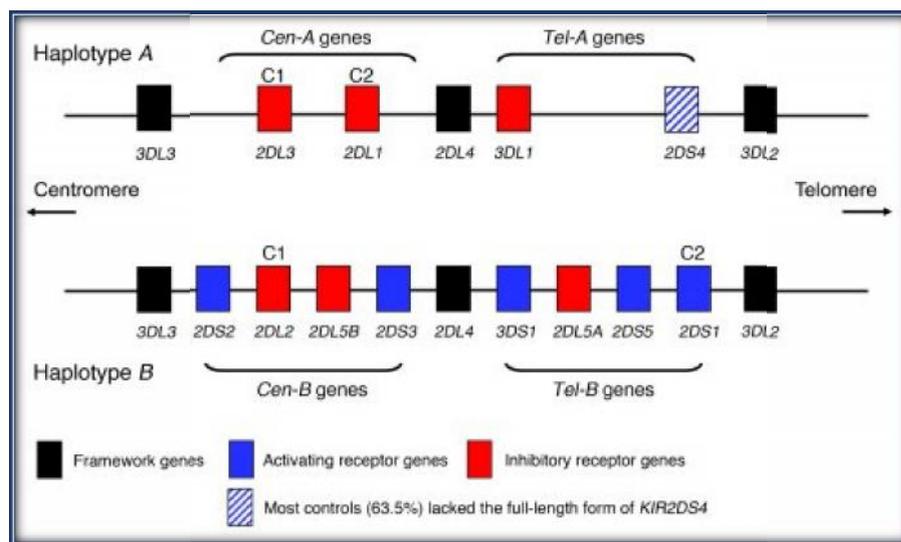


Figura 10. Distribución de los genes KIR en haplotipos. Susan E. Hiby, Mary Carrington, Moffet A.J *Clin Invest.*2010;120 (11):4102-4110.

6.3.3.2. Ligandos HLA clase-I de los receptores KIR.

Los receptores KIR reconocen como ligandos a las moléculas MHC clase I. Entre estas moléculas, los principales ligandos de los receptores KIR son las moléculas codificadas por los alelos del locus HLA-C, y en menor medida por alelos de los locus HLA-A, HLA-B y HLA-G.

Existen dos grupos de ligandos HLA-C para los receptores KIR, denominados C1 y C2, definidos por la existencia de un dimorfismo en la posición 80 de la 1-hélice de estas moléculas (Mandelboim et al., 1996; Parham P., 2004).

El grupo C1 (alelos HLA-C^{Asn80}) se caracteriza por presentar el aminoácido Asparagina (Asn) en la posición 80 e incluye a los alelos HLA-C*01, *03, *07, *08, *12, *14, *16:01. Por su parte, el grupo C2 (alelos HLA-C^{Lys80}) presenta una Lisina (Lys) en la posición 80 y engloba a los alelos HLA-C*02, *04, *05, *06, *15, *16:02, *17, *18 (tabla 5).

Las moléculas HLA-I codificadas por los alelos del grupo C1 son ligandos específicos de los receptores KIR2DL2/S2 y KIR2DL3, mientras que las codificadas por los alelos del grupo C2 son los ligandos específicos de los receptores KIR2DL1/S1 (Parham, 2005b).

En cuanto a los alelos de los locus HLA-A y HLA-B como ligandos de los receptores KIR, es de destacar, la presencia de un determinante antigénico, llamado epítipo HLA-Bw4, que es compartido por algunas moléculas HLA-A y HLA-B. Este epítipo presenta un dimorfismo en la posición 80 de la -1 hélice, en base a la presencia de un aminoácido de isoleucina (Ile) o de treonina (Thr) (tabla 5). Las proteínas codificadas por los alelos de los locus HLA-A y -B que contienen el epítipo HLA-Bw4, son ligandos específicos para el receptor KIR3DL1 (Farag and Caligiuri, 2006).

Tabla 5. Dimorfismo del epítipo Bw4 y de las moléculas HLA-C.

	Aminoácidos	Alelos
Dimorfismo en posición 80 del Epítipo HLA-Bw4	Ile80	HLA-A*23, -A*24, -A*25, -A*32, HLA-B*38, -B*49, -B*51, -B*52, -B*53, -B*57, -B*58, -B*59, -B*63
	Thr80	HLA-B*13, -B*27, -B*37, -B*44, -B*47
Dimorfismo en posición 80 de HLA-C	Asn80	Grupo C1: HLA-C*01, C*03, C*07, C*08, C*12, C*14, C*16:01
	Lys80	Grupo C2: HLA-C*02, C*04, C*05, C*06, C*15, C*16:02, C*17, C*18

6.3.3.3. Interacción entre los receptores KIR y sus ligandos.

Los receptores KIR2DL1/S1 y KIR2DL2/3/S2, reconocen moléculas HLA-C del grupo C2 (HLA-C^{Lys80}) y del grupo C1 (HLA-C^{Asn80}), respectivamente, mientras que los receptores KIR3DL1 y KIR3DL2 interactúan con alelos HLA que presentan el epítipo HLA-Bw4 y HLA-A3/11, respectivamente (Farag and Caligiuri, 2006) (figura 11).

La unión de las moléculas HLA-B al receptor KIR3DL1 está determinada por el aminoácido en la posición 80 de la molécula HLA-B (D'Andrea et al 1995). De tal manera, que los alelos HLA que presentan el epítipo Bw4, pueden contener una isoleucina o una treonina en posición 80 y constituyen ligandos para el receptor KIR3DL1, mientras que los alelos con el epítipo Bw6, presentan una asparagina en posición 80, y no reconocen a KIR3DL1.

Además, se ha descrito una alta similitud estructural entre los receptores KIR2DS1 y KIR2DL1, ya que ACS monoclonales dirigidos frente a KIR2DL1 reaccionan de forma cruzada con KIR2DS1, no obstante, se ha observado que a pesar de las similitudes entre ambos, el receptor KIR2DS1, a diferencia de KIR2DL1, se une débilmente a los alelos HLA-C del grupo C2 (Biassoni et al 1997; Vales-Gómez et al 1998). También se han observado similitudes estructurales entre los receptores KIR2DS2 y KIR2DL2/3.

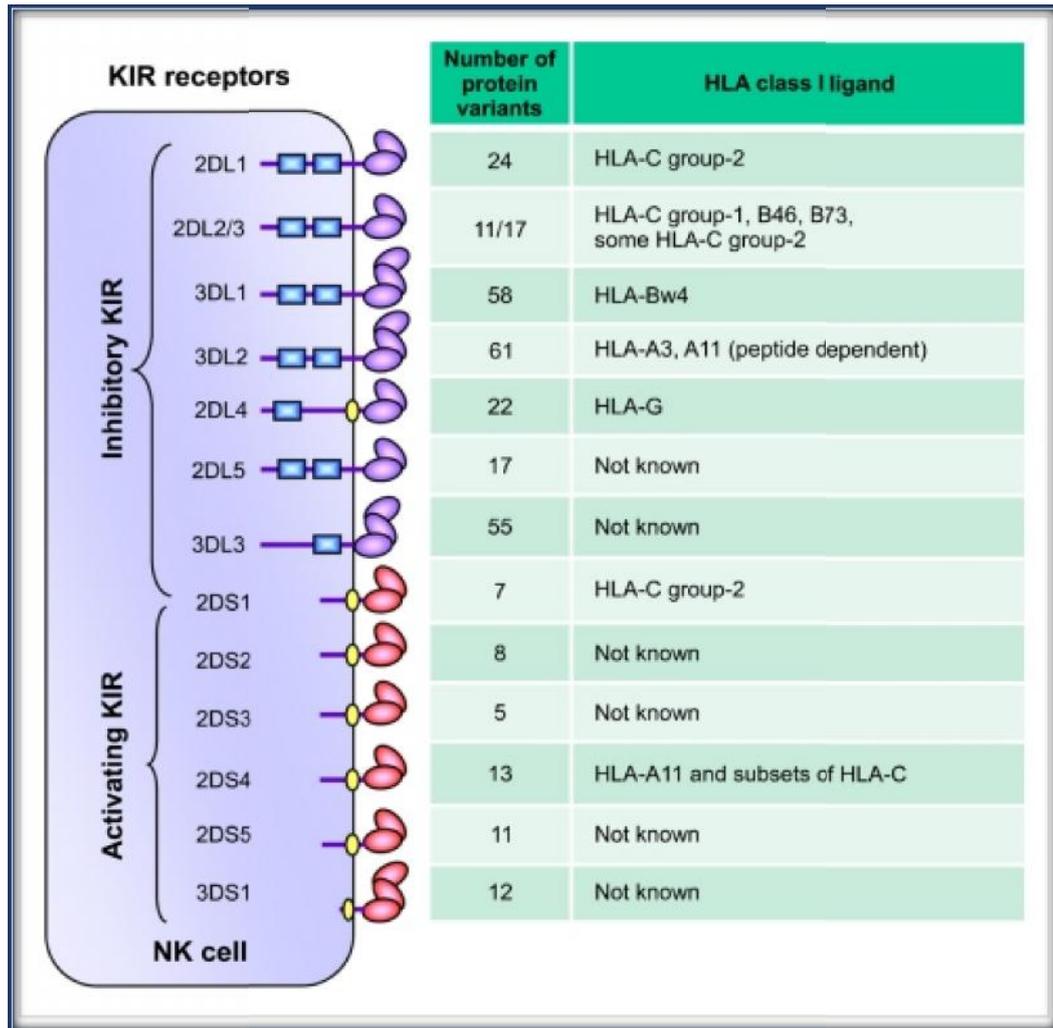


Figura 11. Receptores KIR y su interacción con ligandos HLA de clase I. Los receptores KIR2DL1/S1 y KIR2DL2/3/S2 interaccionan con moléculas HLA-C2 y HLA-C1, respectivamente. Los receptores KIR3DL1 y KIR3DL2 interaccionan con moléculas HLA de clase I que presentan el epítipo HLA-Bw4 y con las moléculas HLA-A3/11, respectivamente. *, Los ligandos de estos receptores se desconocen en la actualidad. Figura adaptada de Rajalingam R et al; *TheKoreanjournal of hematology*. 2011; 46(4): 216-28.

La interacción entre los receptores KIR inhibidores y sus correspondientes ligandos induce señales de inhibición, y la interacción entre los receptores KIR activadores y sus ligandos producen señales de activación (figura 12). En este sentido, se ha observado que las señales de inhibición predominan sobre las señales de activación, previniendo así la lisis de células diana (Parham, 2004; Igarashi et al., 2004; Khakoo et al., 2004).

Además, también se ha demostrado que las señales de inhibición producidas por la interacción entre las moléculas HLA-C y sus correspondientes receptores inhibidores KIR2DL son de diferente intensidad. Esta intensidad de interacción, esta

condicionada por la diferente afinidad entre los distintos receptores y sus correspondientes ligandos. De esta manera, la afinidad del receptor KIR2DL1 por los ligandos HLA-C del grupo C2 (HLA-C^{Lys80}) es muy fuerte y específica, mientras que la afinidad de los receptores KIR2DL2/3 por los ligandos HLA-C del grupo C1 (HLA-C^{Asn80}) es más débil (figura 12). La intensidad y la especificidad de la interacción KIR/HLA-C también viene definida por el dimorfismo correspondiente del receptor KIR en la posición 44 del dominio D1 (metionina en KIR2DL1/S1 y lisina en KIR2DL2/3) (figura 13).

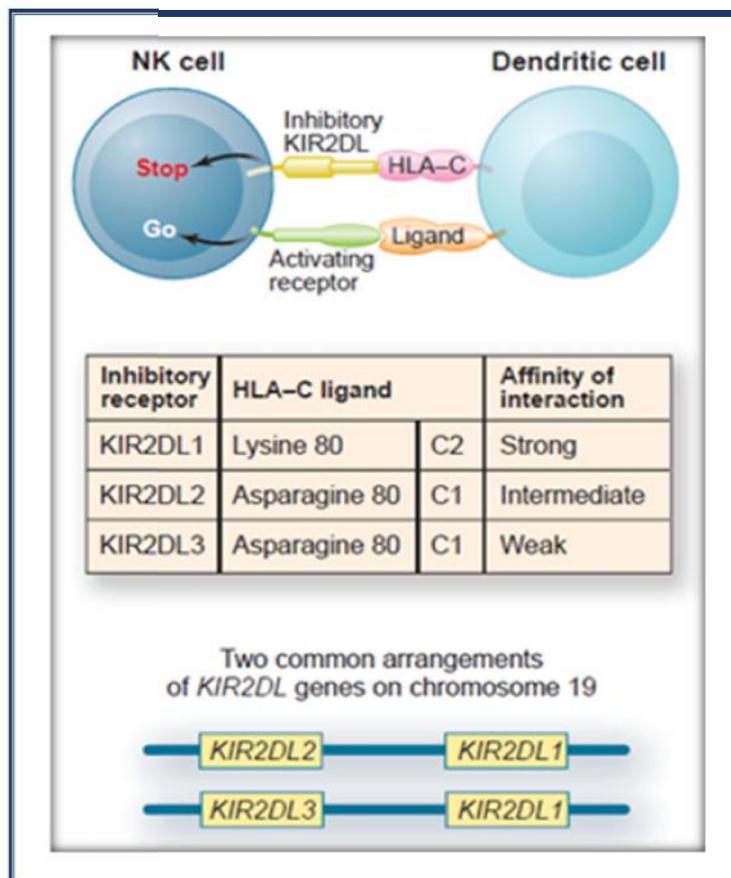


Figura 12. Afinidad de la interacción entre los receptores KIR2DL y los ligandos HLA-C.

La función efectora de las células NK está determinada por el balance entre señales procedentes de receptores activadores e inhibidores como KIR2D. La afinidad del receptor KIR2DL1 por los ligandos HLA-C2 es muy fuerte, mientras que los receptores KIR2DL2 y KIR2DL3 presentan una afinidad intermedia y débil, respectivamente, por los ligandos HLA-C1. En la parte inferior de la figura A se indican los dos reordenamientos cromosómicos más comunes de los genes KIR2DL. Parham P, *Science* 2004; 305: 786-787.

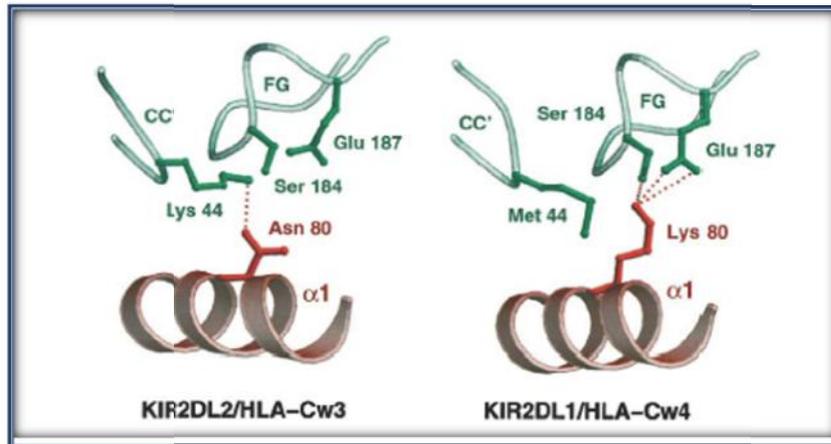


Figura 13. Interacción entre los receptores KIR2DL y los ligandos HLA-C.

La figura representa el reconocimiento de moléculas HLA-C por los receptores KIR2DL2 (izquierda) y KIR2DL1 (derecha). Las interacciones entre los residuos de HLA-C en posición 80 y los residuos de los receptores KIR están resaltadas en cada panel. El receptor KIR se muestra en verde y la molécula HLA-C en marrón y rojo. Las interacciones entre KIR/HLA-C están representados por líneas de puntos (tomado de Boyington y cols., 2001).

Funcionalmente, la interacción del receptor KIR2DL1 con sus ligandos HLA del grupo C2, es la presenta una mayor actividad inhibitoria, que llega a ser máxima cuando los ligandos HLA-C del grupo C2 se encuentran en homocigosis (figura 14), lo que conduce a un estado de tolerancia en el huésped.

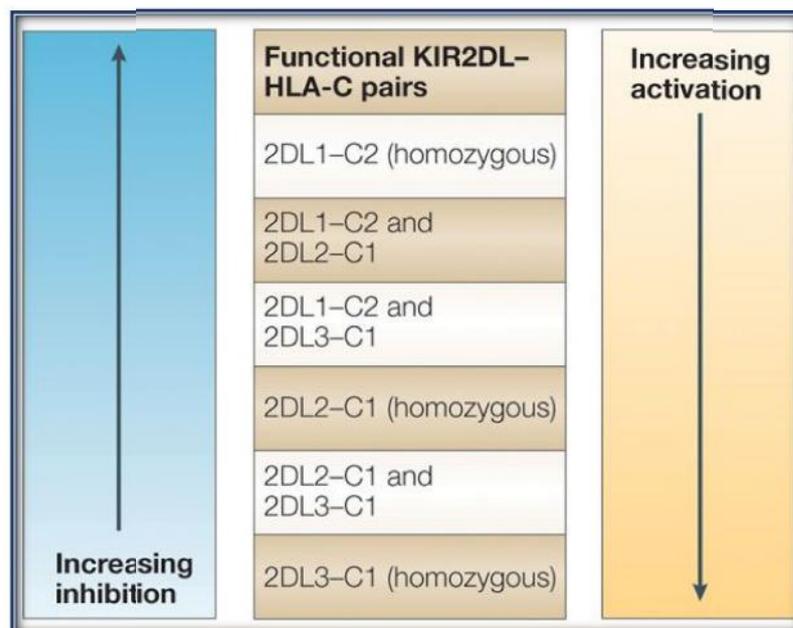


Figura 14. Jerarquía de inhibición de las interacciones de receptores KIR2DL y sus ligandos HLA-C. Parham P, *NatRevImmunol* 2005;5 (3): 201-14.

Así pues, la interacción entre los receptores KIR y sus ligandos HLA-I ha generado un gran interés en la comunidad científica (Bakker et al. 1998; Rajagopalan and Long 2005), puesto que los receptores KIR y las moléculas HLA clase I presentan un alto grado de polimorfismo (Du et al. 2007; Hollenbach et al. 2012;), que les confiere gran potencial como marcadores de susceptibilidad y/o progresión de distintas enfermedades (Parham 2005).

6.6.2.4. KIR y enfermedad

Los receptores KIR y sus ligandos HLA clase I se han asociado a una gran variedad de enfermedades, como enfermedades autoinmunes, infecciosas y tumorales (Tajik et al. 2011; Aranda-Romo et al. 2012; Al Omar et al. 2010; Martin et al. 2010).

Respecto a la asociación de los receptores KIR y sus ligandos con el desarrollo de enfermedades autoinmunes, existe un estudio publicado recientemente, realizado en pacientes con AR, en el que se ha observado que la activación del receptor KIR2DS1 solo o en combinación con el genotipo HLA-C1C1 (que indica la ausencia de los ligandos HLA para su receptor inhibidor homólogo KIR2DL1) está asociado con la susceptibilidad a la enfermedad, mientras que el receptor KIR2DL2 en combinación con el ligando HLA-C1, está asociado con un efecto protector frente al desarrollo de la misma (Sun HS et al., 2019).

Por otro lado, se ha descrito que los receptores KIR3DS1 y el KIR2DS1 podrían conferir una mayor susceptibilidad a sufrir EA (Jiao YL et al., 2008).

Además, otro estudio realizado en el año 2018, ha asociado el grupo de ligandos HLA-C1 con un mayor riesgo de sufrir Lupus Eritematoso sistémico (LES) (Gambino C Met al., 2018.). También se ha observado una relación importante entre los genes KIR y sus ligandos HLA con la tasa de incidencia de ES en la población iraní (Mahmoudi Met al., 2017).

En cuanto a la Tiroiditis de Hashimoto (TH), un estudio realizado en el año 2016, en la población china, sugiere que la interacción KIR2DS2 / HLA-C1 se correlaciona con la patogénesis de la TH, por el contrario, el predominio de la interacción inhibitoria entre los receptores KIR2DL2 /3 y los ligandos HLA-C1, en ausencia de KIR2DS2,

sugiere un posible papel protector en la patogénesis de esta enfermedad (Li JT et al., 2016).

También se ha encontrado una asociación entre el receptor KIR3DL1 en combinación con el ligando HLA-Bw4, y un efecto protector frente al desarrollo de la EM en la población afroamericana (Hollenbach JA et al., 2016).

Sin embargo, para FM, en especial la asociada a depresión, en la que se sabe que existe una implicación de las células NK y de sus receptores KIR (Carvalho LS et al., 2008), hasta el momento, no se han publicado estudios científicos relevantes.

6.3. Factores ambientales (agentes vivos de enfermedad).

Los microorganismos que con mayor frecuencia han sido relacionados con el desarrollo de autoinmunidad, son los virus y las bacterias, que pueden actuar como factores iniciadores del proceso inflamatorio inicial o bien como factores que participan en la cronificación del proceso inflamatorio. Uno de los mecanismos más importantes que asocia las infecciones por microorganismos con la aparición y desarrollo de enfermedades autoinmunes es la teoría del mimetismo molecular (Aichele, P., et al., 1996).

De acuerdo con la teoría del mimetismo molecular un individuo susceptible adquiere una infección con un microorganismo, ya sea una bacteria ó un virus. Como consecuencia de esta infección se exponen secuencias de aminoácidos que son idénticas o muy parecidas entre un antígeno propio y una parte del microorganismo, y se origina una reactividad cruzada, de tal manera que la presencia de una segunda señal coestimuladora como un ambiente proinflamatorio o LT autorreactivos podría iniciar una respuesta inmunitaria aberrante, acompañada de la activación policlonal de linfocitos B, que adquirirían la capacidad de generar autoACS frente a proteínas propias (Fujinami et al., 2006; Welsh, et al., 2010)(Klein R, et al., 1990).

Actualmente, existe una gran variedad de ejemplos de mimetismo molecular aplicados a la inmunopatogenia de las enfermedades autoinmunes, como la similitud de proteínas del Citomegalovirus (CMV) y del Virus del Epstein Barr (EBV) en el SS, (Varani, S. et al., 2011), *Clamidia pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* en la DM tipo I, (Varani, S. et al., 2011; Soares, M.B. et al., 1999), o la polimerasa del virus de la hepatitis B implicada en la EM (Costantino, C. M, et al., 2008), aunque el ejemplo más conocido lo constituye el desarrollo de la enfermedad reumática tras la infección por el

Estreptococo betahemolítico del grupo A, en la que el antígeno M y el antígeno carbohidrato del grupo A de este microorganismo presentan mimetismo molecular con la miosina presente en el tejido cardíaco, y también con otros autoantígenos del tejido sinovial, la piel y el SNC, lo que origina las manifestaciones clínicas de la enfermedad reumática (Aichele, P., et al., 1996; Ludewig, B et al, 2000; Fujinami et al., 2006).

Sin embargo, la presencia de secuencias similares entre un microorganismo y una molécula propia, no es suficiente para disparar la autoinmunidad, ya que este es un fenómeno frecuente que ocurre durante la presentación y reconocimiento antigénico en individuos sanos (Fujinami et al., 2006), por lo que se requeriría la existencia de un “epitopo relacionado con la enfermedad” como un epitopo compartido o un péptido artritogénico (Meda, F., et al., 2011).

En el caso de la FM, diversos estudios han propuesto la teoría del mimetismo molecular entre un péptido bacteriano o viral, con un péptido constitutivo del organismo (péptido relacionado con la 5-HT), como mecanismo de pérdida de tolerancia o desarrollo de autoinmunidad (Avrameas S, et al., 1995).

7. TRATAMIENTO DE LA FM.

La FM presenta una gran dificultad en su manejo terapéutico debido a la heterogeneidad en la presentación clínica de la enfermedad y a la gran variedad de síntomas centrales que presentan los pacientes, siendo estos principalmente de dos tipos:

1. Los derivados del dolor, que incluyen dolor generalizado, dolor localizado y dolor visceral.
2. Los síntomas no dolorosos, como la fatiga, alteraciones del sueño, trastornos cognitivos, depresión y ansiedad.

En la actualidad no hay ningún fármaco específico aprobado para la FM por la Agencia Española de Medicamentos y productos Sanitario (AEMS) ni por la Agencia Europea del Medicamento (AEM). Sólo tres fármacos, la duloxetina, el milnacipran (inhibidor de la recaptación de serotonina y norepinefrina , IRSN) y la pregabalina (un anticonvulsivo) están aprobados para su uso en la FM en otros países del mundo, por lo que la mayoría de los tratamientos farmacológicos que se usan en la FM no son específicos de esta enfermedad (Häuser, W et al. 2014b).

Un metaanálisis realizado reuniendo todas las directrices Europeas, de oriente Medio y América del Norte, en relación al manejo terapéutico de los pacientes con FM, concluyó que el tratamiento de la FM debe integrar tanto el enfoque farmacológico como el no farmacológico y debe involucrar a los pacientes como participantes activos en el proceso (Nüesch, E. et al. 2013; Russell IJ, 2008). Además, las recomendaciones de tratamiento deben ser guiadas por la literatura científica, la experiencia clínica y las preferencias del paciente.

Se ha observado que ningún tratamiento específico es eficaz para todos los pacientes con FM. Además, el tratamiento farmacológico es eficaz para controlar los síntomas claves como el dolor, la fatiga, la depresión y la calidad de vida a corto plazo, pero no hay evidencia que de a largo plazo continúe siendo eficaz, a excepción del mantenimiento del ejercicio físico. (Häuser W. et al., 2009a).

En Europa, según la guía EULAR, se debe dar importancia al tratamiento no farmacológico de la FM (MacFarlane GJ, et al., 2017), por causas como la rentabilidad económica, la seguridad y la disponibilidad, y porque así lo prefieren también los pacientes. El ejercicio físico, por su perfil de eficacia y seguridad, es la medida terapéutica que debe ser prescrita a todos los pacientes con diagnóstico de FM. Por el contrario, existe un bajo nivel de evidencia científica respecto a la eficacia de la intervención farmacológica en la FM, debido a los potenciales efectos adversos y el bajo cumplimiento por parte de los pacientes, por lo que debe ser indicada únicamente en casos específicos (por ejemplo, dolor no sensible o trastornos del sueño).

En las situaciones más graves, los pacientes pueden beneficiarse de un enfoque terapéutico multimodal (figura 15).

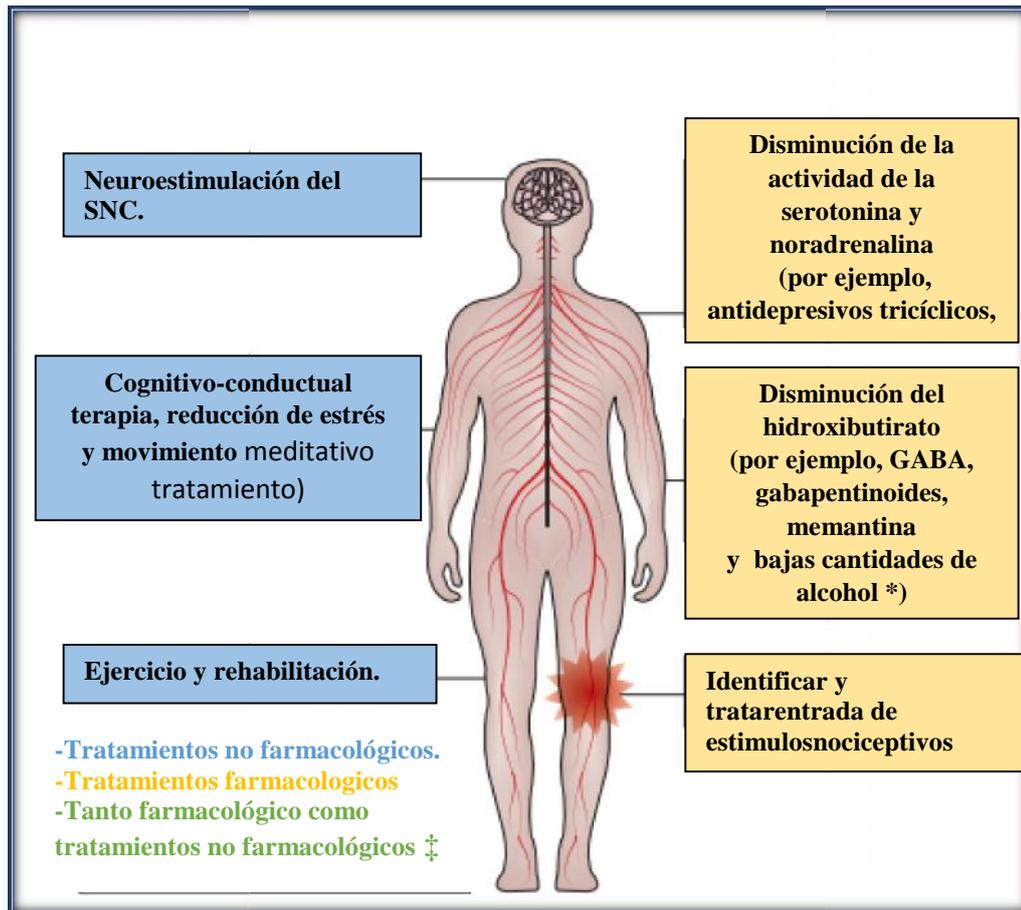


Figura 15. Posibles terapias para la fibromialgia. Terapias no farmacológicas (terapia cognitiva-conductual y ejercicio) y terapias tratamiento farmacológico (como anticonvulsivos y antidepresivos de gabapentinoides), SNC, sistema nervioso central; GABA, ácido -aminobutírico; SNRI, Serotonina-inhibidor de la recaptación de noradrenalina. * Tratamiento plausible. ‡ Tratamiento probable en ambos sentidos dependiendo de la comorbilidad. Modificado Fibromyalgia. NatureReviews. Disease Primers. Volume 1. 2015

7.1. Tratamiento farmacológico:

El manejo terapéutico de la FM incluye el uso de fármacos que modulan la neurotransmisión y actúan sobre el dolor, los circuitos de la emoción y de la recompensa.

Las guías europeas proporcionan una lista detallada de fármacos recomendados según una revisión que incluye metaanálisis y otras revisiones sistemáticas publicadas (MacFarlane GJ, et al., 2017). En estos estudios, los autores evaluaron el perfil de seguridad y la eficacia de varios medicamentos, incluidos los antidepresivos, los moduladores del dolor, las hormonas, los anticonvulsivos y los relajantes musculares. Para algunos de ellos, como la amitriptilina, la pregabalina y la duloxetina, los resultados en cuanto al dolor fueron alentadores. Otros síntomas,

como los trastornos del sueño, la fatiga y la discapacidad, pueden mejorar con la Amitriptilina, pregabalina o agentes serotoninérgicos. Por el contrario, debido a un perfil de seguridad y eficacia bajo, el uso de otros compuestos, tales como ciclobenzaprina, hormona del crecimiento, antiinflamatorios no esteroideos (AINE), esteroides fuertes, opioides e inhibidores de la monoamino oxidasa han sido desalentadores.

Por otro lado, existen evidencias sobre los efectos de otras moléculas en los síntomas de la FM basados en ensayos o revisiones científicas. (Atzeniet al. 2019).

Las principales alternativas farmacológicas para el tratamiento de los síntomas de la FM son:

El dolor se trata tradicionalmente con analgésicos simples (paracetamol), AINE o medicamentos opioides (tramadol). Sin embargo, los AINE no muestran un efecto superior en comparación con el placebo y se asocian con considerables efectos adversos (Sommer, et al., 2012). EL Tramadol, agonista de los receptores opioides μ , ha demostrado un efecto moderado sobre el dolor, sin producir cambios en la calidad de vida y se asocia con un perfil de efectos adversos similar a otros agentes opioides (Sommer, C. et al., 2012).

Los medicamentos antidepresivos han sido la piedra angular de los tratamientos farmacológicos recomendados para la FM. Estos fármacos aumentan los niveles de 5-HT y NA y muestran efectos sobre el dolor, que son independientes de los efectos sobre el estado de ánimo. Entre estos se encuentran la pregabalina (Üçeyler, N. et al., 2013), duloxetina y milnacipran (Häuser, W., et al., 2013)

La Ciclobenzaprina, un análogo estructural de los antidepresivos tricíclicos, tiene efectos sobre el sueño a dosis bajas. También a dosis baja, la amitriptilina, un antidepresivo tricíclico, ha mostrado un efecto favorable para el alivio del dolor, trastornos del sueño y la fatiga, pero su uso está limitado por sus efectos anticolinérgicos, antihistamínicos, y por el desarrollo de taquifilaxia (disminución del efecto después de una administración repetida) (Moldofsky, H. et al., 2011).

Debido al perfil de efectos adversos de los antidepresivos tricíclicos, se han estudiado otros antidepresivos, como los inhibidores selectivos y los no selectivos de la recaptación de 5-HT (ISRS y INSRS, respectivamente). Todos estos agentes, a excepción del citalopram, mostraron un efecto positivo en el dolor, y algún efecto sobre la fatiga, la depresión, el sueño y una mejoría de la calidad de vida (Häuser, W.,

et al., 2012). En general, los efectos adversos graves relacionados con los antidepresivos, especialmente con los INSRS son raros, pero el 20% de los pacientes interrumpen el tratamiento debido a la intolerancia (Häuser, W., et al., 2013).

Los medicamentos anticonvulsivos disminuyen la excitación neuronal tanto central como periférica. Entre estos, los Gabapentinoides (anticonvulsivos de segunda generación), han mostrado eficacia en el tratamiento de la FM en grupos reducidos de pacientes (Üçeyler, N. et al., 2013). La Pregabalina, ha demostrado producir una ligera reducción del dolor y de los problemas del sueño, pero tiene efectos limitados sobre la fatiga, la depresión, la ansiedad y la calidad de vida (Üçeyler, N. et al., 2013).

Otras categorías de medicamentos que podrían usarse en la FM incluyen cannabinoides, agentes dopaminérgicos, naltrexona, tranquilizantes y antagonistas de los receptores de la 5-hidroxitriptamina. El uso de los cannabinoides a base de preparados herbales puede ser controvertido, sin embargo la preparación farmacéutica nabilona podría tener efecto sobre el dolor y la calidad del sueño (Ware, M. A., et al., 2010).

El agente dopaminérgico pramipexol se ha asociado a la mejoría del dolor, sin embargo, su uso está restringido por los efectos adversos gastrointestinales que produce. (Holman, A. J., et al., 2005).

El antagonista de los opioides naltrexona ha mostrado efectos sobre el dolor, pero no actúa sobre la fatiga y la calidad de sueño. (Younger, J et al., 2009). Los agentes que promueven el sueño incluyen el zopiclone (Grönblad, M., et al., 1993), la benzaprine (Moldofsky, H. et al., 2011) y quetiapine (Calandre, E. P. et al., 2014).

Los antagonistas de los receptores de 5-hidroxitriptamina 3, agentes cuya indicación principal es como antieméticos, han demostrado, en estudios preliminares, efectos beneficiosos para el tratamiento de la FM (Vergne-Salle, P. et al., 2011).

7.2. Tratamiento no farmacológico.

El tratamiento no farmacológico parece tener un mayor impacto en las manifestaciones clínicas, los síntomas y la calidad de vida de los pacientes con FM que los tratamientos farmacológicos (F. Atzeni et al., 2019).

Estos se basan principalmente en la educación del paciente, la realización de un programa de ejercicios y estiramientos adecuados y la terapia cognitivo-conductual.

En la mayoría de los casos es recomendable utilizar una estrategia múltiple, combinando diferentes posibilidades terapéuticas, y aconsejando el mantenimiento de la actividad física.

Las diferentes posibilidades terapéuticas comprenden:

- Ejercicio físico. Los pacientes con FM normalmente tienen un bajo estado de forma física, por lo que el ejercicio físico es una parte muy importante en cualquier programa terapéutico, y la eficacia va a depender de lo personalizado que este. Comprende ejercicios aeróbicos, ejercicios de fortalecimiento muscular, y ejercicios de estiramiento y flexibilidad.
- Terapia con agentes físicos. Existen diferentes opciones terapéuticas que utilizan dispositivos físicos para el tratamiento de dolor musculoesquelético generalizado en pacientes con FM, aunque este tipo de dolor es un mal candidato para los tratamientos físicos, ya que tienen un efecto local, y el efecto es positivo solo a corto plazo en la mayoría de los pacientes.

Los dispositivos físicos comúnmente empleados son: El láser o luz amplificada por Emisión Estimulada de Radiación, Termoterapia, estimulación nerviosa transcutánea (TENS), ultrasonido, Magnetoterapia, tratamientos físicos a nivel craneal: estimulación magnética transcraneal (EMT) y corriente directa transcraneal, tratamiento quiropráctico, y masaje.

- Tratamiento psicológico. La terapia cognitivo-conductual (TCC) y la terapia conductual -Operante (TCO) son las dos opciones más utilizadas en el tratamiento de la FM.

Las nuevas terapias de apoyo psicológico muestran resultados prometedores e incluyen realidad virtual, terapia de conciencia corporal básica (BBAT), Terapia de comportamiento cognitivo (TCC) y Música de Grupo e Intervención de imágenes (GrpMI, del inglés *“Randomized Trial of a Group Music and Imagery Method”*).

La realidad virtual modula la percepción del dolor al influir en la atención, la concentración y las emociones de los pacientes con FM (Pourmand A, et al., 2018). Por su parte el BBAT es un programa de entrenamiento para fomentar la

conciencia de la coordinación corporal, enseñando a los pacientes cómo moverse correctamente en el espacio y tiempo (Bravo C., et al., 2018).

La TCC se centra en las estrategias de afrontamiento, el control emocional y la psicología cognitiva, y ha demostrado resultados exitosos para contrarrestar los trastornos del estado de ánimo y la discapacidad de los pacientes con FM. (Kashikar-Zuck S, et al., 2018).

La intervención de GrpMI, cuando se combinó con la relajación, también mostró efectos beneficiosos sobre el estado de ánimo y la sensibilización al dolor en 56 mujeres con FM inscritas en un ensayo aleatorizado de 12 semanas de duración (Torres E, et al., 2018).

- Terapias naturales o alternativas. Su uso está muy extendido entre las personas con FM, a pesar de la escasa evidencia científica existente acerca de su eficacia. Las más populares son: acupuntura, homeopatía, ozonoterapia, suplementos dietéticos y nutricionales, Qi-Gong, Reiki, Tai-Chi. Diversos estudios han mostrado un beneficio significativo de la disciplina china Tai Chi sobre el ejercicio aeróbico en términos del estado de ánimo y trastornos del sueño, discapacidad y calidad de vida (Wang C, et al., 2018).

HIPOTESIS Y OBJETIVOS

HIPOTESIS

La FM es un proceso de dolor crónico, generalizado, de localización preferentemente osteomuscular, cuya etiología no se conoce con exactitud, pero en la que se piensa podría haber una ruptura del funcionamiento normal de los sistemas inmunitario y neuroendocrino, y en la que participarían una compleja red de moléculas como citocinas, hormonas y neurotransmisores, así como los receptores de dichas moléculas.

Por tanto, y en base a esta premisa, en el presente trabajo se plantean las siguientes hipótesis de trabajo:

1) Ciertos procesos que impiden el normal funcionamiento del sistema inmunitario y neuroendocrino, en concreto las vías serotoninérgica-noradrenérgica, pueden favorecer la aparición de patologías que cursan con dolor crónico, hiperalgesia y alteraciones de conducta similares a la FM. Se sabe que bajos niveles de serotonina, así como la presencia de fenómenos autoinmunes asociados con la presencia de ACS circulantes anti-serotonina o anti-gangliósidos, pueden alterar el funcionamiento de esta vía y ser uno de los desencadenantes de la FM, por tanto, su detección puede ser de utilidad en el diagnóstico, evolución y pronóstico de la misma.

2) En pacientes con fibromialgia se ha descrito un desequilibrio entre las citoquinas pro- y anti-inflamatorias, de manera que parece existir un predominio de las citoquinas pro-inflamatorias. Estas pueden activar los receptores del dolor localizados en las terminaciones de las neuronas, aumentando la sensibilidad al mismo, lo que puede favorecer la aparición de alteraciones conductuales o "sickness behavior", y el desarrollo de síntomas como el dolor, la fatiga y las conductas depresivas. Por tanto, en el presente trabajo se plantea que la cuantificación y el estudio del polimorfismo genético de las citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias en pacientes con FM, podría aportar información valiosa sobre el grado de afectación de los individuos y su posible asociación con las manifestaciones de la enfermedad.

3) Se ha descrito que los receptores KIR en combinación con sus ligandos HLA de clase I pueden conferir susceptibilidad o protección a determinadas enfermedades autoinmunes y/o inflamatorias. Por tanto, en el presente trabajo se plantea que el análisis del polimorfismo de los genes KIR y HLA de clase I podría ser útil para determinar la asociación de estos genes con la susceptibilidad o protección frente a la FM, su progresión y sus manifestaciones clínicas.

OBJETIVOS

1. Determinar el papel de los mecanismos autoinmunes en la patogenia de la FM. Evaluar la presencia de ACS anti-serotonina, ACS anti-gangliósidos y otros autoACS en sangre periférica de pacientes con FM y controles sanos así como analizar la variación de estos ACS en función del estado clínico de los pacientes con FM.
2. Evaluar la presencia de desbalances entre citoquinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias y estudiar la asociación de los polimorfismos genéticos de estas citoquinas con la susceptibilidad y las manifestaciones clínicas de la FM.
3. Analizar el polimorfismo de los genes KIR y HLA de clase I y clase II en pacientes con FM y controles sanos con el objetivo de conocer su posible asociación en la susceptibilidad y manifestaciones clínicas de la enfermedad.

PACIENTES Y MÉTODOS

PACIENTES Y MÉTODOS.

1. DISEÑO DEL ESTUDIO.

En el presente trabajo se ha estudiado una cohorte de pacientes diagnosticados de FM tipo I, pertenecientes a la Asociación Murciana de Síndrome Fatiga Crónica y Fibromialgia (AFFIRMA) de la Región de Murcia y un grupo de controles voluntarios sanos.

Los individuos que han participado en este estudio se seleccionaron mediante entrevista personal realizada por el médico responsable, siendo imprescindible para su inclusión en el mismo el consentimiento informado (ver anexo 1) firmado por el paciente y la aprobación del Comité Ético del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA).

2. DIAGNÓSTICO DE FIBROMIALGIA

El diagnóstico de FM se realizó aplicando los criterios diagnósticos de FM de la ACR del año 1990 (*Wolfe et al. 1990*) complementándolos con los nuevos criterios diagnósticos de la ACR 2010 (*Wolfe et al. 2010*), como son el Índice de Dolor Generalizado (WPI, del inglés Windespread Pain Index) y la Escala de Severidad de los Síntomas (SSS, del inglés Symptom Severity Scale).

Un paciente satisface los criterios diagnósticos para FM si cumple las siguientes tres condiciones:

1. Paciente con historia de dolor generalizado durante al menos tres meses de forma continua. El dolor debe aparecer en las siguientes áreas: lado derecho e izquierdo del cuerpo, por encima y por debajo de la cintura y en el esqueleto axial (columna cervical, pared torácica anterior, columna dorsal o columna lumbar). Por tanto, se cumplen las condiciones de dolor generalizado si existe dolor en alguna región del esqueleto axial y en, al menos, tres de los cuatro cuadrantes corporales (dividiendo el cuerpo con una línea vertical longitudinal que separe los dos hemicuerpos, derecho e izquierdo, y una línea transversal que pase por la cintura y separe las dos mitades superior e inferior) o,

excepcionalmente si existe dolor en dos cuadrantes opuestos de los dos ejes de división corporal (Wolfe F, et al., 1990).

2. Ausencia de otra enfermedad sistémica que pueda causar el dolor y el resto de síntomas.
3. Dolor a la presión en al menos 11 de los 18 puntos simétricos (nueve pares) denominados, puntos gatillo o TP (Punto sensible, del inglés "*Tender Points*"), que corresponden a áreas muy sensibles, con bajo umbral para estímulos mecánicos. Los TP son los siguientes: occipital, cervical bajo, trapecio, supraespinoso, segundo espacio intercostal en la unión conostocondral, epicóndilo, glúteo, trocánter mayor y rodilla.

Además, el WPI, que puntúa las zonas del cuerpo donde el paciente refiere dolor, puntuable de 0-19, debe ser igual o superior a 7 para establecer el diagnóstico de FM. Adicionalmente, la SSS, que puntúa la severidad o intensidad de los síntomas, de 0-12, debe ser mayor o igual a 5, para establecer el diagnóstico de FM. También se consideran diagnósticos de FM una puntuación de WPI entre 3 y 6 y una puntuación en la SSS superior o igual a 9, (WPI 7 y SS 5 ó WPI 3-6 y SS 9) (Wolfe F., 2010b).

Los puntos dolorosos no deben presentar signos inflamatorios, además, los pacientes con FM pueden presentar dolor provocado por presión en otras zonas distintas a las exigidas por el diagnóstico. La presencia de dolor generalizado, junto con el dolor a la presión moderado o intenso en, al menos, 11 de los 18 puntos valorados, presenta una sensibilidad diagnóstica del 88,4% y una especificidad del 81,1% (Wolfe et al., 1990; Yusta, Laguna y Ballina 2002).

Los 18 TP se evaluaron con el dolorímetro de Fisher, que aplica una presión de 4kg/ cm² en cada uno de los puntos sensibles. Para que el TP sea considerado como positivo, el paciente debe indicar que la palpación fue dolorosa.

La evaluación psiquiátrica se basó en la Entrevista Clínica estructurada para estos desordenes (Interview for DSM-IV Axis I Disorders-Patient Edition, SCID-I/P).

3. PACIENTES Y CONTROLES

En el presente trabajo se ha estudiado una serie de 235 pacientes caucásicos diagnosticados de FM tipo I, pertenecientes a la AFFIRMA que fueron reclutados por los Servicios de Medicina Interna, Inmunología, Reumatología y Psiquiatría del

HCUVA. En paralelo, se ha estudiado un grupo de 191 individuos sanos voluntarios, de edad, sexo étnia y área geográfica similares a los pacientes. Además, se han aplicado los mismos criterios de inclusión y exclusión para los pacientes con FM y controles sanos, y se ha excluido a los individuos con un familiar directo diagnosticado de FM y a aquellos sometidos a algún tratamiento que pudiera interferir con el estudio.

3.1. Criterios de selección de pacientes con FM

Los pacientes se seleccionaron siguiendo los criterios de inclusión y exclusión siguientes:

3.1.1. Criterios de inclusión de pacientes con FM:

- Diagnostico de FM idiopática ó tipo I.
- Consentimiento informado del paciente.
- Edad entre 18 y 90 años

3.1.2. Criterios de exclusión de pacientes con FM:

- Fatiga crónica/ sensibilidad química diagnosticada.
- Mujeres embarazadas.
- Pacientes con tratamiento inmunosupresor en el momento del estudio.
- Pacientes con tratamiento fitoterápico en el momento del estudio.
- Pacientes con enfermedades concomitantes como enfermedades autoinmunes, enfermedades infecciosas, inmunodeficiencias u otras patologías que pueden interferir en el estudio.
- Pacientes que carecen de datos clínicos o procedimentales.
- Pacientes con FM secundaria a enfermedades crónicas (tipo II)
- Pacientes con FM como manifestación somática de un proceso psicopatológico subyacente (tipo III)
- Pacientes con FM simulada (tipo IV)

3.2. Criterios de selección de controles.

Los controles se seleccionaron siguiendo los criterios de inclusión y exclusión siguientes

3.2.1. Criterios de inclusión de controles:

- Individuos sanos
- Consentimiento informado del paciente.
- Edad entre 18 y 90 años.

3.2.2. Criterios de exclusión de controles:

- Enfermedades interrecurrentes agudas.
- Enfermedades mentales crónicas.
- Mujeres embarazadas.
- Pacientes con tratamiento inmunosupresor en el momento del estudio.
- Pacientes con tratamiento fitoterápico.
- Pacientes con enfermedades concomitantes como enfermedades autoinmunes, enfermedades infecciosas, inmunodeficiencias u otras patologías que puedan interferir en el estudio.
- Individuos que carecen de datos clínicos o procedimentales.
- Familiar de primer grado de paciente con FM: Padres, hijos y hermanos.
- Familiar de segundo grado de paciente con FM: tíos, primos y abuelos.

En la visita inicial, la selección de los pacientes, la historia clínica y las exploraciones complementarias necesarias para el diagnóstico de la FM se llevaron a cabo por los reumatólogos y psiquiatras del HCUVA, y por médicos de atención primaria del Área Sanitaria I de la región de Murcia. Tras confirmar el diagnóstico, los datos psicológicos se evaluaron por especialistas en psiquiatría del HCUVA. La evaluación de la no concomitancia de enfermedades por inmunodeficiencias u otras enfermedades de base inmunológicas fue evaluada por médicos del Servicio de Inmunología del HCUVA.

3.3. Variables demográficas, clínicas y procedimentales

La clasificación de los pacientes se hizo considerando las variables demográficas, clínicas y procedimentales que se describen a continuación:

3.3.1. Variables demográficas y clínicas.

- Variables demográficas: edad y sexo.
- Variables clínicas:
 1. Estado actual de la enfermedad, mediante los denominados “Tenders Point”
 2. Impacto y presentación de la enfermedad, se evaluó con los siguientes cuestionarios que también se realizaron en el grupo control:
 - Cuestionario sobre la capacidad funcional de la FM, (FIQ del inglés “*Fibromyalgia Impact Questionnaire*”),
 - Cuestionario sobre Calidad de Vida (CCV),
 - Índice de dolor generalizado (WPI) e Índice de gravedad de síntomas (SSS)
 - Cuestionario de Oviedo del Sueño (COS).
 - Escala de Impresión Clínica Global (CGI del inglés “*Clinical Global Impression*”).
 - Test HAMILTON para evaluar la ansiedad (HARS del inglés “*Hamilton Anxiety Rating Scale*”).
 - Escala HAMILTON para evaluar el grado de depresión (HDRS del inglés “*Hamilton Depression Rate Scale*”).
 - Cuestionario del dolor de McGill. (MPQ del inglés McGill Pain Questionnaire”).
 3. Tiempo de evolución de la enfermedad.
 4. Presencia de depresión y ansiedad, mediante entrevista clínica específica para estos desordenes, SCID-I/P.
 5. Crisis o exacerbaciones de la enfermedad.
 6. Situaciones de estrés, determinadas por los datos clínicos recogidos en la entrevista con el paciente y en los resultados de laboratorio obtenidos de los métodos para tal efecto.
 7. Tratamiento prescrito.

3.3.2. Cuestionarios utilizados para evaluar el impacto y la presentación de la enfermedad:

3.3.2.1. Cuestionario sobre la capacidad funcional de la FM (FIQ)

El FIQ es un cuestionario multidimensional diseñado para que el paciente lo pueda autoadministrar. Valora los componentes del estado de salud que suelen estar más afectados en pacientes con FM, mediante una serie de preguntas que hacen referencia a la semana anterior a la realización del test. Se compone de 10 ítems (figura 16). El primero, valora la capacidad funcional de los pacientes a través de preguntas relacionadas con actividades diarias, contiene varios subítems (a-i), que se valora según la escala de Likert, con un rango de 0 (siempre) a 3 (nunca). El segundo y tercero de los ítems corresponden a escalas numéricas que hacen referencia a días de la semana: el segundo en una escala del 1 al 7, y el tercero del 1 a 5. El resto de los ítems se valora mediante Escalas Visuales Analógicas (EVA) de 0 a 10.

Para obtener la puntuación total, se deben sumar las puntuaciones individuales recodificadas y adaptadas. Si se han dejado preguntas sin contestar, estas se excluyen a la hora de hacer el cálculo de la puntuación, sumando las puntuaciones obtenidas y dividiéndolas por el número de preguntas contestadas. La puntuación del FIQ total ha de encontrarse entre 0-100 puesto que cada uno de los ítems tiene una puntuación de 0-10 una vez adaptado. De esta forma, una puntuación de 0 representa la capacidad funcional y la calidad de vida más alta y una puntuación de 100 el peor estado (Monterde S, et al. 2004).

INSTRUCCIONES: En las preguntas que van de la **a** a la **i**, por favor rodee con un círculo el número que mejor describan cómo se encontró en general durante la última semana. Si no tiene costumbre de realizar alguna de las siguientes actividades, tache la pregunta.

1. Ha sido usted capaz de:

	Siempre	La mayoría de las veces	En ocasiones	Nunca
a. Hacer la compra	0	1	2	3
b. Hacer la colada con lavadora	0	1	2	3
c. Preparar la comida	0	1	2	3
d. Lavar los platos y los cacharros de la cocina a mano	0	1	2	3
e. Pasar la fregona, la mopa o la aspiradora	0	1	2	3
f. Hacer las camas	0	1	2	3
g. Caminar varias manzanas	0	1	2	3
h. Visitar a amigos / parientes	0	1	2	3
i. Utilizar transporte público	0	1	2	3

2. ¿Cuántos días de la última semana se sintió bien?
0 1 2 3 4 5 6 7

3. ¿Cuántos días de la última semana faltó usted al trabajo por causa de su fibromialgia? (Si no trabaja usted fuera de casa, deje esta pregunta en blanco)
0 1 2 3 4 5

(En las siguientes preguntas, ponga una marca como esta en el punto de la línea que mejor indique cómo se sintió en general durante la última semana)

4. Cuando fue a trabajar, ¿cuánta dificultad le causaron el dolor u otros síntomas de su fibromialgia en el desempeño de su trabajo?
Sin Mucha
problema dificultad

5. ¿Cómo ha sido de fuerte el dolor?
Sin Dolor
dolor muy fuerte

6. ¿Cómo se ha encontrado de cansada?
Nada Muy
cansada cansada

7. ¿Cómo se ha sentido al levantarse por las mañanas?
Bien. Muy cansada

8. ¿Cómo se ha notado de rígida o agarrotada?
Nada Muy
rígida rígida

9. ¿Cómo se ha notado de nerviosa, tensa o angustiada?
Nada Muy
nerviosa nerviosa

10. ¿Cómo se ha sentido de deprimida o triste?
Nada Muy
deprimida deprimida

Figura 16. Cuestionario sobre la capacidad funcional de la FM. Versión en español.

3.3.2.2. Cuestionario sobre Calidad de Vida (CV).

La calidad de vida es un término descriptivo que hace referencia al bienestar emocional, social y físico de la población y a su capacidad funcional en la actividad diaria (Ferrer., 2002).

El CCV, consta de 41 ítems, (figura 17) con una puntuación que va de 0 (ausente), 1 (leve /ocasional), 2 (moderado), 3 (muy grave/ interfiere la vida diaria).

La sumatoria de las puntuaciones de estos 41 ítems, se recogen en el valor de EVA que va de 0-159: afectación leve (0-53), afectación moderada (53-106) y afectación grave (106-159).

Visión borrosa/problemas para enfocar		Debilidad muscular	
Ojos secos		Cansancio (fatiga)	
Silbidos en los oídos		Depresión	
Dificultades para oír		Insomnio	
Llagas en la boca		Nerviosismo (ansiedad)	
Boca seca		Ataque/convulsiones	
Pérdida o cambio en el sabor		Problemas para pensar/recordar	
Dolor de cabeza		Equimosis	
Mareos		Urticaria o ronchas	
Fiebre		Picores	
Dolor de pecho		Erupciones	
Falta de aire		Pérdida de pelo	
Sibilancias		Los dedos se vuelven azules	
Pérdida de apetito		Reacción de la piel ante el sol	
Náuseas		Entumecimiento/hormigueo	
Acidez de estómago		Hinchazón de manos/pies/tobillos	
Indigestión /hinchazón de barriga		Colon irritable	
Dolor o malestar en el estómago		Debilidad	
Enfermedad hepática/biliar		Orina frecuentemente	
Dolor/Calambres en el colón		Dolor al orinar	
Diarrea		Dolor/Malestar en la vejiga	
Estreñimiento		Sensibilidad ante la luz/ruidos/olores	
Vómitos		Fatiga	
Hinchazón articular		Nódulos sensibles/dolores garganta	
Dolores articulares		Alteraciones menstruales	
Dolor lumbar			
Dolor muscular			
Dolor de cuello			

Figura 17. Cuestionario Calidad de Vida.

Puntuación: 0. Ausente.

1. Leve/Ocasional
2. Moderado
3. Muy grave/Interfiere la vida diaria.

3.3.2.3. Cuestionario del dolor de McGill (MPQ).

El MPQ fue desarrollado por Melzack en 1975, (R Melzack., 1975). Hoy en día es el instrumento de evaluación de dolor de mayor difusión. Se utiliza para la evaluación de aspectos cuantitativos y cualitativos del dolor, como pueden ser: localización, cualidad, propiedades temporales e intensidad.

El MPQ consta de 20 subclases de descriptores verbales de dolor que miden las dimensiones (categorías) sensorial, afectiva y evaluativa y permite obtener un índice que mide la intensidad del dolor en su conjunto (figura 18).

A pesar de su popularidad internacional (se ha traducido a 15 idiomas diferentes, incluidos el castellano), el cuestionario MPQ presenta algunas limitaciones psicométricas importantes que afectan su validez.

Está compuesto por varias partes bien diferenciadas (Lázaro C, et al., 1994):

1. Localización del dolor. Se suele representar con una figura del cuerpo humano, donde el paciente debe señalar las zonas en las que siente dolor.
2. Cualidad del dolor. El paciente tiene que escoger entre una lista de tipos de dolor muy amplia, las características que definan el dolor que presenta. Se agrupan en ciertas categorías que forman cuatro amplios grupos: sensorial, emocional, valorativo y miscelánea (la versión española consta de 66 palabras).
3. Intensidad del dolor en el momento actual: consta de una pregunta con 5 posibles categorías de respuesta.
4. Valoración del dolor en el momento actual mediante una escala analógica visual, que va desde “sin dolor” a “dolor insoportable”

Se pueden obtener distintos resultados:

1. Índice de valoración del dolor (PRI del inglés “*Pain Rating Index*”): total y para cada una de las cuatro áreas. La puntuación se calcula sumando la de cada grupo de palabras que forman cada categoría. Así, la puntuación del PRI Sensorial (PRI-S), se obtiene sumando los puntos de los grupos: temporal I, temporal II,

localización I, localización II, punción, incisión, constricción, tracción, térmico I, térmico II, sensibilidad táctil y consistencia. La de PRI Emocional (PRI-E), sumando los puntos de tensión emocional, signos vegetativos y miedo. La de PRI Valorativa (PRI-V), sumando los puntos de la categoría valorativa. Y la de PRI Miscelánea (PRI-M), sumando los puntos de Miscelánea sensorial I, II y III. Por tanto, la PRI TOTAL se obtiene sumando los puntos de todos los apartados anteriores. La versión Española asigna los valores a cada posible respuesta de forma correlativa (1-2-3-....) ya que las características del dolor se presentan con intensidad creciente.

2. Número de palabras elegido (NWC, del inglés *"Number of Word Chosen"*)
3. Índice de intensidad de dolor (PPI, del inglés *"Present Pain Index"*)
4. Intensidad del dolor según escala analógica visual

Aunque el cuestionario es autoadministrado, se obtiene un mayor rendimiento cuando las instrucciones y el cuestionario son leídos por el entrevistador, permitiéndose la aclaración de aquellos términos que resulten difíciles de comprender para el paciente.

Existe una forma abreviada del cuestionario, con un menor número de palabras (15 en lugar de 78 en su versión inglesa). En este caso cada grupo se valora mediante una escala de intensidad creciente de 4 puntos (0 a 3).

Indique sus sentimientos y sensaciones en el momento actual.

<p>Temporal I:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> A golpes <input type="radio"/> Continuo <p>Temporal II:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Periódico <input type="radio"/> Repetitivo <input type="radio"/> Insistente <input type="radio"/> Intermitente <p>Localización I:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Impreciso <input type="radio"/> Bien delimitado <input type="radio"/> Extenso <p>Localización II:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Repartido <input type="radio"/> Propagado <p>Punción:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Como un pinchazo <input type="radio"/> Como agujas <input type="radio"/> Como un clavo <input type="radio"/> Punzante <input type="radio"/> Perforante <p>Incisión:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Como si cortase <input type="radio"/> Como una cuchilla <p>Constricción:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Como un pellizco <input type="radio"/> Como si apretara <input type="radio"/> Como agarrotado <input type="radio"/> Opresivo <input type="radio"/> Como si exprimiera 	<p>Tracción:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Tirantez <input type="radio"/> Como un tirón <input type="radio"/> Como si estirara <input type="radio"/> Como si arrancara <input type="radio"/> Como si desgarrara <p>Térmico I:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Calor <input type="radio"/> Como si quemara <input type="radio"/> Abrasador <input type="radio"/> Como hierro candente <p>Térmico II:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Frialdad <input type="radio"/> Helado. <p>Sensibilidad Táctil:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Como si rozara <input type="radio"/> Como un hormigueo <input type="radio"/> Como si arañara <input type="radio"/> Como si raspara <input type="radio"/> Como un escozor <input type="radio"/> Como un picor <p>Consistencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Pesadez <p>Miscelánea Sensorial I:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Como hinchado <input type="radio"/> Como un peso <input type="radio"/> Como un flato <input type="radio"/> Como espasmos 	<p>Miscelánea Sensorial II:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Como latidos <input type="radio"/> Concentrado <input type="radio"/> Como si pasara corriente <input type="radio"/> Calambrazos <p>Miscelánea Sensorial III:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Seco. <input type="radio"/> Como martillazos <input type="radio"/> Agudo <input type="radio"/> Como si fuera a explotar <p>Tensión Emocional:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Fastidioso <input type="radio"/> Preocupante <input type="radio"/> Angustiante <input type="radio"/> Exasperante <input type="radio"/> Que amarga la vida <p>Signos Vegetativos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Nauseante <p>Miedo:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Que asusta <input type="radio"/> Temible <input type="radio"/> Aterrador <p>Categoría Valorativa:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Débil <input type="radio"/> Soportable <input type="radio"/> Intenso <input type="radio"/> Terriblemente molesto
---	--	---

Indique la expresión que mejor refleja la intensidad del dolor, en su conjunto, en el momento actual.

- Leve, débil, ligero
- Moderado, molesto, incómodo
- Fuerte
- Extenuante, exasperante
- Insoportable

Indique cuánto dolor tiene actualmente con un número del 0 al 4. (0=sin dolor, 4= dolor insoportable)

PRI-S PRI-E PRI-V PRI-M PRI-TOTAL

Figura 18. Cuestionario del dolor Mc Gill.

PRI-S , Índice de Valoración del Dolor Sensorial; PRI-E, Índice de Valoración del Dolor Emocional ; PRI-V, Índice de Valoración del Dolor Valorativa; PRI-M, Índice de Valoración del Dolor Miscelánea; PRI TOTAL, Índice de Valoración del Dolor Total

3.3.2.4. Índice de dolor generalizado (WPI) e Índice de gravedad de síntomas (SSS).

El test WPI evalúa la expansión del dolor corporal y comprende 19 áreas del cuerpo. El paciente debe señalar dónde ha tenido dolor durante la última semana. Se calcula la puntuación sumando un punto por cada área dolorosa (puntuación de 0-19) (figura 19) (S. Moyano et al., 2015).

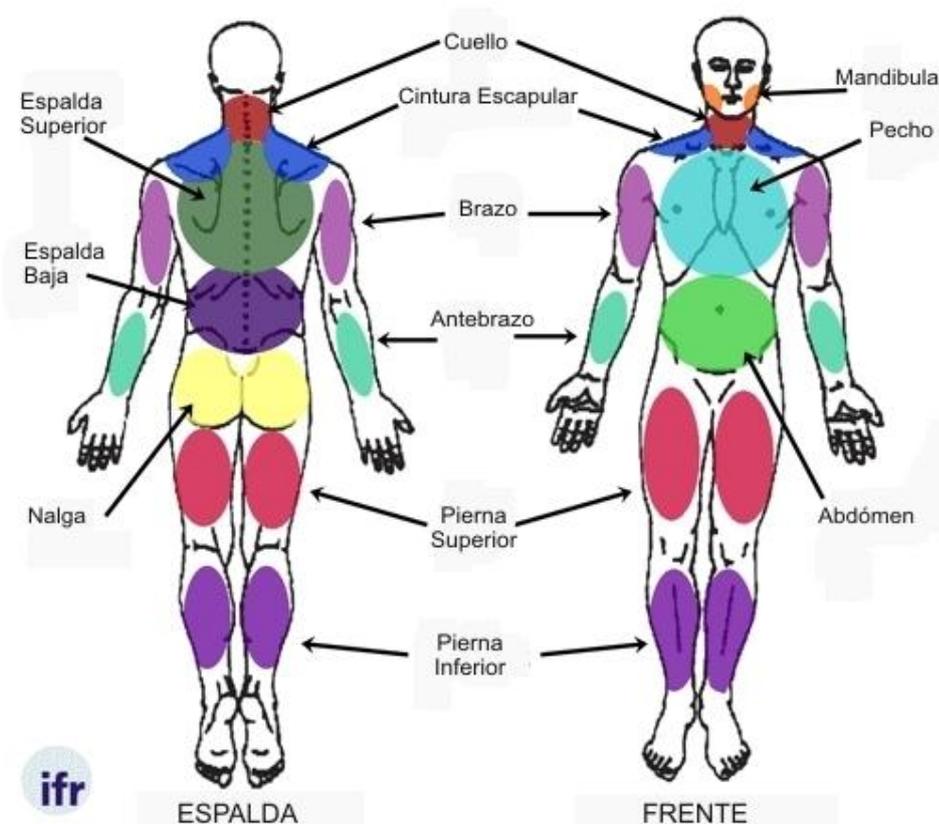


Figura 19. Puntos dolorosos en la FM.

El paciente debe poner una cruz sobre cada área en la que ha sentido dolor durante la semana pasada, teniendo en cuenta que no debe incluir dolores producidos por otras enfermedades que padezca (artritis, lupus, artrosis, tendinitis, etc.) (figura 19).

Se cuenta el número de áreas que ha marcado y se anota _____

El valor WPI debe estar entre 0 y 19.

	Cintura escapular izquierda		Pierna inferior izquierda
	Cintura escapular derecha		Pierna inferior izquierda
	Brazo superior izquierdo		Mandíbula izquierda
	Brazo superior derecho		Mandíbula derecha.
	Brazo inferior izquierdo		Pecho (Tórax)
	Brazo inferior derecho		Abdomen
	Nalga izquierda		Cuello
	Nalga derecha		Espalda Superior
	Pierna superior izquierda		Espalda Inferior
	Pierna superior izquierda		

Figura 20. Áreas donde se puede producir dolor para obtener el valor de WPI.

El SSS se determinó teniendo en cuenta los siguientes síntomas: fatiga, sueño no reparador, manifestaciones cognitivas y síntomas somáticos. A cada uno de los síntomas se le asignó una puntuación de 0 a 3, de acuerdo a la gravedad (en el caso de los 3 primeros) o a la cantidad (en el caso de los síntomas somáticos) (S. Moyano et al., 2015) (figura 21)

SS -parte 1

Indique la gravedad de sus síntomas durante la pasada semana, utilizando las siguientes escalas que se puntúan del 0 (leve) al 3 (grave).

1. Fatiga	
	0=No ha sido un problema
	1=Leve, ocasional
	2=Moderada, presente casi siempre
	3=Grave, persistente, he tenido grandes problemas.

2. Sueño no reparador	
	0=No ha sido un problema
	1=Leve, ocasional
	2=Moderada, presente casi siempre
	3=Grave, persistente, he tenido grandes problemas.

3. Trastornos Cognitivos	
	0=No ha sido un problema
	1=Leve, ocasional
	2=Moderada, presente casi siempre
	3=Grave, persistente, he tenido grandes problemas.

Sume el valor de todas las casillas marcadas y anótelo aquí: _____

El valor SS-parte 1 debe estar entre 0 y 9.

Figura 21. Puntaje de acuerdo a la gravedad o cantidad de los síntomas fatiga, sueño no reparador y trastornos cognitivos según escala SS-parte 1

SS -parte 2.

Dolor muscular	Sibilancias (pitidos al respirar)
Síndrome de Colon irritable	Fenómeno de Raynaud.
Cansancio (fatiga)	Urticaria o ronchas
Problemas para pensar/recordar	Zumbidos en los oídos
Debilidad muscular	Vómitos
Dolor de cabeza	Acidez de estomago
Dolor/Calambres en el abdomen	Aftas orales (úlceras)
Entumecimiento/hormigueo	Pérdida o cambios en el gusto
Mareos	Convulsiones
Insomnio	Ojos secos
Depresión	Respiración entrecortada
Estreñimiento	Pérdida de apetito
Dolor en la parte alta del abdomen	Erupciones/Rash
Náuseas	Intolerancia al sol.
Nerviosismo (ansiedad)	Trastornos auditivos
Dolor de Pecho	Moretones frecuentes (Hematomas)
Visión borrosa/problemas para enfocar	Caída del cabello
Diarrea	Micción frecuente
Boca seca	Dolor al orinar
Picores	Espasmos vesicales

Cuente el número de síntomas marcados, y anótelos aquí: _____

Si tiene 0 síntomas, su puntuación es 0

Entre 1 y 10, su puntuación es 1

Entre 11 y 24, su puntuación es 2

25 o más, su puntuación es 3

Anote aquí su puntuación de la SS-Parte 2 (entre 0-3): _____

Suma de puntuaciones SS-parte1 + SS-parte 2=_____

Compruebe que la puntuación se encuentra entre 0 y 12.

Figura 22. Puntaje según el número de síntomas de la escala SS-parte 2

3.3.2.5. Escala HAMILTON para evaluar el grado de Depresión (HDRS).

La escala Hamilton para la evaluación de la depresión es una escala heteroaplicada, diseñada para aplicarse a pacientes previamente diagnosticados de depresión, y evalúa cuantitativamente la gravedad de los síntomas, y los cambios del paciente deprimido. La información se obtiene en una entrevista clínica y se puede aceptar información complementaria de otras fuentes secundarias.

La versión original consta de 21 ítems, (Hamilton, M., 1960), y la versión reducida 17 ítems (figura 23, 24 y 25). La versión reducida es la recomendada por el Instituto Nacional de Salud Mental de los Estados Unidos (Hamilton, M., 1967). La validación de la versión castellana de esta escala se realizó en 1986 por Ramos-Brieva (Ramos-Brieva, J.C, A, 1986).

Ha sido comprobada su validez discriminante, fiabilidad y sensibilidad al cambio en pacientes hospitalizados (Ramos-Brieva, J.C., 1988) y en pacientes ambulatorios (Bobes, J.B., et al., 2003).

Cada pregunta tiene entre tres y cinco respuestas posibles, con una puntuación que va de 0-2 o de 0-4 respectivamente. La puntuación total va de 0 a 52. Para clasificar el cuadro depresivo se pueden utilizar diferentes puntos de corte. La Guía de Práctica Clínica elaborada por el NICE (Depression: management of depression in primary and secondary care- NICE guidance 2004), recomienda emplear los siguientes puntos de corte:

- No deprimido: 0-7
- Depresión ligera/menor: 8-13
- Depresión moderada: 14-18
- Depresión severa: 19-22
- Depresión muy severa: >23

Humor depresivo (tristeza, desesperanza, desamparo, sentimiento de inutilidad)	
-Ausente	0
- Estas sensaciones las expresa solamente si le preguntan cómo se siente	1
- Estas sensaciones las relata espontáneamente	2
- Sensaciones no comunicadas verbalmente (expresión facial, postura, voz, tendencia al llanto)	3
- Manifiesta estas sensaciones en su comunicación verbal y no verbal en forma espontánea	4
Sentimientos de culpa	
-Ausente	0
- Se culpa a si mismo, cree haber decepcionado a la gente	1
- Tiene ideas de culpabilidad o medita sobre errores pasados o malas acciones	2
- Siente que la enfermedad actual es un castigo	3
- Oye voces acusatorias o de denuncia y/o experimenta alucinaciones visuales de amenaza	4
Suicidio	
-Ausente	0
- Le parece que la vida no vale la pena ser vivida	1
- Desearía estar muerto o tiene pensamientos sobre la posibilidad de morir	2
- Ideas de suicidio o amenazas	3
- Intentos de suicidio (cualquier intento serio)	4
Insomnio precoz	
-No tiene dificultad	0
- Dificultad ocasional para dormir, por ej. más de media hora el conciliar el sueño	1
- Dificultad para dormir cada noche	2
Insomnio intermedio	
-No hay dificultad	0
- Esta desvelado e inquieto o se despierta varias veces durante la noche	1
- Esta despierto durante la noche, cualquier ocasión de levantarse de la cama se clasifica en 2 (excepto por motivos de evacuar)	2
Insomnio tardío	
-No hay dificultad	0
- Se despierta a primeras horas de la madrugada, pero se vuelve a dormir	1
- No puede volver a dormirse si se levanta de la cama	2

Figura 23. Escala Hamilton para evaluar el grado de depresión, versión reducida 17 ítems (parte 1).

Trabajo y actividades	
-No hay dificultad	0
- Ideas y sentimientos de incapacidad, fatiga o debilidad (trabajos, pasatiempos)	1
- Pérdida de interés en su actividad (disminución de la atención, indecisión y vacilación)	2
- Disminución del tiempo actual dedicado a actividades o disminución de la productividad	3
- Dejó de trabajar por la presente enfermedad. Solo se compromete en las pequeñas tareas, o no puede realizar estas sin ayuda	4
Inhibición psicomotora (lentitud de pensamiento y lenguaje, facultad de concentración disminuida, disminución de la actividad motora)	
-Palabra y pensamiento normales	0
- Ligero retraso en el habla	1
- Evidente retraso en el habla	2
- Dificultad para expresarse	3
- Incapacidad para expresarse	4
Agitación psicomotora	
-Ninguna	0
- Juega con sus dedos	1
- Juega con sus manos, cabello, etc.	2
- No puede quedarse quieto ni permanecer sentado	3
- Retuerce las manos, se muerde las uñas, se tira de los cabellos, se muerde los labios	4
Ansiedad psíquica	
-No hay dificultad	0
- Tensión subjetiva e irritabilidad	1
- Preocupación por pequeñas cosas	2
- Actitud aprensiva en la expresión o en el habla	3
- Expresa sus temores sin que le pregunten	4
Ansiedad somática (signos físicos de ansiedad: gastrointestinales: sequedad de boca, diarrea, eructos, indigestión, etc; cardiovasculares: palpitaciones, cefaleas; respiratorios: hiperventilación, suspiros; frecuencia de micción incrementada; transpiración)	
-Ausente	0
- Ligera	1
- Moderada	2
-Severa	3
-Incapacitante.	4

Figura 24. Escala Hamilton para evaluar el grado de depresión versión reducirá 17 ítems (parte 2).

Síntomas somáticos gastrointestinales	
-Ninguno	0
- Pérdida del apetito pero come sin necesidad de que lo estimulen. Sensación de pesadez en el abdomen	1
- Dificultad en comer si no se le insiste. Solicita laxantes o medicación intestinal para sus síntomas gastrointestinales	2
Síntomas somáticos generales	
-Ninguno	0
- Pesadez en las extremidades, espalda o cabeza. Dorsalgias. Cefaleas, algias musculares.	1
-Pérdida de energía y fatigabilidad. Cualquier síntoma bien definido se clasifica en 2	2
Síntomas genitales (tales como: disminución de la libido y trastornos menstruales)	
-Ausente	0
- Débil	1
- Grave	2
Hipocondría	
-Ausente	0
- Preocupado de si mismo (corporalmente)	1
- Preocupado por su salud	2
-Se lamenta constantemente, solicita ayuda	3
Pérdida de peso	
-Pérdida de peso inferior a 500 gr. en una semana	0
- Pérdida de más de 500 gr. en una semana	1
- Pérdida de más de 1 Kg. en una semana	2
Introspección (insight)	
-Se da cuenta que está deprimido y enfermo	0
- Se da cuenta de su enfermedad pero atribuye la causa a la mala alimentación, clima, exceso de trabajo, virus, necesidad de descanso, etc.	1
	2

Figura 25. Escala Hamilton para evaluar el grado de depresión, versión reducida 17 ítems (parte 3).

3.3.2.6. Test HAMILTON para evaluar el grado de la ansiedad (HARS).

Es una escala heteroadministrada con 14 ítems, que evalúa el grado de ansiedad que presenta el paciente. Se aplica mediante una entrevista semiestructurada, en la que un entrevistador entrenado evalúa la gravedad de los síntomas usando una escala de cinco puntos: 0. Ausencia del síntoma; 1. Leve prevalencia del síntoma; 2. Moderada prevalencia del síntoma; 3. Severa prevalencia del síntoma; 4. Muy severa prevalencia del síntoma (incapacitante) (Lobo A., et al 2002). (Figura 26).

La puntuación total se obtiene de la suma de las puntuaciones parciales de los 14 ítems, puede oscilar en un rango de 0 puntos (ausencia de ansiedad) a 56 (máximo grado de ansiedad). Los resultados de la evaluación pueden ser interpretados de la siguiente manera: una puntuación de 17 o menos indica ansiedad leve, una puntuación entre 18 y 24 indica ansiedad de leve a moderada, y una puntuación de 24 a 30 indica ansiedad de moderada a severa.

En su versión original, la escala ha demostrado poseer unas buenas propiedades psicométricas (Hamilton M., 1959), y es muy utilizada en la evaluación clínica del trastorno de ansiedad. (Ballenger JC., 1999).

Definición operativa de los ítems	Puntos				
	0	1	2	3	4
1. <i>Humor ansioso</i> (inquietud, espera de lo peor, aprensión, anticipación temerosa, irritabilidad).	0	1	2	3	4
2. <i>Tensión</i> (sensación de tensión, fatigabilidad, imposibilidad de relajarse, llanto fácil, temblor, sensación de no poder quedarse en un lugar).	0	1	2	3	4
3. <i>Miedos</i> (a la oscuridad, a la gente desconocida, a quedarse solo, a los animales grandes, a las multitudes, etc.)	0	1	2	3	4
4. <i>Insomnio</i> (dificultad para conciliar el sueño, sueño interrumpido, sueño no satisfactorio con cansancio al despertar, malos sueños, pesadillas, terrores nocturnos)	0	1	2	3	4
5. <i>Funciones intelectuales</i> (dificultad de concentración, mala memoria)	0	1	2	3	4
6. <i>Humor deprimido</i> (falta de interés, no disfruta con sus pasatiempos, depresión, despertar precoz, variaciones del humor a lo largo del día)	0	1	2	3	4
7. <i>Síntomas somáticos generales (musculares)</i> (dolores y molestias musculares, rigidez muscular, sacudidas clónicas, rechinar de dientes, voz poco firme o insegura)	0	1	2	3	4
8. <i>Síntomas somáticos generales (sensoriales)</i> (zumbidos de oídos, visión borrosa, sofocos o escalofríos, sensación de debilidad, sensación de hormigueo)	0	1	2	3	4
9. <i>Síntomas cardiovasculares</i> (taquicardia, palpitaciones, dolores en el pecho, latidos vasculares, extrasístoles)	0	1	2	3	4
10. <i>Síntomas respiratorios</i> (peso en el pecho o sensación de opresión torácica, sensación de ahogo, suspiros, falta de aire)	0	1	2	3	4
11. <i>Síntomas gastrointestinales</i> (dificultad para tragar, meteorismo, dispepsia, dolor antes o después de comer, sensación de ardor, distensión abdominal, pirosis, náuseas, vómitos, sensación de estómago vacío, cólicos abdominales, borborigmos, diarrea, estreñimiento)	0	1	2	3	4
12. <i>Síntomas genitourinarios</i> (amenorrea, metrorragia, micciones frecuentes, urgencia de la micción, desarrollo de frigidez, eyaculación precoz, impotencia)	0	1	2	3	4
13. <i>Síntomas del sistema nervioso autónomo</i> (sequedad de boca, enrojecimiento, palidez, sudoración excesiva, vértigos, cefaleas de tensión, piloerección)	0	1	2	3	4
14. <i>Comportamiento durante la entrevista</i> – General: el sujeto se muestra tenso, incómodo, agitación nerviosa de las manos, se frota los dedos, aprieta los puños, inestabilidad, postura cambiante, temblor de manos, ceño fruncido, facies tensa, aumento del tono muscular, respiración jadeante, palidez facial – Fisiológico: traga saliva, eructa, taquicardia de reposo, frecuencia respiratoria superior a 20 resp./min, reflejos tendinosos vivos, temblor, dilatación pupilar, exoftalmía, mioclonías palpebrales	0	1	2	3	4

Figura 26. Escala de Hamilton para la ansiedad.

3.3.2.7. Cuestionario de Oviedo del Sueño (COS)

El COS es un cuestionario heteroadministrado, de ayuda en el diagnóstico de los trastornos del sueño tipo insomnio e hipersomnio según los criterios DSM-IV y CIE-10. Este cuestionario también puede ser autoadministrado debido a su sencillez y fácil aplicabilidad. Lo conforman 15 ítems, de los cuales 13 se agrupan en subescalas diagnósticas: satisfacción subjetiva del sueño (1 ítem), insomnio (9 ítems) e hipersomnio (3 ítems). Además, la subescala de insomnio examina varias dimensiones: latencia del sueño, duración, eficiencia y disfunción diurna, proporcionando información sobre la gravedad del mismo. Para proporcionar información sobre la necesidad del uso de ayuda de cualquier tipo para dormir o la presencia de fenómenos adversos durante el sueño (parasomnias, ronquidos), se usan los dos ítems restantes (J. Babes, et al., 1998, María Teresa Bascarán-Fernández., 2000).

Todos los ítems se responden mediante una escala tipo Likert (el primer ítem consta de 7 opciones de respuesta y el resto de 5), una respuesta de 5 (en el caso del ítem 1 sería el 7) es indicativa del máximo deterioro y una respuesta de 1 del mínimo deterioro. Es capaz de orientar al clínico sobre diferentes dimensiones del insomnio y su gravedad.

La puntuación de la subescala de satisfacción subjetiva del sueño oscila entre 1 y 7 puntos, la del insomnio entre 9 y 45 puntos, y la del hipersomnio oscila entre 3 y 15 puntos.

Durante el último mes					
COS-1. ¿Cómo de satisfecho ha estado con su sueño?					
1 muy insatisfecho	2 bastante insatisfecho	3 insatisfecho			
4 término medio	5 satisfecho	6 bastante satisfecho			
7 muy satisfecho					
COS-2. ¿Cuántos días a la semana ha tenido dificultades para ...					
	Ninguno	2 d/s	3 d/s	74-5d/s	6-7 d/s
COS-21. Conciliar el sueño	1	2	3	4	5
COS-22. Permanecer dormido	1	2	3	4	5
COS-23. Lograr un sueño reparador	1	2	3	4	5
COS-24. Despertar a la hora habitual	1	2	3	4	5
COS-25. Excesiva somnolencia	1	2	3	4	5
COS-3. ¿Cuánto tiempo ha tardado en dormirse, una vez que lo intentaba?					
1 0-15 minutos	2 16-30 minutos	3 31-45 minutos			
4 46-60 minutos	5 más de 60 minutos				
COS-4. ¿Cuántas veces se ha despertado por la noche?					
1 Ninguna vez	2 1 vez	3 2 veces			
4 3 veces	5 más de 3 veces				
Si normalmente se despertó, usted piensa que se debe a...					
Dolor	Necesidad de orinar	Ruido			
Otros. Especificar: _____					
COS-5. ¿Ha notado que se despertaba antes de lo habitual? En caso afirmativo, ¿cuánto tiempo antes?					
1 Se ha despertado como siempre	2 media hora antes				
3 1 hora antes	4 entre 1 y 2 horas antes				
5 más de 2 horas antes					
COS-6. Eficiencia del sueño (horas dormidas/horas en cama)					
Por término medio, ¿cuántas horas ha dormido cada noche? _____					
¿Cuántas horas ha permanecido habitualmente en la cama? _____					
1 91-100%	2 81-90%	3 71-80%			
4 61-70%	5 60 % o menos				
COS-7. ¿Cuántos días a la semana ha estado preocupado/a o ha notado cansancio o disminución en su funcionamiento sociolaboral por no haber dormido bien la noche anterior?					
1 Ningún día	2 1-2 d/s	3 3 d/s			
4 4-5 d/s	5 6-7 d/s				
COS-8. ¿Cuántos días a la semana se ha sentido demasiado somnoliento/a, llegando a dormirse durante el día o durmiendo más de lo habitual por la noche?					
1 Ningún día	2 1-2 d/s	3 3 d/s			
4 4-5 d/s	5 6-7 d/s				
COS-9. Si se ha sentido con demasiado sueño durante el día o ha tenido períodos de sueño diurno, ¿cuántos días a la semana ha estado preocupado/a o ha notado disminución en su funcionamiento sociolaboral por ese motivo?					
1 Ningún día	2 1-2 d/s	3 3 d/s			
4 4-5 d/s	5 6-7 d/s				
COS-10. ¿Cuántos días a la semana ha tenido (o e han dicho que ha tenido) ...					
	Ninguno	2 d/s	3 d/s	74-5d/s	6-7 d/s
COS-101. Ronquidos	1	2	3	4	5
COS-102. Ronquidos con ahogo	1	2	3	4	5
COS-103. Movimientos de las piernas	1	2	3	4	5
COS-104. Pesadillas	1	2	3	4	5
COS-105. Otros	1	2	3	4	5
COS-11. ¿Cuántos días a la semana ha tomado fármacos o utilizado cualquier otro remedio (infusiones, aparatos, etc.), prescrito o no, para ayudarse a dormir?					
1 Ningún día	2 1-2 d/s	3 3 d/s			
4 4-5 d/s	5 6-7 d/s				
Si ha utilizado alguna ayuda para dormir (pastillas, hierbas, aparatos, etc.), describir: _____					

Figura 27. Cuestionario Oviedo de Calidad del Sueño .

3.3.2.8. Escala de Impresión Clínica Global (CGI)

La escala CGI fue diseñada por W, Guy en 1976 (Guy, W., 1976). Está constituida por dos subescalas (figura 28):

1. Gravedad del cuadro clínico (CGI-SI), usa un único ítem en una escala de Likert que consta de 8 valores que van desde 0 (no evaluado), hasta 7 (extremadamente enfermo).
2. Mejoría global (CGI-GI), debida a intervenciones terapéuticas. También utiliza un único ítem en una escala de Likert de 8 valores que van desde 0 (no evaluado) hasta 7 (mucho peor). También existen otras versiones en la que la escala es de 5 valores.

Existen versiones auto y heteroaplicadas.

<p>Gravedad de la enfermedad (CGI-SI).</p> <p>Basándose en su experiencia clínica, ¿cuál es la gravedad de la enfermedad en el momento actual?</p> <p>0. No evaluado 1. Normal, no enfermo 2. Dudosamente enfermo 3. Levemente enfermo 4. Moderadamente enfermo 5. Marcadamente enfermo 6. Gravemente enfermo 7. Entre los pacientes más extremadamente enfermos</p>
<p>Mejoría global (CGI-GI).</p> <p>Comparado con el estado inicial, ¿cómo se encuentra el paciente en estos momentos? (Puntúe la mejoría total independientemente de que a su juicio se deba o no por completo al tratamiento)</p> <p>0. No evaluado 1. Mucho mejor 2. Moderadamente mejor 3. Levemente mejor 4. Sin cambios 5. Levemente peor 6. Moderadamente peor 7. Mucho peor</p>

Figura 28. Escala de Impresión Clínica Global.

3.3.3. Variables experimentales.

En el presente trabajo se han determinado las siguientes variables experimentales:

- ACS anti-serotonina, ACS anti-gangliosidos y otros autoACS determinados en suero.
- Niveles séricos de citocinas pro-inflamatorias: IL-1- , IL-6, IL-8, IL-17, IFN- , TNF- , y de citocinas anti-inflamatorias: IL-4, TGF- , IL-10.
- Polimorfismo genético de citocinas: IL-1 , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IFN- , TNF- , TGF- .
- Polimorfismo de los genes HLA clase I y clase II.
- Polimorfismo de los genes KIR.
-

4. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Las muestras de sangre periférica de pacientes y controles se obtuvieron en condiciones de ayuno y fueron extraídas por punción venosa y recogidas en diversos tubos en función del estudio a realizar.

1. Tubo de extracción de sangre BD vacutainer seco de 5 ml (tapón rojo) (Beckton Dickinson, Mountain View CA, USA) para la obtención de suero, necesario para cuantificar citocinas y analizar la presencia o ausencia de los autoACS seleccionados para el estudio.
2. Tubos vacutainer anticoagulados con EDTA (tapón morado) (Beckton Dickinson, Mountain View CA, USA) para la posterior extracción de ADN genómico, necesario para llevar a cabo el estudio del polimorfismo genético de citoquinas y de los genes KIR y HLA-clase I.

Las muestras fueron clasificadas y procesadas en las dos horas siguientes a su extracción. Las muestras que no se procesaron el día de su extracción, se congelaron rápidamente en varias alícuotas y fueron guardadas a -80°C hasta el momento de su procesamiento.

Los tubos de EDTA se extrajeron en la primera visita a los pacientes y controles.

Los tubos secos se extrajeron en la primera visita a todos los pacientes y controles y en las revisiones y recaídas de la enfermedad.

Todas las muestras se registraron adecuadamente en una base de datos para facilitar su uso posterior.

4.1. Extracción y amplificación del ADN

Para la extracción de ADN se utilizó el kit QIAamp DNA Blood Midi (QUIAGEN, Hilden, Alemania, según instrucciones del fabricante. El ADN extraído se depositó en tubos Eppendorf de 1,5 ml (Eppendorf AG, Hamburgo, Alemania) que se guardaron a -80°C hasta el momento de su utilización.

5. METODOLOGÍA POR OBJETIVOS.

5.1 OBJETIVO 1: DETERMINACIÓN DE AUTOACS EN SUERO.

5.1.1 Determinación de ACS IgG e IgM anti- serotonina.

La determinación de ACS IgG e IgM anti-5-HT se realizó mediante ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, del inglés Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) según metodología descrita previamente (Reinhild Klein et al., 1992). Se utilizó como antígeno la 5-HT (5-hydroxytryptamine) de MP Biomedicals (LLC, CatNo153765. France) y ACS humanos anti-IgG y anti-IgM conjugados con peroxidasa para la detección de los ACS anti-5-HT IgG e IgM en el suero de los pacientes con FM y controles. Además, se utilizaron los siguientes reactivos para el ELISA: albúmina bovina, tampón carbonato-bicarbonato, OPD (o-Phenylenediamine dihydrochloride en pastillas. Sigma P8787) 4 mg sustrato por pastilla, tampón fosfato-citrato (Sigma C9999), H₂SO₄ (Sigma A9647), TritonX100 (Sigma T8787).

Las soluciones a preparar para la realización del ELISA fueron las siguientes:

1. Tampón Carbonato-Bicarbonato 0.2 M, PH 9.6
2. Solución de lavado 1: PBS+ 1% de albúmina. Mantener a 4°C.
3. Solución de lavado 2: PBS+ 0.5% de albúmina. + 0.1 % de TritonX100. Mantener a 4°C.
4. Tampón para sustrato. Tampón fosfato-citrato 0.05M pH 5.0
5. Solución de sustrato: Preparar inmediatamente antes de utilizar

- Disolver una pastilla de OPD 4mg en 10 ml de tampón sustrato
- Añadir 4µl de H₂O₂ al 30% por cada 10 ml de tampón sustrato

6. Solución STOP: H₂SO₄ al 25%.

Protocolo determinación de ACS anti-serotonina.

Este protocolo se basa en el método descrito previamente por Klein y colaboradores (Reinhild Klein et al., 1992). A continuación se describe brevemente el protocolo empleado:

- Diluir la serotonina en tampón bicarbonato 0.2M, pH 9.6 a una concentración de 10 mg/ml (concentración antigénica óptima de 5-HT para diluciones séricas de 1:500).
- Dispensar 100 µl por pocillo de la 5-HT diluida e incubar la placa microtitter (Maxisorp, NUNC. 10394751), toda la noche a 4°C.
- Lavar la placa tres veces con 300 µl por pocillo de solución de lavado 1.
- Dispensar 100 µl por pocillo de solución de lavado 1 como agente bloqueante durante e incubar 1 hora a temperatura ambiente.
- Diluir las muestras de suero 1:500 en PBS.
- Dispensar 100 µl por pocillo y por duplicado, estándares, controles y muestras e incubar la placa durante 90 minutos a temperatura ambiente.
- Tras la incubación de los sueros, lavar de nuevo la placa 3 veces con 300 µl por pocillo de tampón de lavado 2.
- Dispensar 100 µl por pocillo del anticuerpo conjugado anti-IgG o anti-IgM (Jackson ref. 109-035-098 y 109-035-043, respectivamente) a una dilución 1:3000 durante 1 hora a temperatura ambiente.

- Lavar tres veces con tampón de lavado 2.
- Preparar el sustrato para revelar la placa diluyendo el OPD en tampón citrato a una concentración de 0.5 mg/ml y añadiendo 33 µl de H₂O₂.
- Añadir a cada pocillo 100 µl de sustrato e incubar hasta que el suero control positivo alcance color.
- Parar la reacción con 100 µl de solución stop (ácido sulfúrico al 25%).
- Proceder a la lectura de la densidad óptica (DO) a 492 nm.

Con el fin de excluir resultados erróneos por uniones inespecíficas, paralelamente se incubaron los sueros de los pacientes en placas sin 5-HT y se realizó todo el proceso anterior.

Como sueros estándar de bajo, medio y alto título de ACS anti-5-HT se emplearon distintos sueros donados por la doctora Reinhild Klein, el Departamento de Medicina Interna de la universidad de Tübingen, Alemania. También se utilizaron controles negativos adicionales como sueros sin antígeno, ausencia de suero en pocillos con antígeno y sueros de pacientes con resultado negativo del laboratorio de referencia de Alemania y de controles sanos.

Los rangos de normalidad para los niveles de autoACS fueron determinados en una serie de donantes sanos. Se determinó la media y desviación estándar (DS) de la DO de los sueros de los pacientes, considerando aquellos con dos DS por encima de la media como casos *borderline* y los sueros con tres DS por encima de la media se definieron como positivos para la presencia de ACS anti-5-HT.

5.1.2 Determinación de ACS anti-Gangliósidos y otros ACS.

La determinación de los ACS anti-Gangliósidos se realizó con el KIT comercial Ganglioprofile DOTZEN que proporciona un análisis *in vitro* cualitativo de autoACS (IgG, IgM o Ig G+M) frente a diez gangliósidos específicos: GQ1b, GT1b, GT1a, GD3, GD1b, GD1a, GM3, GM2 y GM1.

Principio del test (figura 29)

- Las tiras de membrana recubiertas con los antígenos de gangliósidos purificados se utilizan como fase sólida.
- Las membranas se fijan sobre la lámina sintética.
- Durante el primer periodo de incubación, los autoACS específicos presentes en el suero diluido se adhieren a los antígenos acoplados a la fase sólida.
- Las tiras de filtro se lavan después para eliminar los ACS no enlazados y otros compuestos del suero.
- En un segundo periodo de incubación, un ACS anti-humano combinado con peroxidasa de rábano (HRP) se añade y reacciona con el ACS humano IgG o IgM inmovilizados en las tiras de filtro de la membrana.
- En un tercer paso, los ACS unidos se tiñen con una solución de cromógeno/sustrato que es capaz de promover una reacción de precipitación y cambio de color. Si la muestra de suero contiene el ACS específico, aparece una banda oscura intensa en la línea del antígeno correspondiente.

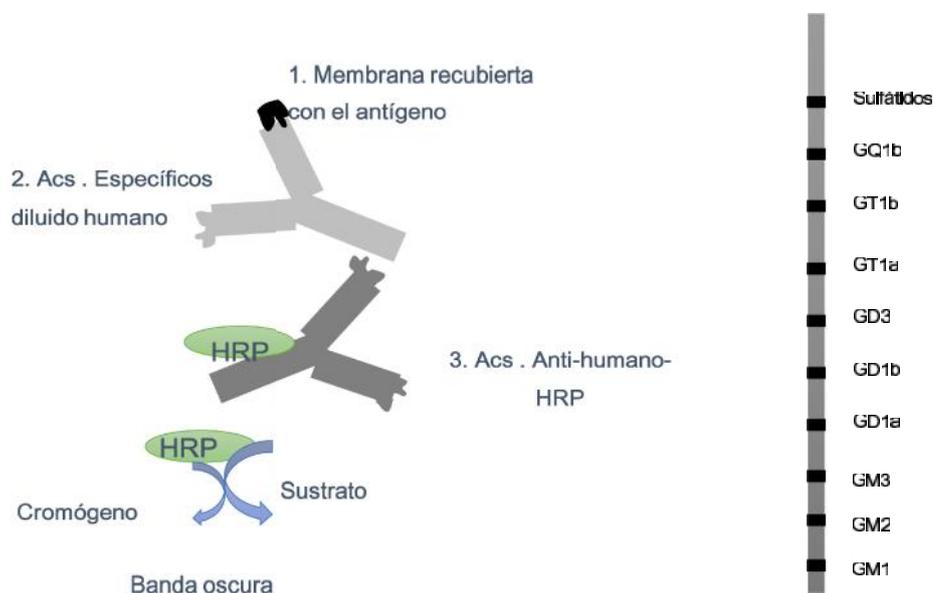


Figura 29. Test de determinación de anticuerpos anti-gangliósidos.

5.1.3. Determinación de los niveles de serotonina en suero.

La determinación de los niveles de 5-HT en suero se realizó mediante un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), sistema LC Agilent 1220 Infinity, que es un sistema isocrático con detección electroquímica. Se utilizó el kit Chromsystems, donde el calibrador y los controles de calidad, se producen a partir de matrices humanas puras para evitar las variabilidades de medición asociadas a la matriz. El método se realizó siguiendo las indicaciones del fabricante.

Preparación de la muestra de suero:

- Agitar en vórtex 100µl de suero + 100µl de estándar interno+100 µl de reactivo de precipitación en un vial de reacción durante 30 segundos.
- Incubar 10 minutos a una temperatura de +2 a +8 °C
- Centrifugar 10 minutos a 13000 r.p.m.
- Inyectar 20µl de sobrenadante en el sistema HPLC

Condiciones cromatográficas:

- Equipo: HPLC (sistema LC Agilent 1220 Infinity),
- Columna: la indicada por el fabricante
- Temperatura de la columna: Temperatura ambiente (25°C)
- Flujo: 1.0- 1.2 mL/min.
- Potencial: aproximadamente 400 a 500mV.
- Volumen de inyección: 20 µL.
- Fase móvil: A.- la indicada por el fabricante.
B.- la indicada por el fabricante.

5.2 OBJETIVO 2: DETERMINACIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE CITOQUINAS PRO- Y ANTI-INFLAMATORIAS Y POLIMORFISMO DE CITOQUINAS.

5.2.1 Cuantificación sérica de citoquinas pro- y anti-inflamatorias por Luminex.

La determinación de citoquinas pro-inflamatorias: IL-1, IL-6, IL-8, IL-17 IFN y TNF , y citoquinas anti-inflamatorias: IL-4 y IL10. se realizó empleando el KIT Human High Sensivity T Cell Magnetic Bead Panel (MILLIPLEX Map, MERCK) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las placas se leyeron en el equipo Luminex® 200™, utilizando el software xPONENT®.

La metodología empleada se detalla a continuación:

Preparación de los estándares:

- Reconstituir el vial de estándares con 250 μ l de MXHSM-7.
- Invertir el vial varias veces para mezclar y vortear durante 10 segundos.
- Dejar reposar el vial durante 5-10 minutos (Vial Stock estándar).
- Rotular 7 tubos de polipropileno como ST-7, ST-6, ST-5, ST-4, ST-3, ST-2 y ST-1.
- Añadir 150 μ l de MXHSM-7 a cada uno de los 7 tubos.
- Preparar una dilución seriada, añadiendo 50 μ l del vial stock estándar al tubo ST-7, mezclar bien y añadir 50 μ l del ST-7 al ST-6, y así sucesivamente. Rotular un último tubo ST-0 y añadir 150 μ l de MXHSM-7 (blanco) (figura 30).

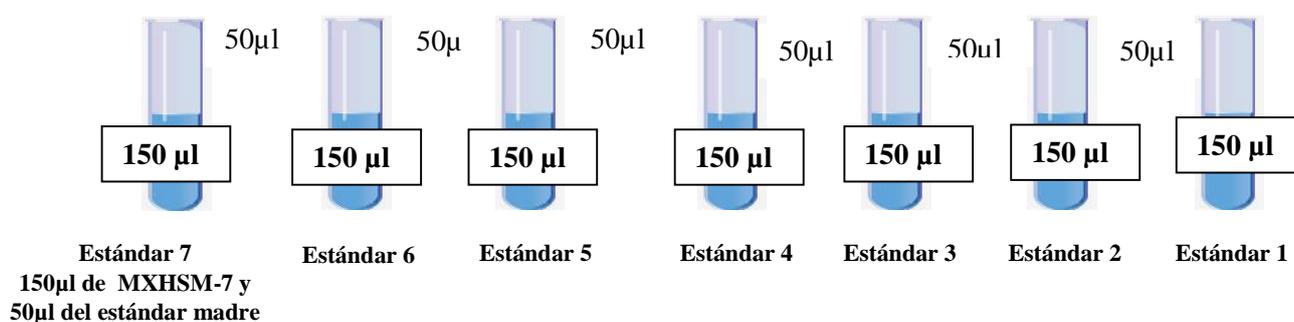


Figura 30. Preparación de los estándares para la cuantificación de citoquinas

Procedimiento del inmunoensayo:

- Atemperar todos los reactivos a temperatura ambiente (20-25°C) antes de comenzar el ensayo.
- Añadir 200 µl de tampón de lavado a cada pocillo de la placa (placa de 96 pocillos).
- Sellar la placa y agitar en el agitador de placas durante 10 minutos a temperatura ambiente.
- Decantar el tampón de lavado y eliminar el volumen residual de los pocillos invirtiendo la placa y golpeando varias veces sobre papel absorbente.
- Añadir 50 µl de cada uno de los estándares diluidos (ST-7/ST-1) y de los controles de calidad (QC1 y QC2) en los pocillos correspondientes. Añadir 50 µl de matriz de suero en el pocillo del estándar ST-0 (blanco).
- En los pocillos de las muestras, añadir 25 µl de tampón de ensayo y 25 µl de cada una de las muestras de suero correspondientes (dilución ½).
- Vortear el vial de premezclado de beads magnéticas y añadir 25 µl a cada pocillo de la placa.
- Sellar la placa e incubar en agitación durante 16-18 horas a 4°C.
- Poner la placa en el imán y eliminar el contenido de los pocillos invirtiendo la placa.
- Sacar la placa del imán añadir 200 µl de tampón de lavado.
- Volver a poner la placa en el imán y esperar 60 segundos.
- Decantar la placa sin sacarla del imán (importante).
- Repetir los 3 pasos anteriores (lavado) 2 veces más.
- Añadir 50 µl de los ACS de detección en cada pocillo (previamente a su uso atemperar el vial de ACS de detección a temperatura ambiente).
- Sellar la placa e incubar en agitación (agitador de placas) durante 1 hora a temperatura ambiente (20-25°C).
- Añadir 50 µl de estreptavidina-ficoeritrina a cada pocillo.
- Sellar la placa e incubar en agitación (agitador de placas) durante 30 minutos a temperatura ambiente (20-25°C).

- Lavar la placa 3 veces con 200 µl de tampón de lavado, poniendo la placa en el imán durante 60 segundos y decantando la placa sin sacarla del imán.
- Añadir 150 µl de fluido de conducción del aparato Luminex® 200™, HTS, FLEXMAP 3D® o MAGPIX® a cada pocillo de la placa.
- Leer la placa en un aparato Luminex® 200™, HTS, FLEXMAP 3D® o MAGPIX® utilizando el software xPONENT®.
- Guardar y analizar los datos de intensidad media de fluorescencia (IMF) usando un método de ajuste de curva logístico de 5 parámetros para calcular la concentración de los analitos en cada una de las muestras y controles empleados.
- Multiplicar la concentración obtenida de cada analito por 2, ya que hemos empleado una dilución 1/2 de las muestras. Si se emplea una dilución distinta, multiplicar por el factor de dilución empleado.

5.2.2. Cuantificación de TGF- β 1 por ELISA

La determinación de los niveles de TGF- β 1 en suero se realizó empleando el KIT Quantikine® Colorimetric Sandwich ELISA Kit según las especificaciones del fabricante.

Este ensayo emplea la técnica cuantitativa de ELISA tipo sándwich (figura 31). Las tiras de ELISA están previamente tapizadas con anticuerpo monoclonal específico para TGF- β 1. Durante el ensayo se añaden los calibradores prediluidos, controles y las muestras de los pacientes a los pocillos correspondientes. El TGF- β 1 presente en la muestra se une al anti-TGF- β 1 inmovilizado en la placa (figura 31).

Tras la incubación, la fracción de TGF- β 1 no unida se lava, y el TGF- β 1 se detecta mediante la adición de un anticuerpo monoclonal anti-TGF- β 1, unido a HRP. Una segunda incubación permite que el conjugado se una al TGF- β 1. Tras un segundo paso de lavado se retira el exceso de conjugado y se determina la actividad de la HRP en la placa mediante la medición de la absorbancia a 450 nm producida por un sustrato cromogénico (tetrametilbencidina (TMB) en un espectrofotómetro. La señal obtenida es proporcional a la cantidad de TGF- β 1 presente en la muestra del paciente (figura 31).

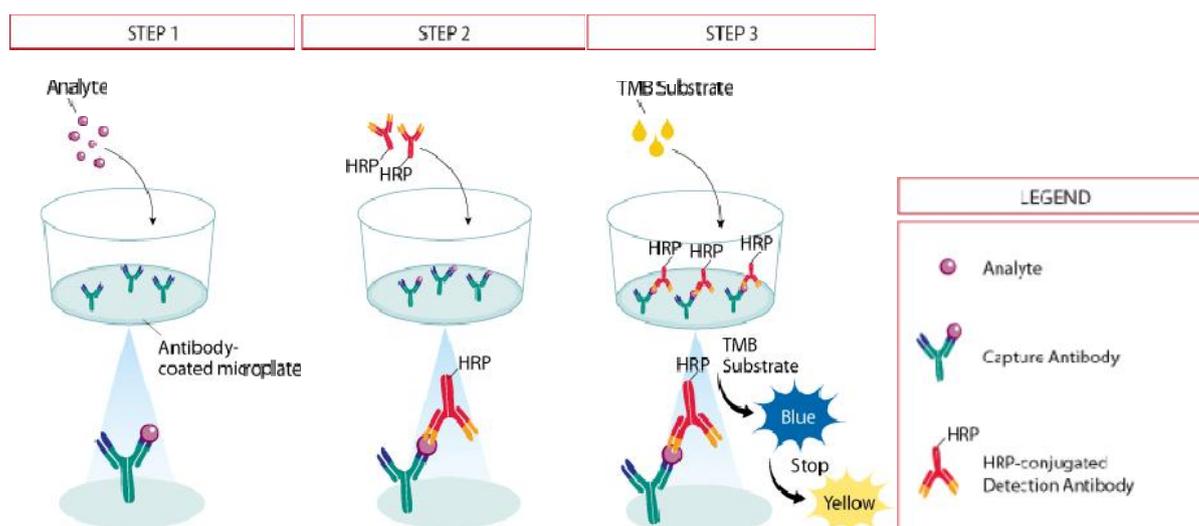


Figura 19. Inmunoensayo tipo sandwich para la determinación de TGF-

5.2.3. Determinación del polimorfismo de citoquinas.

La determinación del polimorfismo de citoquinas se realizó mediante un ensayo de discriminación alélica, (Allelic Discrimination by Taqman probes; qPCR) de las regiones de interés de cada una de las citoquinas a estudiar. Se estudiaron los polimorfismo de las siguientes citoquinas: citoquinas pro-inflamatorias: IL-1, IL-6, IL-8, IL-17 IFN y TNF , y citoquinas anti-inflamatorias: IL-4, IL10 y TGF .

El ensayo de discriminación alélica es un ensayo multiplex (en el que cada reacción incorpora más de un par de cebadores/sondas), a punto final (la información se recoge al final del proceso de PCR), que detecta variantes de un único nucleótido en la secuencia de ADN. La presencia de dos pares de cebadores y sondas en cada reacción permite el genotipado de las dos posible variantes o polimorfismos de nucleótidos simple (SNP) en una secuencia de ADN diana. Para cada una de las muestras analizadas se emplea un par de detectores fluorescentes (ej, dos sondas TaqMan® MGB que tienen como diana un sitio de polimorfismo de nucleótido simple), de este modo, una de las sondas fluorescentes hibrida específicamente a la secuencia de uno de los alelos (alelo 1) y la otra sonda al otro alelo (alelo 2).

Este ensayo de discriminación alélica clasifica las muestras como:

- Muestras homocigotas: tienen el alelo 1 o el alelo 2
- Muestras heterocigotas: tienen el alelo 1 y el alelo 2.

En este ensayo se mide el cambio en la fluorescencia de los dos distintos fluorocromos (VIC y FAM) asociados con las sondas específicas para cada variante alélica. En la figura 32 se muestra un ejemplo de hibridación entre las secuencias diana y las sondas en ensayos de genotipaje TaqMan®

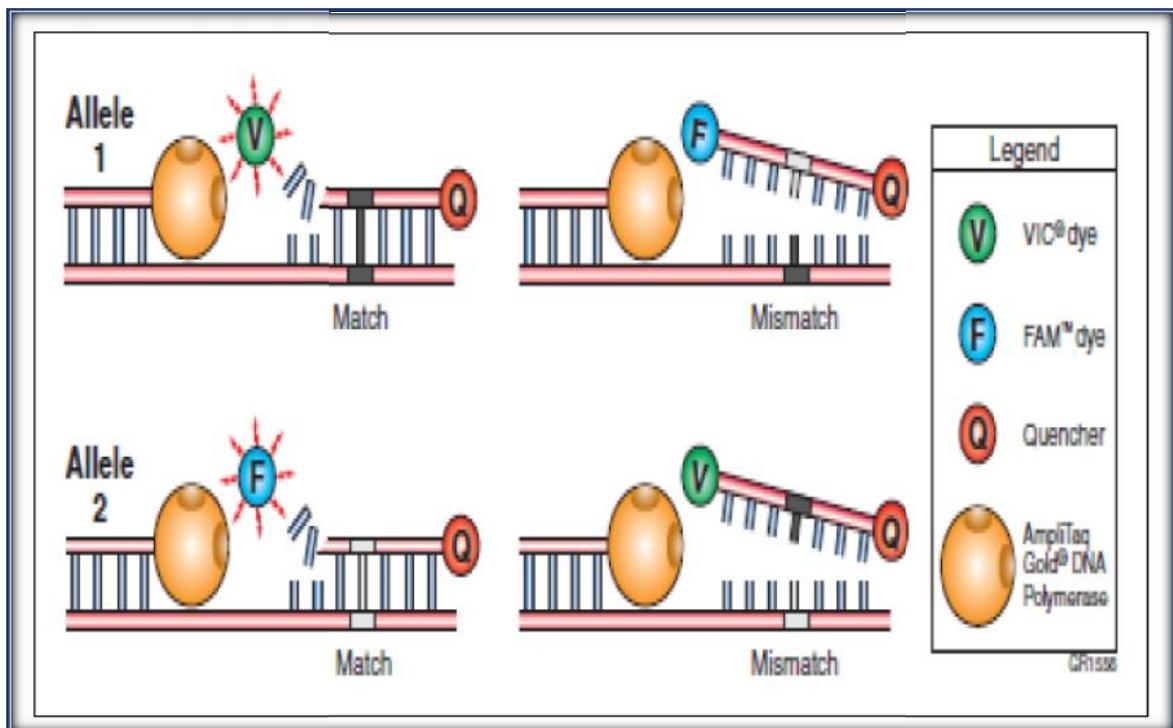


Figura 32. Hibridación de sondas en el ensayo TaqMan® de discriminación alélica. Para cada muestra se emplean dos sondas que tienen como diana la secuencia donde se localiza el SNP. Cada una de estas dos sondas va conjugada con un fluorocromo diferente y un quencher, y tiene la secuencia complementaria exacta para cada uno de los alelos del SNP. Cuando la sonda hibrida con la secuencia complementaria en el ADN de la muestra, la Taq polimerasa libera el fluorocromo y éste emite fluorescencia al quedar separado del quencher.

La interpretación de los resultados obtenidos mediante el ensayo TaqMan de discriminación alélica depende de las señales de fluorescencia detectadas, tal y como se muestra en la figura 33.

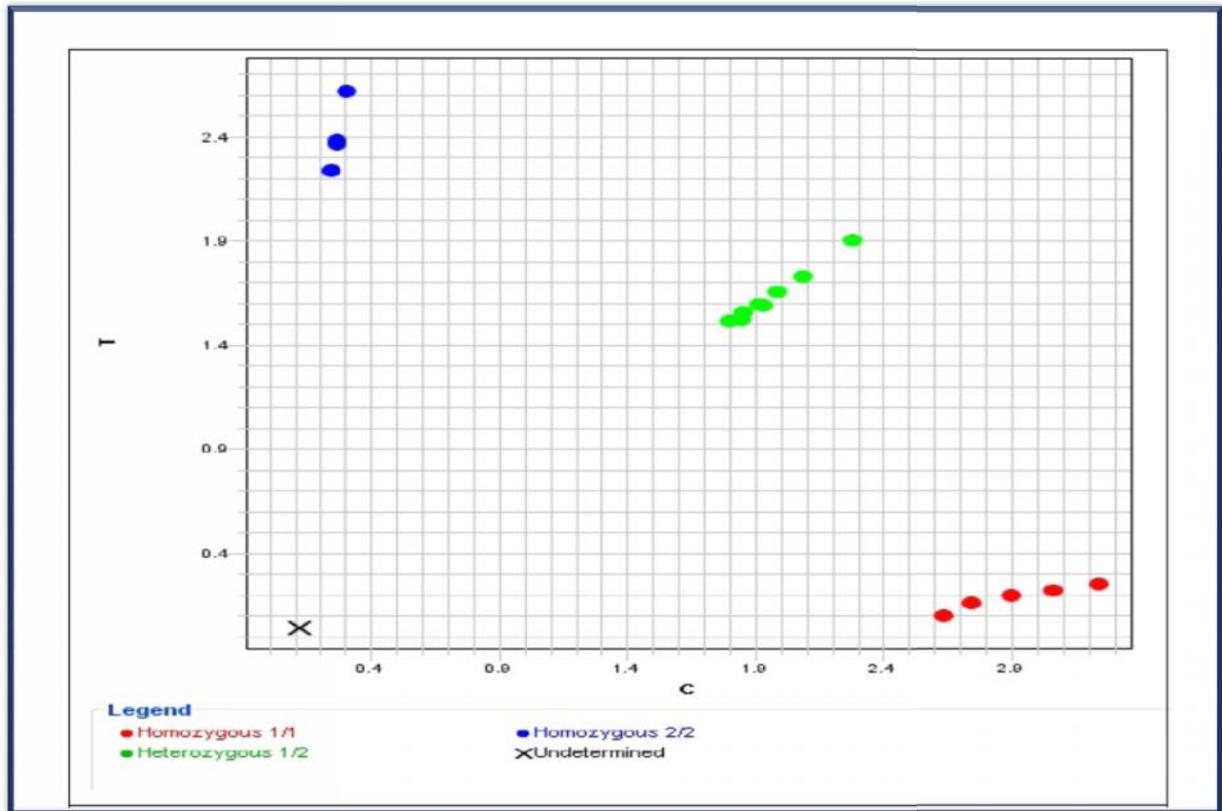


Figura 33. Interpretación de resultados del ensayo TaqMan® de discriminación alélica para la región de citoquinas. Se representa un diagrama de puntos de un ensayo TaqMan de discriminación alélica. En rojo se observan las muestras homocigotas para el alelo 1 (solo emite señal la sonda conjugada con VIC), en verde las muestras heterocigotas portadoras tanto del alelo 1 como del alelo 2 (emiten señales ambas sondas, la conjugada con VIC y la conjugada con FAM) y en azul las muestras homocigotas para el alelo 2 (solo emite señal la sonda conjugada con FAM).

La secuencia de los cebadores sentido y anti-sentido empleados para amplificar los SNPs estudiados se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Secuencias de cebadores sentido y antisentido empleados para amplificar los SNPs.

Citoquina	SNP Id (NCBI)	Ref. ensayo Applied Biosystems	Contexto de la secuencia del ensayo TaqMan (VIC/FAM)	Variación	Localización
IL1-	rs1143634	C_9546517_10	CATAAGCCTCGTTATCCCATGTGTC[G/A]AAGAAGATAGGTTCTGAAATGTGGA	G/A	Exón 5 +3954
	rs16944	C_1839943_10	TACCTTGGGTGCTGTTCTCTGCCTC[G/A]GGAGCTCTCTGTCAATTGCAGGAGC	G/A	-511
IL-6	rs1800795	C_1839697_20	ACTTTTCCCCCTAGTTGTGTCTTGC[C/G]ATGCTAAAGGACGTCACATTGCACA	C/G	-174
IL-8	rs4073	C_11748116_10	TTATCTAGAAATAAAAAAGCATACA[A/T]TTGATAATTCACCAAATTGTGGAGC	A/T	-251
IL-17	rs2275913	C_15879983_10	TGCCCTTCCCATTTTCTTCAGAAG[A/G]AGAGATTCTTCTATGACCTCATTGG	A/G	-152
IFN-	rs2430561	C_15859790_10	TGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTG[A/T]GATTTGATTTTGTGTTGTAAGAATAA	A/T	Intrón 1 +874
TNF-	rs1800629	C_7514879_10	GAGGCAATAGGTTTTGAGGGGCATG[A/G]GGACGGGGTTCAGCCTCCAGGGTCC	A/G	+874
	rs1800896	C_1747360_10	TCCTCTTACCTATCCCTACTTCCCC[T/C]TCCCAAAGAAGCCTTAGTAGTGTTG	T/C	-1082
IL-10	rs1800871	C_1747362_10	AGTGAGCAAAGTGGGACAGAGAT[A/G]TTACATCACCTGTACAAGGGTACAC	A/G	-819
	rs1800872	C_1747363_10	CTTTCCAGAGACTGGCTTCTACAG[T/G]ACAGGCGGGTTCACAGGATGTGTTT	T/G	-592
TGF-	rs1800469	C_8708473_10	GAGGAGGGGGCAACAGGACACCTGA[A/G]GGATGGAAGGGTCAGGAGGCAGACA	A/G	+509
	rs1800470	C_22272997_10	TAGCCACAGCAGCGGTAGCAGCAGC[A/G]GCAGCAGCCGAGCCCGAGGGCGG	A/G	-869

En azul se muestra la localización de cada SNP en la secuencia, así como la variación de nucleótido que tiene lugar en cada SNP.

Se preparó la mezcla de amplificación según el número de muestras a realizar empleando los volúmenes indicados en la tabla 7 y de acuerdo a las especificaciones comerciales.

Tabla 7. Volúmenes de los reactivos empleados en el ensayo de discriminación alélica.

Concentración final	Reactivo	Volumen por muestra (µl)
1X	PCR master mix PE 2X	12.5
	MIX primer 10X	2.5
	H ₂ O	5
0.0625 µg	DNA diluído de muestras / controles	5
	Total(µl)	25

Por último, se introdujo la placa de reacción en el aparato ABI Prism^R 7000 Sequence Detection System y se asignaron los alelos a cada una de las muestras y controles analizados.

Determinación del polimorfismo VNTR del gen de la IL4.

El polimorfismo que afecta a las repeticiones en tandem GT de 70bp pares de bases (VNTR) en el intrón 3 del gen de la IL-4 se determinó por PCR convencional empleando los cebadores directo 5'-GTA AAT AGG CTG AAA GGG GGA AA-3' y reverso 5'-CAT CTT TTC CTC CCC TGT ATC TT-3' para amplificar el fragmento VNTR de 70 pares de bases. Posteriormente se analizó el tamaño del fragmento amplificado en un gel de agarosa. El tamaño del fragmento amplificado estaba relacionado con el número de repeticiones presentes en la muestra. En función de esto se identificaron 2 alelos: alelo 1 con 3 repeticiones (3R, 342bp), alelo 2 con 2 repeticiones (2R, 272bp).

5.3. OBJETIVO 3: DETERMINACIÓN DE POLIMORFISMOS HLA/KIR.

El genotipaje de las moléculas de HLA clase I y clase II se realizó empleando métodos de PCR-SSO y PCR-SSP como se describe a continuación.

5.3.1. Genotipaje de HLA-A, -B, - C y -DRB1 por PCR-SSO.

El tipaje de los genes HLA-A, -B, - C y -DR se realizó mediante el método de PCR-SSO utilizando los kits de tipificación LIFECODEs HLA-SSO Clase I A, Clase I B, Clase I C y Clase II DRB1 (LifeCode, Inmucor GTI Diagnostic, Inc., Promega Corp.).

El procedimiento de tipificación de HLA-SSO se basa en la hibridación con sondas SSO del ADN monocatenario marcado obtenido por PCR. Cada una de las distintas sondas hibrida con una región complementaria que puede estar presente o no en el ADN amplificado. Además, el ADN amplificado hibrida también con una o más sondas de consenso homólogas a secuencias presentes en todos los alelos de un locus.

En la tipificación por el procedimiento HLA-SSO se unen las sondas a microesferas Luminex ideadas para utilizarse con el Luminex Instrument. Se pueden mezclar hasta 100 poblaciones diferentes de microesferas Luminex y se las puede analizar en el Luminex Instrument porque cada una de ellas se distingue por su firma o color de fluorescencia característico. A cada microesfera de color puede unirse una sonda SSO distinta. Por consiguiente, en una mezcla compuesta por varias sondas es posible distinguir unas de otras por su unión a microesferas de un color determinado.

El Luminex Instrument también mide las cantidades relativas de producto de PCR marcado que hibrida con cada microesfera Luminex. Así, al igual que ocurre con otros métodos SSO, la señal relativa obtenida con las sondas SSO en el ensayo LifeCodes puede utilizarse para asignar a las sondas una reactividad positiva o negativa con la muestra de ADN amplificado. Esto, a su vez, ofrece la información necesaria para determinar el fenotipo HLA de la muestra.

Las reacciones de amplificación se realizaron preparando los diferentes componentes de la mezcla de amplificación que se detalla en la tabla 8.

Tabla 8. Componentes de la reacción para la amplificación

Componente	Cantidad por reacción PCR por muestra
Mezcal maestra LIFECODES	6µl
ADN genómico 10-200 ng/µl	Total 80 ng
Polimeras taq LIFECODES	0.2 µl (1U)
Agua exenta de nucleasas	Hasta un volumen final de 20 µl

Las condiciones del termociclador, en cuanto a temperatura y a tiempo de incubación se detallan a continuación (tabla 9).

Tabla 9. Condiciones del termociclador para la amplificación.

T(°C)	Tiempo	Nº de ciclos
95	3 min.	1
95	15 seg.	
60	30 seg.	12
72	30 seg.	
95	10 seg.	
63	30 seg.	28
72	30 seg.	
72	2 min.	1
4		1

Posteriormente, se realizó la hibridación de cada muestra con sondas específicas tal y como se detalla en las especificaciones del Kit. Las condiciones del termociclador para la hibridación se detallan en la tabla 10.

Tabla 10. Condiciones del termociclador para la hibridación.

T(°C)	Tiempo
97	2 min.
47	10 min.
56	8 min.
Mantener a 56 °	

Se preparó una solución de SA-PE, se añadió 100 µl de la mezcla por muestra, y se adquirió las muestras en un equipo Luminex XMAP™. Los resultados se analizaron con el software (MATCH IT! DNA v1.2 LIFECODES).

5.3.2. Genotipaje de HLA-A, -B, - C y -DRB1 por PCR-SSP.

Como método alternativo, para el genotipaje de los locus HLA-A, HLA-B, HLA-C y HLA-DR por PCR-SSO, y para las combinaciones ambigüas, se utilizaron técnicas de reacción en cadena de la polimerasa o PCR, utilizando el kit SSP1A (SSP Generic HLA Class I A Locus DNA Typing Tray), el kit SSP1B (SSP Generic HLA Class I B Locus DNA Typing Tray), el kit SSP1C (Micro SSP Generic HLA Class I C Locus DNA Typing Tray) y el kit SSP2LB (Micro SSP Generic HLA Class II DNA Typing Tray DRB Only) (One Lambda, Inc. 21001 Kittridge Street, Canoga Park, CA) de acuerdo con las especificaciones del fabricante.

Consiste en la amplificación de ADN con cebadores de secuencia específica, por lo que se usa para cada gen HLA un conjunto de cebadores cuyas secuencias discriminan los diferentes genes presentes en la muestra a estudio, de tal forma que solo se produce la reacción de amplificación cuando el ADN contiene el gen que corresponde al grupo de cebadores de la reacción (figura 34).

Todos los kits utilizados de One Lambda están adaptados a las mismas condiciones de amplificación en los Termocicladores Perkin Elmer 9600. Los

termocicladores 2720 y 9700 deben prepararse en el modo de rampas del 9600 (ver tabla 11).

Tabla 11. Condiciones del termociclador para la amplificación para genotipaje por PCR-SSP.

T(°C)	Tiempo	Nº de ciclos
94	120 seg.	
65	60 seg.	1
94	10 seg.	9
65	60 seg.	
95	10 seg.	
65	60 seg.	20
72	20 seg.	
4		

Sin embargo, los volúmenes de los reactivos implicados en cada tipo de analítica cambian, según el locus de que se trate. Los volúmenes de los reactivos utilizados para la amplificación de los alelos del locus HLA-A, -B, -C y -DR por cada muestra de ADN se muestran en la tabla 12

Tabla 12. Volumen de los reactivos utilizados para la amplificación de los alelos de los locus HLA-A, B y C.

Componentes de la PCR-SSP	Volumen por muestra (µl)		
	HLA-A (SSP1-A) HLA-C (SSP1-C)	HLA-B (SSP1-B)	HLA-DRB1 (SSP2LB)
D-MIX	270	540	360
ADN	29	59	39
Taq-polimerasa	1.5	3	2
Reacciones por test	24	48	32

Posteriormente, se realizó la electroforesis de las muestras en un gel al 2,5-3% de agarosa, y los resultados se interpretaron con ayuda del programa HLA Fusion v 2.0 y v 3.0 (One Lambda, Inc 21001 Kittridge Street, Canoga Park, CA 91303-2801, EE. UU.) (figura 34).

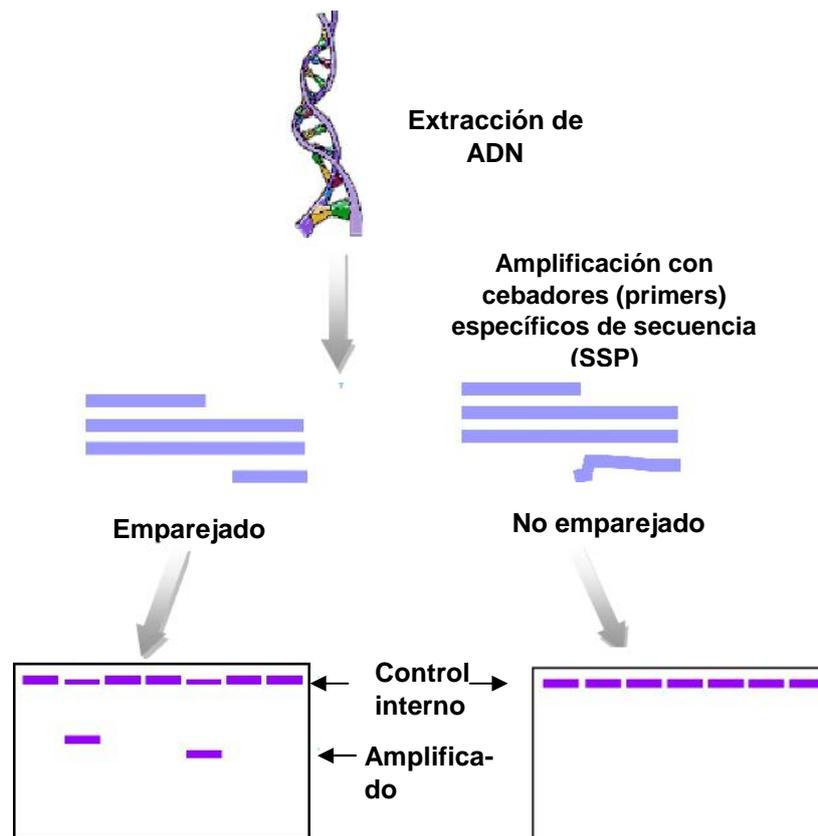


Figura 34. Esquema del tipaje de HLA mediante PCR-SSP. El tipaje de los genes HLA por PCR-SSP se realiza mediante el uso de cebadores específicos de secuencia para cada gen HLA, de tal manera que cuando estos cebadores se emparejan con la secuencia complementaria específica en el ADN de la muestra se producirá la amplificación del fragmento específico de ADN, mientras que cuando los cebadores no emparejan, no se producirá amplificación.

5.3.3. Genotipaje de los genes KIR.

El tipaje de los genes KIR se realizó por el método de PCR-SSO utilizando el KIT LIFECODES KIR SSO Typing Kit (Luminex technology, Tepnel Lifecodes, CMDCAS, Canada), de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Mediante este método se detectó un total de 14 genes que codifican para ocho receptores KIR inhibidores (2DL1-2DL5 y 3DL1-DL3), seis receptores KIR activadores (2DS1-S5 y 3DS1). La mezcla de amplificación empleada en el tipaje KIR mediante PCR-SSO se describen en la tabla 13 y las condiciones de amplificación en la tabla 14.

Tabla 13. Mezcla de amplificación empleada en el tipaje KIR mediante PCR-

Componente	Volumen por muestra (µl)
Lifecodes master mix (MX-K1, MX-K2)	6
Taq Polimerasa	0.2
H ₂ O libre de nucleasas	Completar hasta 20

Tabla 14. Condiciones de amplificación de los genes KIR mediante PCR-SSO.

T(°C)	Tiempo	Nº de ciclos
95	2 min.	1
94	30 seg.	
59	90 seg.	40
72	30 seg.	
72	15 min.	1
4		

Posteriormente, se hibridó 5 µl de ADN amplificado de cada muestra con 15 µl de la mezcla de sondas y se preparó una mezcla de solución con estreptavidina

conjugada con R-ficoeritrina (SA-PE, del inglés “*Streptavidine-R-Phycoerythrin*”) conforme a las especificaciones del KIT.

Por último, se añadió 100 µl de la mezcla de SA-PE por muestra en las condiciones que especifica el kit y se adquirieron las muestras en un equipo Luminex^R XMAPTM.

Los resultados fueron analizados con el software Quicktype y Match it! DNA V1.1 ambos de LIFECODES^R.

6. ANALISIS ESTADÍSTICO.

Los datos demográficos y los resultados de los análisis se recogieron en una base de datos (Microsoft Access 11 (Microsoft Corporation, Seattle, EE.UU.). El análisis estadístico se realizó empleando el paquete estadístico SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago EE.UU.).

Para detectar diferencias respecto a la edad y sexo se realizó un test t-Student desapareado de dos colas y un test chi-cuadrado (χ^2), respectivamente.

Los niveles séricos de ACS anti-5-HT, 5-HT y citoquinas fueron comparados entre los distintos grupos de pacientes con FM y grupo control mediante el test t-Student.

Las correlaciones entre los niveles de serotonina y los niveles de acs anti-serotonina en suero fueron determinadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

Las frecuencias alélicas, génicas y genotípicas fueron estimadas por contaje directo, y comparadas utilizando el test exacto de Fisher bilateral. Las asociaciones de los alelos o genes KIR, HLA y de los citoquinas estudiadas con las variables clínicas se estimaron mediante el test χ^2 y el test exacto de Fisher bilateral, y la fuerza de las asociaciones mediante la determinación de la Odds Ratio (OR). El valor de “pc” se obtuvo multiplicando el valor de la “p” por el número de alelos testados para cada locus. En todos los casos, los valores de “p” menores de 0.05 fueron considerados como significativos

RESULTADOS

1. SERIE ESTUDIADA Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS AL DIAGNÓSTICO.

1.1. Datos demográficos.

En el presente trabajo se ha estudiado un grupo 235 pacientes con FM seleccionados aplicando los criterios diagnósticos de 1990 del ACR y los criterios de ACR 2010. De todos ellos, 79 pacientes fueron excluidos por no cumplir los criterios diagnósticos de FM tipo I. Asimismo, se ha estudiado un grupo de 191 controles sanos, de los cuales 18 fueron excluidos por presentar una patología asociada o ser familiar de 1º grado de paciente con FM. De esta manera se estudiaron 156 pacientes con diagnóstico de FM tipo I (150 mujeres y 6 hombres) y 153 controles sanos (120 mujeres y 33 hombres), siendo la frecuencia de mujeres significativamente superior en el grupo de pacientes con FM que en el grupo control ($p=2,73 \times 10^{-6}$). Ambos grupos resultaron compatibles en edad y procedían de la misma área geográfica (tabla 15).

Tabla 15. Datos demográficos de pacientes con FM y controles sanos.

Datos Demográficos	Controles N=153	Pacientes con FM N=156
Edad (años)	48±11	53±10
Género:		
Mujer	120	150^a
Hombre	33	6

Abreviatura: FM, Fibromialgia; Media± desviación estándar. Para detectar diferencias respecto a la edad y sexo se realizó un test *t*-Student desapareado de dos colas y un test χ^2 , respectivamente, (^a paciente vs control; χ^2 (21.99); $p=2.73 \times 10^{-6}$).

1.2. Características clínicas al diagnóstico.

La clasificación de los pacientes con FM se realizó mediante los cuestionarios y test siguientes: **FIQ**, **CV**, **WPI**, **COS**, **CGI**, **HARS**, **HDRS** y **MPQ** que evalúan la calidad de vida y la presentación de la enfermedad:

- Según el **test de FIQ**, que evalúa el impacto de la enfermedad en la calidad de vida de los pacientes con FM, en un rango de 0-100, 6 (4%) de los pacientes presentaron una afectación mínima en la severidad de los síntomas de la enfermedad (rango de 0- 40), 12 (8%) de los pacientes presentaron una afectación moderada

(rango de 41-50), 57 (38%) de los pacientes una afectación importante (rango de 51-70), 57 (38%) de los pacientes una afectación grave (rango de 71-85) y 17 (12%) de los pacientes una afectación muy grave (rango > 85) (figura 35a). Por operatividad y con el fin de incrementar el número de pacientes que conforma cada grupo, decidimos agrupar a los pacientes en dos grupos: Grupo 1; pacientes con afectación de mínima a moderada, 18 (12%) de los pacientes (rango 0-50), y Grupo 2; pacientes con afectación importante, grave o muy grave, 131 (88%) de los pacientes (rango 51-100) (figura 35b).

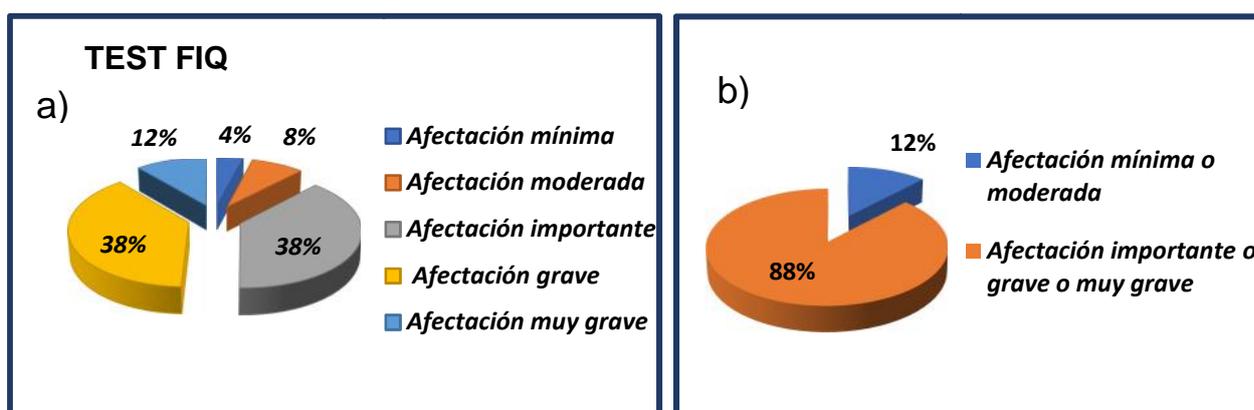


Figura 35: a) Clasificación original de los pacientes según el test FIQ; b) Clasificación modificada de los pacientes en según test FIQ

- Según el **test Calidad de Vida (CV)** que clasifica a los pacientes dentro de un rango de 0-159, 43 (28%) de los pacientes fueron incluidos dentro del grupo con afectación leve (rango 0- 53), 101 (66%) dentro del grupo con afectación moderada (rango 54 - 106) y 5 (6%) dentro del grupo con afectación grave (rango 107-159) (figura 36a). Por operatividad y con el fin de incrementar el número de pacientes que conforma cada grupo, agrupamos a los pacientes en dos grupos: Grupo 1; pacientes con afectación leve en la calidad de vida (rango 0-106) 32 (28%) y grupo 2; pacientes con afectación de moderada a grave (rango 107-159) 110 (72%) (figura 36b).

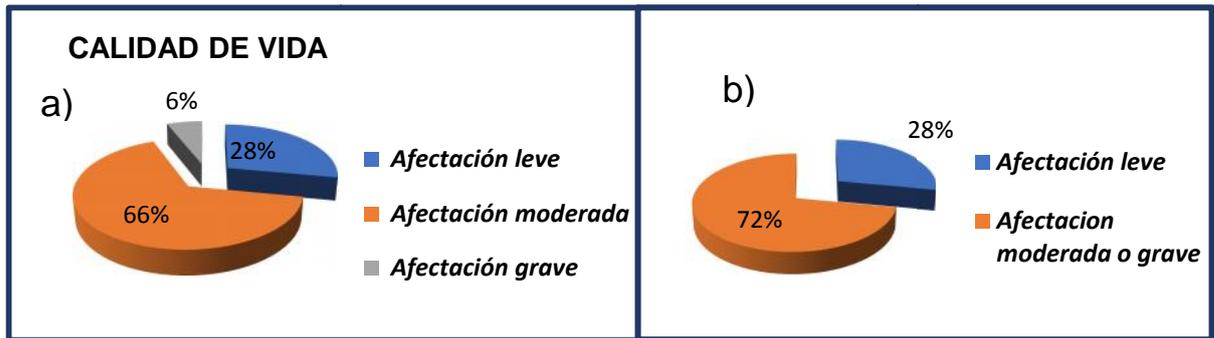


Figura 36: a) Clasificación original de los pacientes atendiendo al test Calidad de Vida; b) Clasificación modificada de los pacientes atendiendo al test Calidad de Vida.

- Según el **test WPI** que evalúa la expansión del dolor corporal, con un índice de dolor generalizado de 0-19, los pacientes se agruparon en dos grupos. Dentro del Grupo 1 (rango 0-12, expansión del dolor leve), se incluyeron 58 (37%) de los pacientes, y dentro del grupo 2 (13 expansión del dolor de moderado a grave), se incluyeron 98 pacientes (63%) (figura 37).

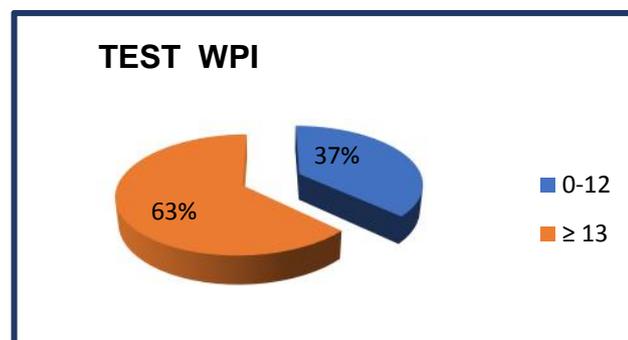


Figura 37: Clasificación de los pacientes, atendiendo al test WPI.

- Según el **test COS**, que evalúa la calidad de sueño de los pacientes con FM, se clasificó a los pacientes en dos grupos: Grupo 1 (rango 0-47, buena calidad de sueño), dentro del cual se incluyeron 44 (45%) de los pacientes y Grupo 2 (rango 48, mala calidad del sueño), donde se incluyeron 53 (55%) de los pacientes (figura 38)

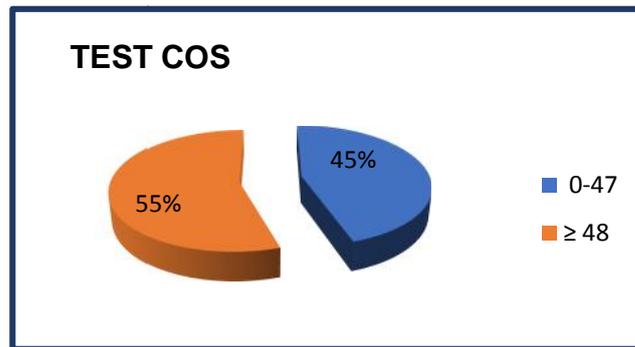


Figura 38: Clasificación de los pacientes atendidos al test COS.

• Según el **test CGI**, que evalúa la información cualitativa de la gravedad psiquiátrica de los pacientes, estos fueron clasificados en 6 grupos: 17 (11%) de los pacientes se consideraron como no enfermos, 26 (17%) de los pacientes se consideraron como dudosamente enfermos, 58 (39%) de los pacientes como levemente enfermos, 35 (24%) de los pacientes como moderadamente enfermos, 9 (6%) de los pacientes como marcadamente enfermos y 5 (3%) de los pacientes como gravemente enfermos (figura 39 a). Por operatividad y con el fin de incrementar el número de pacientes que conforma cada grupo, agrupamos a los pacientes en dos grupos: Grupo 1 (no enfermos, dudosos o levemente enfermos) constituido por 101 (67%) de los pacientes y Grupo 2 (moderadamente, marcadamente o gravemente enfermos) constituido por 49 (33%) de los pacientes (figura 39 b).

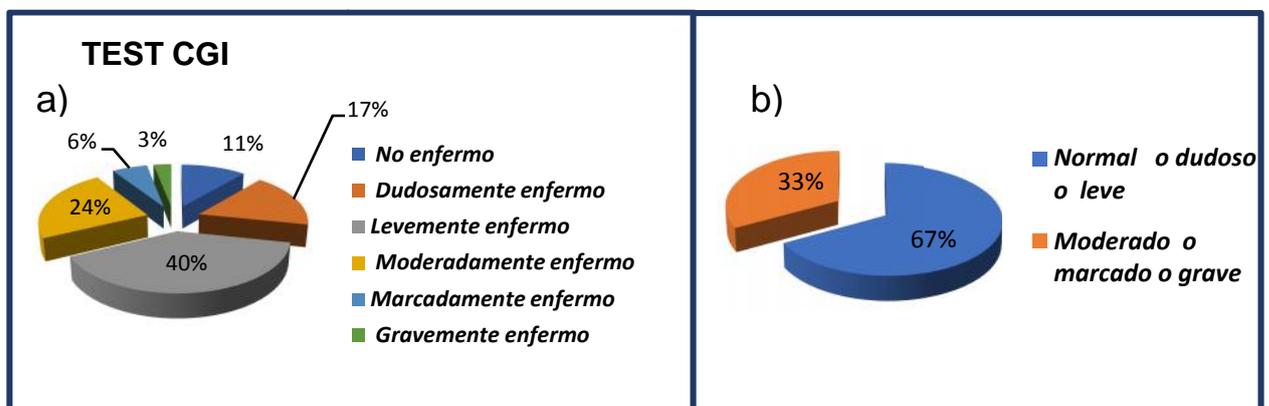


Figura 39: a) Clasificación original de los pacientes atendidos al test CGI; b) Clasificación modificada de los pacientes atendidos al test CGI.

• Según el test **HARS**, que evalúa la ansiedad que manifiestan los pacientes con FM, se clasificó a los pacientes de la siguiente forma: 3 (2%) de los pacientes se incluyeron dentro del grupo con ausencia ansiedad (rango 0-7), 52 (34%) de los pacientes presentaron una ansiedad de leve a moderada (rango 8-17), 27 (18%) de los pacientes manifestaron una ansiedad moderada (rango 18-24), 30 (20%) de los pacientes presentaron ansiedad de moderada a severa (rango 25-30) y 40 (26%) de los pacientes presentaron ansiedad de severa a grave (rango >30) (figura 40 a). Por operatividad y con el fin de incrementar el número de pacientes que conforma cada grupo, agrupamos a los pacientes en dos grupos: Grupo 1 (constituido por pacientes que no manifestaban ansiedad, o presentaban ansiedad de leve a moderada; (rango 0-24), 82 (54%) de los pacientes y Grupo 2 (pacientes que presentaban ansiedad moderada, severa o grave (rango > 25) constituido por 70 (46%) de los pacientes (figura 40 b).

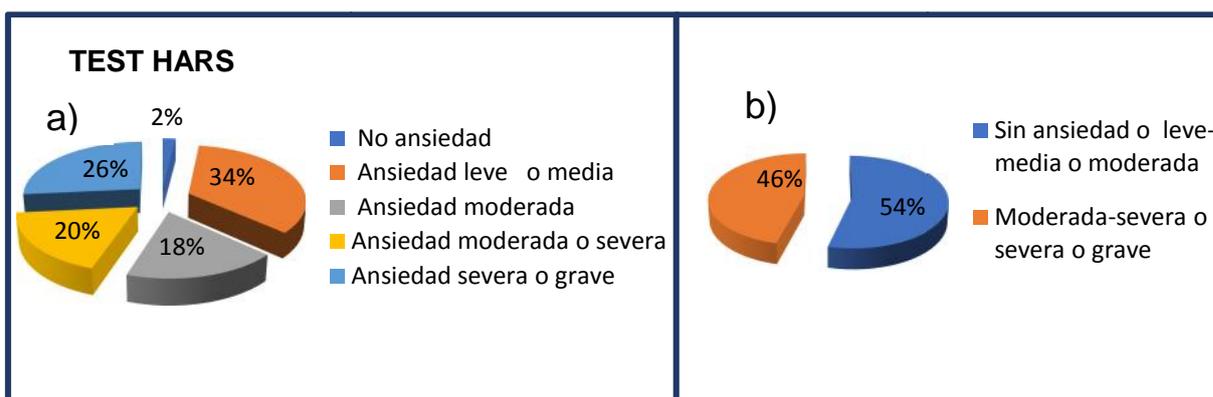


Figura 40: a) Clasificación original de los pacientes atendiendo al test HARS; b) Clasificación modificada de los pacientes atendiendo al test HARS

• Según el **test HDRS**, que evalúa el grado de depresión de los pacientes con FM, estos fueron agrupados en los siguientes grupos: 25 (16%), fueron pacientes que no presentaron depresión (rango 0-7), 54 (35%) de los pacientes presentaron depresión ligera o menor (rango 8-13), 45 (30%) de los pacientes presentaron una depresión moderada (rango 14-18), 19 (13%) pacientes una depresión severa (rango 19-22), y 9 (6%) pacientes una depresión muy severa (rango >23), (figura 41a) .Por operatividad y con el fin de incrementar el número de pacientes que conforma cada grupo, agrupamos a los pacientes en dos grupos: Grupo 1, (pacientes sin ansiedad o ansiedad leve-media o moderada, rango 0-18) constituido por 79 (52 %) de los

pacientes, y grupo 2, (pacientes que presentaban depresión severa o muy severa, rango ≥ 19) constituido por 73 (48%), de los pacientes, (figura 41b).

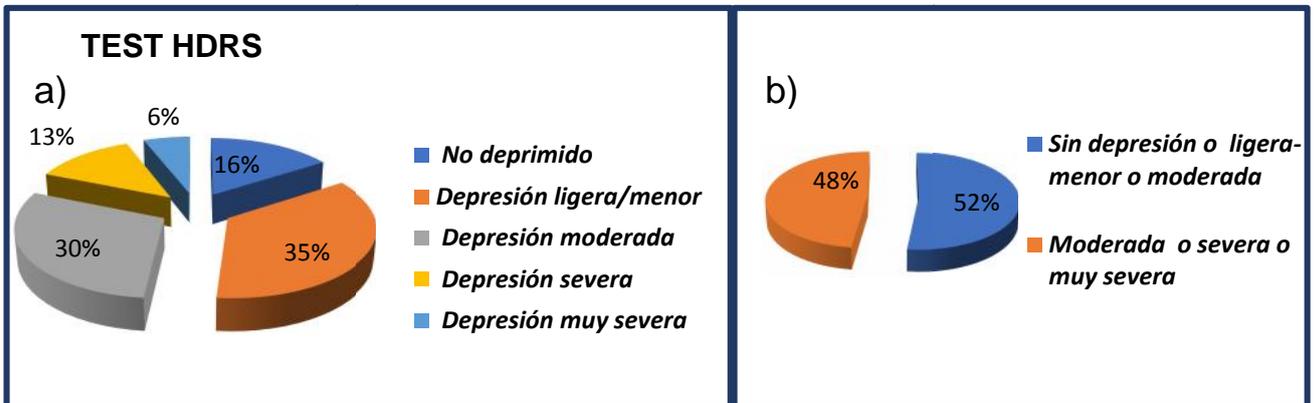


Figura 41: a) Clasificación original de los pacientes atendiendo al test HDRS; b) Clasificación modificada de los pacientes atendiendo al test HDRS

• Por último, según el **test MPQ** que evalúa la intensidad de dolor de los pacientes con FM, se clasificaron en dos grupos, Grupo 1, 82 (53%) de los pacientes que presentaron formas más leves de dolor (escala de 0-18) y Grupo 2, 74 (47%) de los pacientes que presentaron formas más severas de dolor (escala ≥ 19), (figura 42)

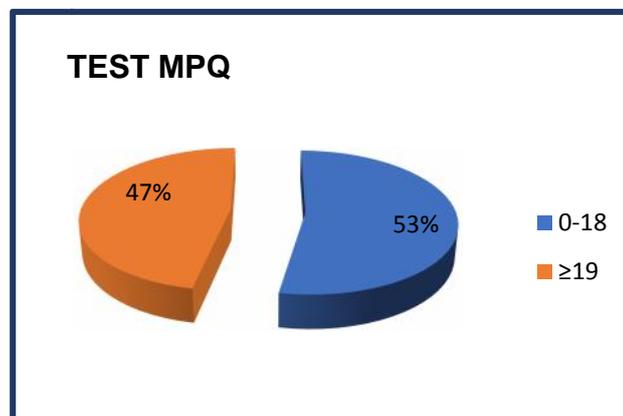


Figura 42: Clasificación de los pacientes, atendiendo al test MPQ.

2. RESULTADOS POR OBJETIVOS.

2.1. OBJETIVO 1. Cuantificación de ACS séricos anti-serotonina, anti-gangliósidos, otros autoACS relacionados, y niveles de serotonina en pacientes con FM y controles.

2.1.1. Cuantificación de los ACS anti-serotonina en suero.

Se realizó la cuantificación sérica de ACS anti-serotonina tanto IgG como IgM en un total de 155 pacientes con FM y 151 controles, obteniéndose los resultados detallados a continuación.

En la detección de ACS anti-5-HT (IgG), se obtuvo una DO media significativamente más elevada en el suero de los pacientes con FM respecto al de los controles sanos (DO de $160 \cdot 10^{-2} \pm 8.3$ y de $54 \cdot 10^{-2} \pm 2.5$, respectivamente; $p=2.3 \cdot 10^{-24}$) (figura 43a). Asimismo, en la determinación de ACS anti-5-HT (IgM), se observó una DO media significativamente más elevada en el grupo de pacientes con FM respecto al grupo control (DO de $167.1 \cdot 10^{-2} \pm 8.8$ y de $132 \cdot 10^{-2} \pm 6.7$, respectivamente; $p=0.0018$) (Figura 44b).

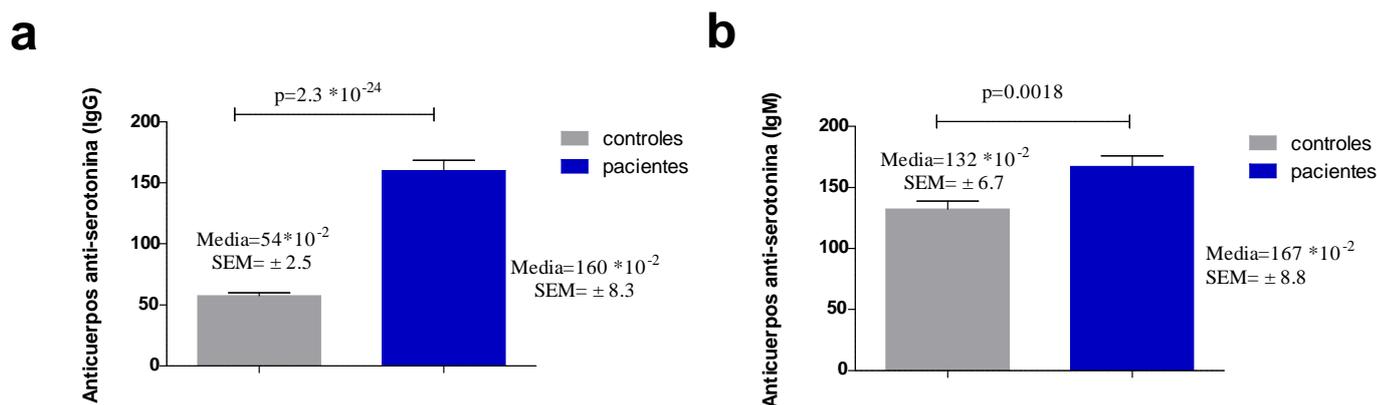


Figura 44. Densidades ópticas (DO) de anticuerpos anti-5-HT IgG e IgM en suero de pacientes con FM tipo I y controles sanos. (a). D.O. de anticuerpos anti-5-HT (IgG) en el suero de pacientes y controles. (b) DO de anticuerpos anti-5-HT (IgM) en el suero de pacientes y controles. Pacientes (n=155) y controles (n= 151). La DO se representa como la media \pm SEM. Los valores de p fueron determinados mediante prueba T de Student.

Para determinar la presencia de ACS anti-5-HT en las muestras de suero de los pacientes con FM y controles sanos, se consideró como positivas a aquellas muestras con valores de DO por encima de un umbral de detección de 100 (establecido en base resultado de reference value: media DO \pm 3SD de los controles sanos), mientras que aquellas muestras con valores de DO inferiores a 100 fueron consideradas negativas.

Así, pudimos determinar que el 58 % de los pacientes con FM (n=90) presentaba ACS anti-5-HT IgG en suero, mientras que en el grupo control solo se detectó la presencia de estos ACS en un 4% (n=3) de los individuos, estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p=3,98 \times 10^{-15}$; OR=48,12; IC 95% (16.9-136,7)). Por otro lado, se detectó la presencia de ACS anti-5-HT IgM en el 64% de los pacientes con FM (n=99), y en el 54% de individuos del grupo control (n=82), sin embargo estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (tabla 16).

Tabla 16. Presencia o ausencia de ACS anti-5-HT (IgG e IgM) en suero de pacientes con FM y controles sanos.

ACS anti-5-HT (IgG)	Control	Pacientes con FM
	N=143 n (%)	N= 155 n (%)
Negativo	139 (97)	65 (42)
Positivo	4(3)	90 (58)^a
ACS anti-5-HT (IgM)	Control	Pacientes Con FM
	N=151 n (%)	N= 155 n (%)
Negativo	69 (46)	56 (36)
Positivo	82 (54)	99 (64)

^a Control vs Paciente con FM ($p=3.98 \times 10^{-15}$; OR=48.12; IC 95%= 16.9-136.7). Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: ACS: anticuerpos; FM, Fibromialgia, 5-HT:serotonina.

En un análisis posterior se clasificó a los pacientes con FM en base al impacto y la presentación de la enfermedad, mediante los distintos cuestionarios y test validados para tal fin (FIQ, CV, WPI, COS, CGI, HARS, HDRS y MPQ). Este análisis reveló los siguientes resultados:

- Una frecuencia significativamente aumentada de individuos con ACS. anti-5-HT IgG positivos, en el grupo de pacientes con formas severas de la enfermedad según la escala CGI, respecto al grupo de pacientes con formas leves (71% vs 52%, respectivamente; $p=0.033$; OR=2.3; IC 95%=1.1-4.8), (tabla 17).
- Una frecuencia significativamente aumentada de individuos con ACS. anti-5-HT IgG positivos en el grupo de pacientes con ansiedad moderada, severa o grave, respecto al grupo de pacientes sin ansiedad o con ansiedad leve según el test HARS (67% vs 50% respectivamente; $p=0.048$; OR=2.04; IC 95% 1.6-3.9), (tabla 17).
- No se observaron diferencias significativas en la presencia de ACS. anti-5-HT IgG, al clasificar a los pacientes con FM en función del resto de test (FIQ, CV, WPI, COS y HDRS y MPQ.), (tabla 17).
- El análisis de ACS. anti-5-HT IgM en función del impacto y la presentación de la enfermedad, reveló una frecuencia aumentada de individuos con ACS. anti-5-HT positivos en el grupo de pacientes con ansiedad moderada, severa o grave, según test HARS, respecto al grupo de pacientes sin ansiedad o con ansiedad leve (76% vs 52% respectivamente; $p=0.004$; OR=2.8; IC 95% 1.4-5.7), (tabla 17).
- No se observaron diferencias significativas en cuanto a la presencia de ACS. anti-5-HT IgM, al clasificar a los pacientes con FM en función del resto de test (FIQ, CV, WPI, COS, CGI, HDRS y MPQ). (Tabla 17).

Tabla 17. Presencia o ausencia de ACS. anti-5-HT en pacientes con FM en función del tipo de test.

		Test FIQ		Test CV		Test WPI		Test COS	
		0-50	>50	0-106	107-159	0-12	≥13	0-47	≥48
		N=18 n(%)	N=130 n(%)	N=42 n(%)	N=110 n(%)	N=58 n(%)	N=97 n(%)	N=44 N (%)	N=52 n(%)
ACS. anti-5-HT IgG	Negativo	8 (44)	50 (38)	17 (40)	46 (42)	29 (50)	36 (37)	24 (54)	20 (38)
	Positivo	10 (56)	80 (62)	25 (60)	64 (58)	29 (50)	61 (63)	20 (46)	32 (62)
ACS. anti-5-HT IgM	Negativo	5 (28)	45 (35)	20 (48)	34 (31)	25 (43)	31 (32)	22 (50)	20 (38)
	Positivo	13 (72)	85 (65)	22 (52)	76 (69)	33 (57)	66 (68)	22 (50)	32 (62)
		Test CGI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ	
		N/L	M/G	0-24	25	0-18	19	0-18	19
		N=100 n(%)	N=49 n(%)	N=82 n(%)	N=70 n(%)	N=78 n(%)	N=73 n(%)	N=81 n(%)	N=74 n(%)
ACS. anti-5-HT IgG	Negativo	48 (48)	14 (29)	41 (50)	23 (33)	35 (45)	28 (38)	37 (46)	28 (38)
	Positivo	52 (52)	35 (71)^a	41 (50)	47 (67)^b	43 (55)	45 (62)	44 (54)	46 (62)
ACS. anti-5-HT IgM	Negativo	39 (39)	15 (31)	39 (48)	17 (24)	31 (40)	24 (33)	34 (42)	22 (30)
	Positivo	61 (61)	34 (69)	43 (52)	53 (76)^c	47 (60)	49 (67)	47 (58)	52 (70)

^a test CGI M/G vs .N/L, ($p=0.033$; OR=2.3; IC 95%=1.1-4.8); ^b, test HARS 25 vs. 0-24 ($p=0.048$; OR=2.04; IC 95% 1.6-3.9); ^c test HARS 25 vs. 0-24 ($p=0.004$; OR=2.8; IC 95% 1.4-5.7). Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: ACS, anticuerpos; FM, Fibromialgia; 5-HT, serotonina; M, Moderado; G, Grave; N, Normal; L, Leve.

2.1.2. Cuantificación de los niveles de serotonina en suero de pacientes con FM y en controles sanos.

La cuantificación de los niveles séricos de 5-HT en pacientes con FM y controles sanos, mostró unos niveles significativamente disminuidos de 5-HT en el suero de los pacientes con FM respecto al grupo control ($52 \mu\text{g/L} \pm 3.2$ vs $91 \mu\text{g/L} \pm 3.9$ respectivamente; $p=7.7 \times 10^{-14}$) (figura 45).

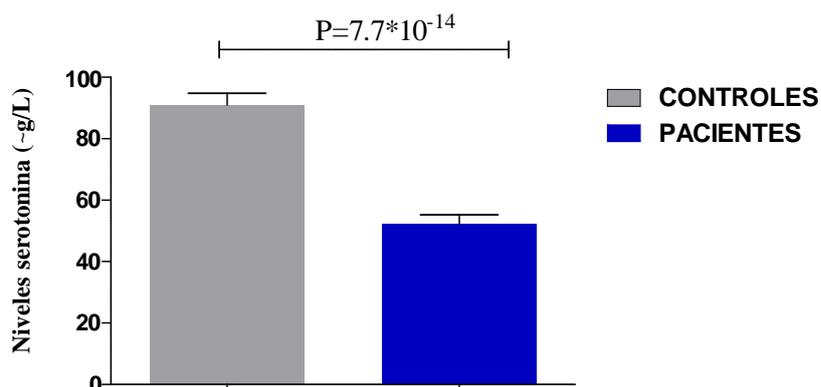


Figura 45. Análisis de los niveles séricos de 5-HT ($\mu\text{g/L}$) en pacientes de FM y en controles sanos. Niveles de 5-HT en pacientes con FM ($n= 156$) y controles ($n=144$), ($p=7.7 \times 10^{-14}$). Los niveles séricos de 5-HT se representan como la media \pm SEM. Los valores de p fueron determinados mediante prueba T de Student con varianzas distintas.

Al segregar a los pacientes en función de las manifestaciones clínicas de la FM, se observaron niveles séricos de 5-HT inferiores en el grupo de pacientes con ansiedad moderada, severa o grave, respecto al grupo de pacientes sin ansiedad o con ansiedad leve, según el test HARS, aunque estas diferencias no llegaron a alcanzar la significación estadística. ($57 \mu\text{g/L} \pm 5.2$ vs $90 \mu\text{g/L} \pm 4.1$ respectivamente)

Para el resto de test estudiados: FIQ, CV, WPI, COS, CGI, HDRS y MPQ, no se observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles séricos de serotonina (figura 46).

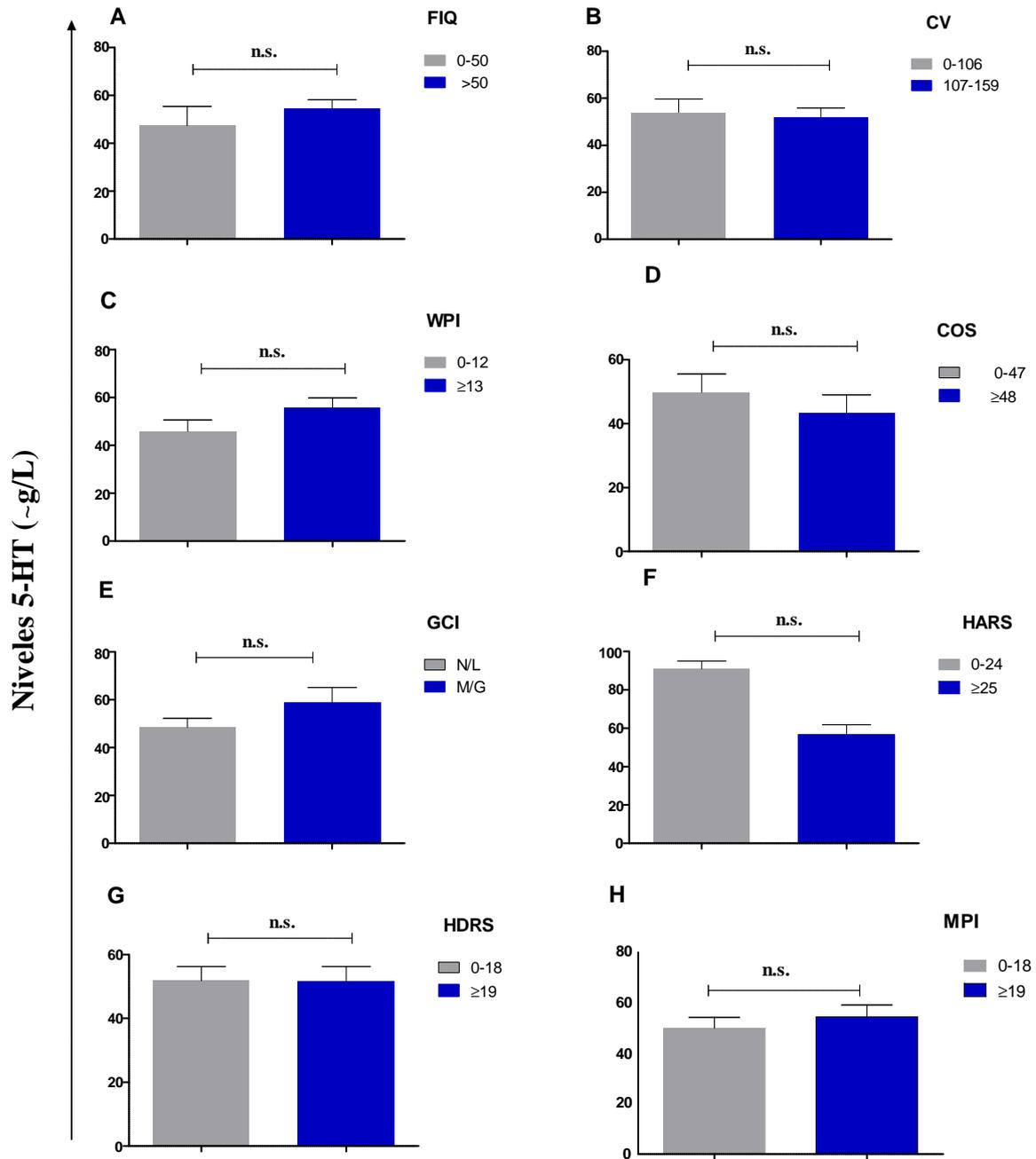


Figura 46. Análisis de los niveles séricos de 5-HT ($\mu\text{g}/\text{mL}$) en pacientes de FM segregados en función de las características clínicas al diagnóstico. Niveles de 5-HT en pacientes con FM segregados según (A) test FIQ, grupo 0-50, $n=18$, y grupo >50 , $n=131$, (B) test CV, grupo 0-106, $n=43$, y grupo 107-159, $n=110$, (C) test WPI, grupo 0-12, $n=58$, y grupo ≥ 13 , $n=98$, (D) test COS, grupo 0-47, $n=44$, y grupo ≥ 48 , $n=53$, (E) test GCI, grupo N/L, $n=101$, y grupo M/G, $n=49$, (F) test HARS grupo 0-24, $n=83$, y grupo ≥ 25 , $n=70$, (G) test HDRS grupo 0-18, $n=79$, y grupo ≥ 19 , $n=73$ y (H) el test MPQ grupo 0-18, $n=82$, y grupo ≥ 19 , $n=47$. Los niveles séricos de serotonina se representan como la media \pm SEM. Los valores de *p* fueron determinados mediante prueba T de Student con varianzas distintas. Abreviaturas: ;M, Moderado; G, Grave; N, Normal; L, Leve.

Posteriormente, se estudió la correlación entre los niveles de 5-HT y los niveles de DO de los ACS anti-5-HT (IgG) en suero, observándose que los niveles séricos de 5-HT disminuyen al incrementarse las DO de los niveles de ACS anti-5-HT de manera significativa ($p < 0.22$), con un coeficiente de Person = -0.135 (figura 47).

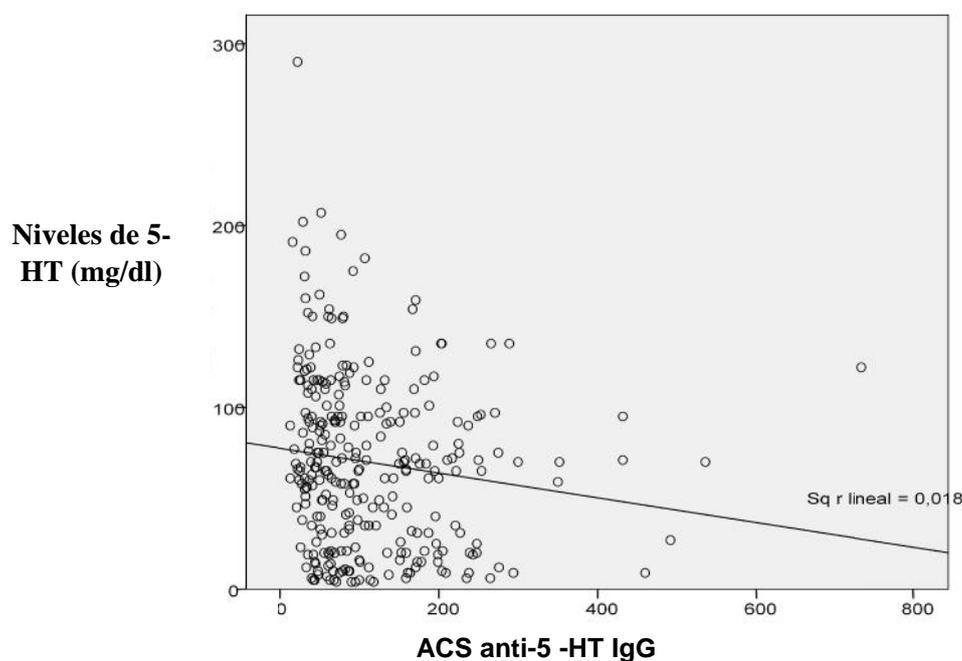


Figura 47. Análisis de la correlación entre los niveles séricos de 5-HT ($\mu\text{g}/\text{mL}$) y la presencia de ACS anti-5-HT (IgG) en pacientes de FM. Correlación entre los niveles séricos de 5-HT ($\mu\text{g}/\text{mL}$), y niveles de DO de ACS anti-5-HT (IgG), ($n=156$); $p < 0.22$

Al estudiar la correlación entre los niveles séricos de 5-HT y los niveles de DO de los ACS anti-5-HT (IgM) en suero, no se observó correlación significativa ($p=0.920$), con un coeficiente de Person = -0.006, (figura 48).

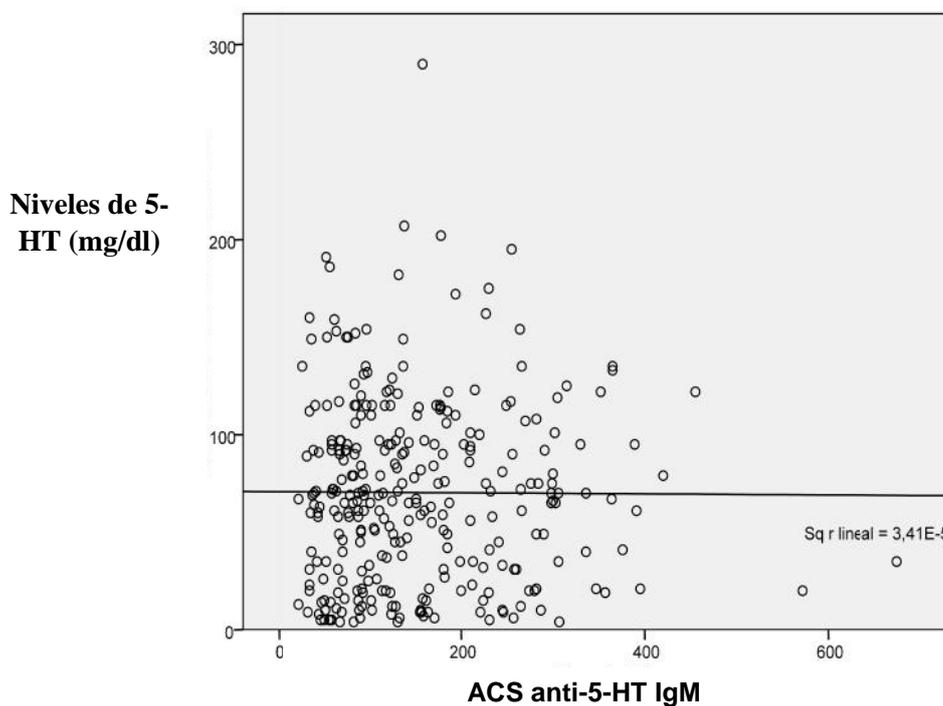


Figura 48. Análisis de la correlación entre los niveles séricos de 5-HT ($\mu\text{g/mL}$) y la presencia de ACS anti-5HT (IgM) en pacientes de FM.
Correlación entre los niveles séricos de 5-HT ($\mu\text{g/mL}$) y niveles de DO de ACS anti-5-HT (IgM) (n=156)

2.1.3. Determinación de los ACS anti-gangliosidos y anti-sulfátidos.

Se estudió la presencia de ACS anti-gangliosidos (GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b, GD3, GT1a, GT1b, GQ1b) y la presencia de ACS anti-Sulfátidos (IgG e IgM), en 151 pacientes con FM y en 152 controles, obteniéndose los siguientes resultados:

- No se detectó la presencia de acs. Anti-gangliosidos IgG en el grupo de pacientes con FM, ni en el grupo control.
- Por otro lado, se detectó la presencia de ACS. Anti-gangliosidos anti-GM2 (IgM) en 2 (1%) de los pacientes con FM, mientras que no se detectó la presencia de los mismos en el grupo control. El resto de acs anti-gangliosidos IgM fueron negativos tanto en el grupo de pacientes como FM como en el grupo control (tabla 18).

Tabla 18. Presencia de anticuerpos anti-gangliósidos (IgG e IgM) en suero de pacientes con FM y controles sanos.

		ACS (IgG)		ACS (IgM)	
		Control	Pacientes Con FM	Control	Pacientes Con FM
		N=152 n(%)	N=151 n(%)	N=152 n(%)	N=151 n(%)
ACS anti-Gangliosidos	Negativo	152 (100)	151 (100)	152 (100)	149 (99)
	Positivo	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
ACS anti-GM1	Negativo	152 (100)	151 (100)	151 (99)	151 (100)
	Positivo	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
ACS anti-GM2	Negativo	152 (100)	151 (100)	152 (100)	149 (99)
	Positivo	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
ACS anti-GM3	Negativo	152 (100)	151 (100)	152 (100)	151 (100)
	Positivo	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
ACS anti-GD1a	Negativo	152 (100)	151 (100)	150 (99)	151 (100)
	Positivo	0 (0)	0 (0)	2 (1)	0 (0)
ACS anti-GD1b	Negativo	152 (100)	151 (100)	152 (100)	151 (100)
	Positivo	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
ACS anti-GT1b	Negativo	152 (100)	151 (100)	152 (100)	151 (100)
	Positivo	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
ACS anti-GQ1b	Negativo	152 (100)	151 (100)	152 (100)	151 (100)
	Positivo	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: FM, Fibromialgia; ACS, anticuerpos.Antigangliósidos: GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b, GD3, GT1a, GT1b, GQ1b

- Se detectó la presencia de ACS anti-sulfátidos en el suero del 3% de los pacientes con FM, mientras que no se detectaron en el grupo control ($p=0,083$), (tabla 19).

Tabla 19. Presencia de ACS anti-gangliosidos (IgG e IgM) en suero de pacientes con FM y controles sanos.

ACS		Control	Pacientes Con FM
		N=152	N=151
		n(%)	n(%)
ACS anti-Sulfátidos	Negativo	152 (100)	146 (97)
	Positivo	0 (0)	5 (3)

Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: FM, Fibromialgia; ACS, anticuerpos.

No se observaron diferencias significativas en la presencia de ACS anti-gangliósidos (IgG e IgM), al segregar a los pacientes con FM en función de las manifestaciones clínicas de la FM, valoradas mediante los test: FIQ, CV, WPI, COS, CGI, HARS, HDRS y MPQ.

2.1.4. Determinación de otros autoanticuerpos relacionados.

Además, también se estudió la presencia de otros ACS, mediante Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) sobre triple tejido de rata, como ACS anti-células parietales, ACS anti-mitocondriales, ACS anti-músculo liso, ACS anti-reticulina y ACS anti-LKM y los ACS anti-nucleares sobre células HEP-2. Los datos fueron extraídos del informe emitido por la sección de autoinmunidad del servicio de Inmunología del HCUVA. Estos ACS se estudiaron en 153 pacientes y 154 controles, obteniéndose los siguientes resultados:

- Se detectó una frecuencia aumentada de individuos con ACS anti-reticulina positivos en el grupo de pacientes respecto al grupo control (6% vs 1%, respectivamente), aunque dicho aumento no alcanzó la significación estadística. (tabla 20).
- Para el resto de ACS estudiados, no se encontraron diferencias significativas entre el grupo de pacientes y el grupo control (tabla 20).

Tabla 20: Presencia o ausencia de ACS en pacientes con FM y controles sanos.

ACS		Control	Pacientes Con FM
		N=153 n(%)	N=154 n(%)
ACS Anti- C. Parietales	Negativo	149 (97)	148 (96)
	Positivo	4 (3)	6 (4)
ACS Anti-mitocondriales	Negativo	152 (99)	154 (100)
	Positivo	1 (1)	0 (0)
ACS Anti-musculoliso	Negativo	148 (98)	151 (98)
	Positivo	3 (2)	3 (2)
Acs anti-nucleares	Negativo	144 (94)	147 (95)
	Positivo	9 (6)	7 (5)
ACS Anti LKM	Negativo	153 (100)	154 (100)
	Positivo	0 (0)	0 (0)
ACS Anti-reticulina	Negativo	151 (99)	145 (94)
	Positivo	2 (1)	9 (6)

Los valores de *p* fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: FM, Fibromialgia. ACS autoanticuerpos.

No se observaron diferencias significativas en la presencia de estos ACS, al segregar a los pacientes con FM en función de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, valoradas mediante los test: FIQ, CV, WPI, COS, CGI, HARS, HDRS y MPQ (Datos no mostrados).

2.2. OBJETIVO 2. Determinación de niveles séricos de citoquinas pro- y anti-inflamatorias y polimorfismo de citoquinas.

2.2.1. Cuantificación sérica de citoquinas pro- y anti-inflamatorias por Luminex y ELISA.

Se estudiaron los niveles séricos de las siguientes citoquinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias: IL-1 , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17 , INF- , TNF y TGF- . Los resultados de este estudio mostraron unos niveles similares en el grupo de pacientes con FM y el grupo control (figura 49)

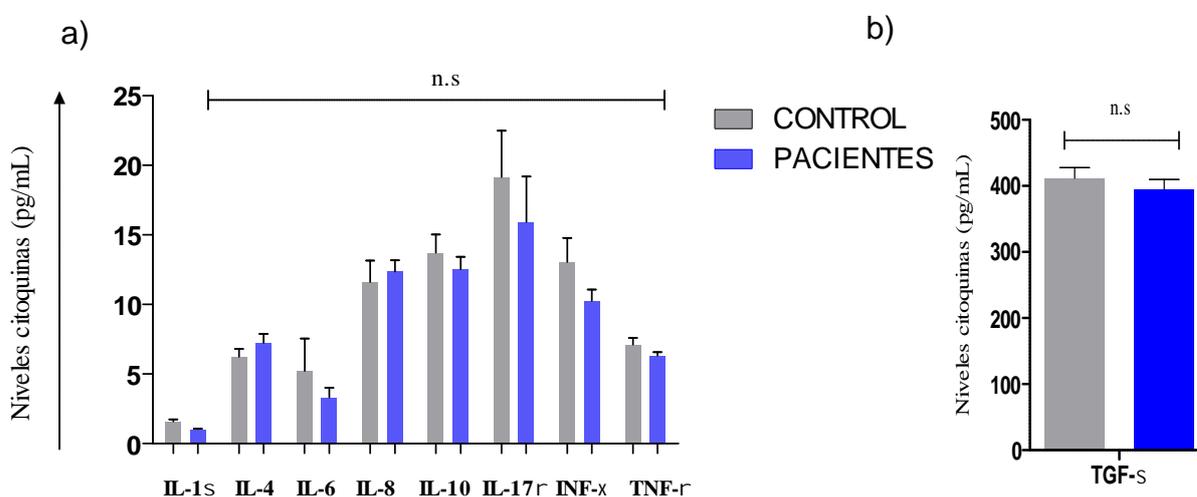


Figura 49. Niveles de citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias en el suero de pacientes con FM tipo I y controles sanos. a) Niveles de citoquinas: IL-1 , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17 , INF- e TNF- , expresados en pg/mL, b) Representación de los niveles de los niveles de TGF- expresados en pg/ml. Pacientes (n=156) y controles (n= 63). Los niveles se representan como la media \pm SEM. Los valores de p fueron determinados mediante prueba T de Student.

2.2.2. Análisis de polimorfismos genotípicos de citoquinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias.

Se analizó la frecuencia de los polimorfismos de los genes de las citoquinas pro-inflamatorias, IL1 (rs1143634 y rs16944), IL-6 (rs1800795), IL-8 (rs4073), IL-17A (rs2275913), IFN (rs2430561), TNF (rs1800629) y de las citoquinas anti-inflamatorias: IL-10 (rs 1800896, rs1800871 y rs1800872) y TGF 1 (rs1800469 y rs1800470), en el grupo de pacientes con FM y el grupo control. Los resultados de

dicho análisis no revelaron diferencias significativas en la frecuencia de los distintos SNP_s de las citoquinas estudiadas entre el grupo de pacientes con FM y el grupo control (tabla 21).

Tabla 21. Frecuencia genotípica de los SNPs y del VNTR de los genes de las citoquinas estudiadas en pacientes con FM

Polimorfismos de citoquinas			Control	Pacientes con FM
			N=152 n (%)	N= 153 n (%)
IL-1	rs1143634	GG	58 (38)	58 (38)
		GA	76 (50)	76 (50)
		AA	18 (12)	19 (12)
	rs16944	GG	12 (8)	18 (12)
		GA	73 (48)	79 (51)
		AA	67 (44)	56 (37)
IL-6	rs1800795	CC	42 (28)	47 (31)
		CG	61 (40)	62 (40)
		GG	49 (32)	44 (29)
IL-8	rs4073	AA	32 (21)	33 (22)
		AT	81 (53)	69 (45)
		TT	39 (26)	51 (33)
IL-17	rs2275913	AA	15 (10)	13 (9)
		AG	69 (45)	72 (47)
		GG	68 (45)	67 (44)
IFN	rs2430561	AA	32 (21)	30 (20)
		AT	64 (42)	71 (46)
		TT	56 (37)	52 (34)
TNF-	rs1800629	AA	1 (1)	2 (1)
		AG	31 (20)	37(24)
		GG	120 (79)	113 (34)
IL-4	VNTR	2R/2R	4 (3)	2 (1)
		3R/2R	35 (23)	41 (28)
		3R/3R	112 (74)	106 (71)
IL-10	rs1800896	TT	57 (38)	65 (43)
		TC	73 (48)	60 (39)
		CC	22 (14)	27 (18)
	rs1800871	AA	87 (57)	83 (54)
		AG	60 (40)	57 (37)
		GG	5 (3)	13 (9)
rs1800872	TT	5 (3)	13 (9)	
	TC	61 (40)	57 (37)	
	CC	86 (57)	83 (54)	
TGF 1	rs1800470	AA	51 (34)	52 (34)
		AG	83 (54)	73 (48)
		GG	18 (12)	28 (18)
	rs1800469	AA	51 (34)	52 (34)
		AG	83 (54)	73 (48)
		GG	18 (12)	28 (18)

Abreviaturas: FM, Fibromialgia. El valor de *p* fue determinado mediante el test exacto de Fisher bilateral

El estudio de la frecuencia de los SNPs de las citoquinas estudiadas dentro del grupo de pacientes con FM segregados en función de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, evaluadas mediante los test: FIQ, CV WPI, COS ,GCI HARS, HDRS y MPQ mostró los siguientes resultados:

Citoquinas pro-inflamatorias:

- **IL-1 .**

Se observó una frecuencia aumentada del genotipo heterocigoto GA del SNP rs16944 del gen de la IL-1 , en el grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad mínima o moderada, según el test FIQ, respecto al grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad grave o muy grave (82% vs 48% ; $p=0.009$; $p_c=0.027$, OR= 0.198, IC 95% (0.05-0.72)) por el contrario, el genotipo homocigoto AA del SNP rs16944 del gen IL-1 , se encontró más representado en el grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad grave o muy grave, según test FIQ, con respecto al grupo de pacientes con una manifestación mínima a moderada de la enfermedad, (39% vs 6%; $p=0.006$, $p_c=0.018$, OR= 10.462, IC 95% (1.346-81.336)).

Asimismo, el genotipo homocigoto GG del SNP rs1143634 del gen de la IL-1 , presenta una frecuencia incrementada en el grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad normal, dudosa o leve, según la escala CGI, respecto al grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad de moderada a grave (42 % vs 31%), aunque esta diferencia no consiguió alcanzar la significación estadística. Por el contrario se observó que la frecuencia del genotipo homocigoto AA del SNP rs1143634, fue mayor en el grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad de moderada a grave, según la escala CGI, respecto al grupo de pacientes con una manifestación normal, dudosa o leve (22% vs 7%; $p=0,014$; $p_c=0.042$ OR=3.805; I.C.95%= 1.4-10,6) (tabla 22).

Tabla 22. Frecuencia genotípica de los SNPs del gen de la IL-1 en pacientes con FM segregados según las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Polimorfismos de IL-1		Test FIQ		Test CV		Test WPI		Test COS	
		0-50 N=17 n(%)	>50 N=129 n(%)	0-106 N=42 n(%)	107-159 N=108 n(%)	0-12 N=57 n(%)	13 N=96 n(%)	0-47 N=44 n(%)	48 N=52 n(%)
rs1143634	GG	7 (41)	47 (36)	14 (33)	44 (41)	18 (31)	40 (42)	19 (43)	19 (36)
	GA	7 (41)	64 (50)	22 (52)	52 (48)	32 (56)	44 (46)	22 (50)	25 (48)
	AA	3 (18)	18 (14)	6 (14)	12 (11)	7 (12)	12 (12)	3 (7)	8 (15)
rs16944	GG	2 (12)	16 (12)	4 (9)	14 (13)	6 (10)	12 (12)	8 (18)	4 (8)
	GA	14 (82)	62 (48)^a	24 (57)	53 (49)	28 (49)	51 (53)	24 (54)	28 (54)
	AA	1 (6)	51 (39)^b	14 (33)	41 (38)	23 (40)	33 (34)	12 (27)	20 (38)

Polimorfismos de IL-1		Test GCI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ	
		N/L N=99 n(%)	M/G N=49 n(%)	0-24 N=81 n(%)	25 N=69 n(%)	0-18 N=78 n(%)	19 N=72 n(%)	0-18 N=80 n(%)	19 N=73 n(%)
rs1143634	GG	42 (42)	15 (31)	32 (39)	26 (38)	28 (36)	30 (42)	30 (37)	28 (38)
	GA	50 (50)	23 (47)	41 (51)	33 (48)	42 (54)	32 (44)	39 (49)	37 (51)
	AA	7 (7)	11 (22)^c	8 (10)	10 (14)	8 (10)	10 (14)	11 (14)	8 (11)
rs16944	GG	13 (13)	5 (10)	10 (12)	8 (12)	8 (10)	10 (14)	8 (10)	10 (14)
	GA	49 (49)	27 (55)	43 (53)	35 (51)	42 (54)	36 (50)	41 (51)	38 (52)
	AA	37 (37)	17 (35)	28 (35)	26 (38)	28 (36)	26 (36)	31 (39)	25 (34)

^a Test FIQ 0-50 vs. >50; (p=0.009, pc=0.018; OR=0.198; IC 95% (0.05-0.72); ^b Test FIQ 0-50 vs. >50; (p=0.006; pc=0.018; OR=10.462; IC 95% (1.346-81.336); ^c Test GCI N/L vs. M/G (p=0.014; pc=0.042; OR=3.805; IC 95%=1.4-10.6). Los valores de *p* fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G, Moderado/Grave.

- IL-6.

El estudio del SNP rs1800795 del gen de la IL-6, reveló un incremento del genotipo homocigoto GG en el grupo de pacientes con puntuación inferior o igual a 13, según el test WIP, respecto al grupo de pacientes con puntuación mayor o igual a 13 (40% vs 22%, p=0.017, pc >0.05, OR=0.414, IC= (0.202-0.848). También mostró un incremento del genotipo homocigoto GG en el grupo de pacientes sin ansiedad, ansiedad leve, media-moderada, según el test HARS, frente al grupo de pacientes con ansiedad severa o grave, (37% vs 19, p=0.018, pc >0.05, OR=0.395, IC=(0.186-0.838). Además se observó un incremento de la frecuencia del genotipo homocigoto CC en el grupo de pacientes con depresión severa o muy severa, según test HDRS, frente al grupo de pacientes sin depresión, depresión menor o moderada. (40% vs 22%, p=0.021, pc>0.05, OR=2.420, IC= (1.184-4.945), (tabla 23).

Tabla 23. Frecuencia genotípica de los SNPs del gen de la IL-6 en pacientes con FM segregados según las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Polimorfismos de IL-6		Test FIQ		Test CV		Test WPI		Test COS	
		0-50	>50	0-106	107-159	0-12	13	0-47	48
		N=17 n(%)	N=129 n(%)	N=42 n(%)	N=108 n(%)	N=57 n(%)	N=96 n(%)	N=44 n(%)	N=52 n(%)
rs1800795	CC	5 (29)	42 (33)	15 (36)	31 (29)	13 (23)	34 (35)	9 (20)	15 (29)
	CG	8 (47)	52 (40)	13 (31)	47 (43)	21 (37)	41 (43)	14 (32)	21 (40)
	GG	4 (24)	35 (27)	14 (33)	30 (28)	23 (40)	21 (22)^a	21 (48)	16 (31)
Polimorfismos de IL-6		Test GCI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ	
		N/L	M/G	0-24	25	0-18	19	0-18	19
		N=99 n(%)	N=49 n(%)	N=81 n(%)	N=69 n(%)	N=78 n(%)	N=72 n(%)	N=80 n(%)	N=73 n(%)
rs1800795	CC	30 (30)	16 (33)	22 (27)	24 (35)	17 (22)	29 (40)^c	23 (29)	24 (33)
	CG	41 (42)	19 (39)	29 (36)	32 (46)	34 (43)	27 (38)	31 (39)	31 (42)
	GG	28 (28)	14 (28)	30 (37)	13 (19)^b	27 (35)	16 (22)	26 (32)	18 (25)

^a Test WPI 0-12 vs >12 (p=0.017, pc>0.05; OR=0.414, IC=(0.202-0.848)); ^b Test HARS, 0-24 vs. 25 (p=0.018, pc>0.05; OR=0.395, IC=(0.186-0.838)); ^c test HDRS, 0-18 vs 19 (p=0.021, pc>0.05; OR=2.420, IC=(1.184-4.945)). Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G, Moderado/Grave.

- IL-8.

No se encontraron diferencias significativas en la distribución de los genotipos de los SNPs de los genes de las citoquinas IL-8, en los diferentes grupos de pacientes con FM segregados en función de las características clínicas de la FM (tabla 24).

Tabla 24. Frecuencia genotípica de los SNPs del gen de la IL-8 en pacientes con FM segregados según las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Polimorfismos de IL-8		Test FIQ		Test CV		Test WPI		Test COS	
		0-50	>50	0-106	107-159	0-12	13	0-47	48
		N=17 n(%)	N=129 n(%)	N=42 n(%)	N=108 n(%)	N=57 n(%)	N=96 n(%)	N=44 n(%)	N=52 n(%)
rs184073	AA	5 (29)	25 (19)	10 (24)	22 (20)	14 (25)	19 (20)	11 (25)	10 (20)
	AT	9 (53)	57 (44)	22 (52)	47 (44)	26 (45)	43 (45)	18 (41)	21 (40)
	TT	3 (18)	47 (37)	10 (24)	39 (36)	17 (30)	34 (35)	15 (34)	21 (40)
Polimorfismos de IL-8		Test GCI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ	
		N/L	M/G	0-24	25	0-18	18	0-18	19
		N=99 n(%)	N=49 n(%)	N=81 n(%)	N=69 n(%)	N=78 n(%)	N=72 n(%)	N=80 n(%)	N=73 n(%)
rs184073	AA	24 (24)	7 (14)	21 (26)	11 (16)	18 (23)	14 (20)	19 (24)	14 (19)
	AT	42 (43)	27 (55)	36 (44)	33 (48)	35 (45)	34 (47)	35 (44)	34 (47)
	TT	33 (33)	15 (31)	24 (30)	25 (36)	25 (32)	24 (33)	26 (32)	25 (34)

Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G, Moderado/Grave.

- IL-17 .

El estudio del SNP rs2275913 del gen de la IL-17 , mostró un incremento de la frecuencia del genotipo homocigoto AA en el grupo de pacientes con ansiedad severa o grave, según el test HARS, respecto al grupo de pacientes sin ansiedad o con formas de ansiedad leve, media o moderada. (14 % vs 4, p=0.038, pc= >0.05, OR=4.350, I.C.= (1.146-16.515), (tabla 25).

Tabla 25. Frecuencia genotípica de los SNPs del gen de la IL-17 en pacientes con FM segregados segun las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Polimorfismos de IL-17	Test FIQ		Test CV		Test WPI		Test COS	
	0-50	>50	0-106	107-159	0-12	13	0-47	48
	N=17 n(%)	N=128 n(%)	N=42 n(%)	N=107 n(%)	N=57 n(%)	N=95 n(%)	N=44 n(%)	N=52 n(%)
rs2275913 AA	2 (12)	11 (9)	3 (7)	10 (9)	3 (5)	10 (11)	2 (4)	3 (6)
AG	8 (47)	62 (48)	23 (55)	47 (44)	29 (51)	43 (45)	24 (55)	23 (44)
GG	7 (41)	55 (43)	16 (38)	50 (47)	25 (44)	42 (44)	18 (41)	26 (50)

Polimorfismos de IL-17	Test GCI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ	
	N/L	M/G	0-24	25	0-18	19	0-18	19
	N=98 n(%)	N=49 n(%)	N=80 n(%)	N=69 n(%)	N=77 n(%)	N=72 n(%)	N=80 n(%)	N=72 n(%)
rs2275913 AA	7 (7)	6 (12)	3 (4)	10 (14) ^a	6 (8)	7 (10)	4 (5)	9 (12)
AG	49 (50)	21 (43)	42 (52)	28 (41)	39 (50)	31 (43)	39 (49)	33 (46)
GG	42 (43)	22 (45)	35 (44)	31 (45)	32 (42)	34 (47)	37 (46)	30 (42)

^aTest HARS 0.24 vs. 25; p=0.038, pc>0.05; OR=4.350,I.C.=(1.146-16.515). Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G, Moderado/Grave.

- INF- .

Al estudiar el SNP rs2430561 del gen del IFN- , se observó un incremento de la frecuencia del genotipo homocigoto AA en el grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad mínima o moderada, según el test FIQ, respecto al grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad grave o muy grave (41% vs 15%, p=0.018, pc>0.05, OR= 0.262, IC 95% (0.089-0.770). Por el contrario, el genotipo heterocigoto AT, se encontró más representado en el grupo de pacientes con manifestación de la enfermedad grave o muy grave, según test FIQ, con respecto al grupo de pacientes con una manifestación mínima a moderada de la enfermedad,

(50% vs 23% ; $p=0.042$, $pc>0.05$, $OR= 3.301$, $IC 95\%$ (1.022-10.663). Además, se observó un incremento de la frecuencia del genotipo homocigoto TT en el grupo de pacientes con puntuación inferior o igual a 18, según la puntuación del test MPQ, respecto al grupo de pacientes con puntuación superior a 18. (42 % vs 26, $p=0.041$, $pc>0.05$, $OR=2.074$), I.C. (1.050-4.096)), (tabla 26).

Tabla 26. Frecuencia genotípica de los SNPs del gen de la IFN- en pacientes con FM segregados según las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Polimorfismos de IFN-	Test FIQ		Test CV		Test WPI		Test COS		
	0-50	>50	0-106	107-159	0-12	13	0-47	48	
	N=17 n(%)	N=129 n(%)	N=42 n(%)	N=108 n(%)	N=57 n(%)	N=96 n(%)	N=44 n(%)	N=52 n(%)	
rs2430561	AA	7 (41)	20 (16) ^a	8 (19)	20 (19)	14 (25)	16 (17)	10 (23)	9 (17)
	AT	4 (24)	65 (50) ^b	20 (48)	51 (47)	22 (38)	49 (51)	22 (50)	23 (44)
	TT	6 (35)	44 (34)	14 (33)	37 (34)	21 (37)	31 (32)	12 (27)	20 (39)
Polimorfismos de IFN-	Test GCI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ		
	N/L	M/G	0-24	25	0-18	19	0-18	19	
	N=99 n(%)	N=49 n(%)	N=81 n(%)	N=69 n(%)	N=78 n(%)	N=72 n(%)	N=80 n(%)	N=73 n(%)	
rs2430561	AA	22 (22)	8 (16)	14 (17)	16 (23)	18 (24)	12 (17)	16 (20)	14 (19)
	AT	42 (43)	27 (55)	36 (45)	33 (48)	30 (38)	39 (54)	43 (54)	28 (38)
	TT	35 (35)	14 (29)	31 (38)	20 (29)	30 (38)	21 (29)	21 (26)	31 (43) ^c

^a Test FIQ 0-50 vs >50 $p=0.018$, $pc>0.05$; $OR=0.262$, $IC=(0.089-0.770)$, ^b Test FIQ 0-50 vs >50 ; $p=0.042$, $pc>0.05$; $OR=3.301$, $IC=(1.022-10.663)$. ^c Test MPQ 0-18 vs 19; $p=0.041$, $pc>0.05$; $OR=2.074$, $IC=(1.050-4.096)$. Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G, Moderado/Grave.

- TNF- .

El estudio del SNPs rs1800470 del gen del TNF- , mostró un incremento de la frecuencia del genotipo heterocigoto AG en el grupo de pacientes con puntuación inferior o igual a 13, según el test WIP, respecto al grupo de pacientes con puntuación mayor o igual a 13 (35% vs 18%; $p=0.020$, $pc>0.5$, $OR=0.403$, $IC=(0.189-0.858)$, (tabla 27).

Tabla 27. Frecuencia genotípica de los SNPs del gen de la TNF- en pacientes con FM segregados según las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Polimorfismos de TNF-	Test FIQ		Test CV		Test WPI		Test COS		
	0-50	>50	0-106	107-159	0-12	13	0-47	48	
	N=17 n(%)	N=128 n(%)	N=42 n(%)	N=107 n(%)	N=57 n(%)	N=95 n(%)	N=44 n(%)	N=52 n(%)	
rs1800629	AA	0 (0)	2 (2)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	2 (2)	1 (2)	0 (0)
	AG	7 (41)	28 (22)	14 (33)	23 (21)	20 (35)	17 (18)^a	12 (27)	14 (27)
	GG	10 (59)	98 (76)	28 (67)	82 (77)	37 (65)	76 (80)	31 (71)	38 (73)
Polimorfismos de TNF-	Test GCI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ		
	N/L	M/G	0-24	25	0-18	19	0-18	19	
	N=98 n(%)	N=49 n(%)	N=80 n(%)	N=69 n(%)	N=77 n(%)	N=72 n(%)	N=80 n(%)	N=72 n(%)	
rs1800629	AA	2 (2)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (2)	1 (1)	1 (1)
	AG	25 (26)	10 (20)	22 (28)	13 (19)	19 (25)	16 (22)	17 (21)	20 (28)
	GG	71 (72)	39 (80)	57 (71)	55 (80)	57 (74)	55 (76)	62 (78)	51 (71)

^a Test WPI 0-12 vs 13; $p=0.020$, $pc>0.05$; $OR=0.403$, $IC=(0.189-0.858)$. Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G, Moderado/Grave.

Citoquinas anti-inflamatorias:

- IL-4.

El estudio de polimorfismos del gen de la IL-4 mostró una frecuencia aumentada del genotipo heterocigoto 3R/2R del SNP VNTR, en el grupo de pacientes con una manifestación leve según el test de Calidad de Vida, respecto al grupo de pacientes con una manifestación moderada a grave (45 % vs 22%; $p=0.007$, $pc=0.021$, $OR=0.339$; $IC\ 95\%=0.156-0.735$). Además, este estudio reveló una frecuencia aumentada del genotipo homocigoto 3R/3R del SNP VNTR del gen de la IL-4, en el grupo de pacientes con una manifestación moderada a grave según el test de Calidad de vida, respecto al grupo de pacientes con una manifestación leve (77 % vs 52%; $p=0.005$; $pc=0.015$, $OR=3.091$; $IC\ 95\%=1.432-6.673$), (tabla 28).

Tabla 28. Frecuencia genotípica de los SNPs del gen de la IL-4 en pacientes con FM segregados según las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Polimorfismos de IL-4	Test FIQ		Test CV		Test WPI		Test COS		
	0-50	>50	0-106	107-159	0-12	13	0-47	48	
	N=16 n(%)	N=126 n(%)	N=40 n(%)	N=106 n(%)	N=55 n(%)	N=94 n(%)	N=43 n(%)	N=51 n(%)	
VNTR	2R/2R	0 (0)	2 (2)	1 (2)	1 (1)	1 (2)	1 (1)	0 (0)	1 (2)
	3R/2R	5 (31)	33 (26)	18 (45)	23 (22) ^a	17 (31)	24 (26)	13 (30)	12 (24)
	3R/3R	11 (69)	91 (72)	21 (53)	82 (77) ^b	37 (67)	69 (73)	30 (70)	38 (74)

Polimorfismos de IL-4	Test GCI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ		
	N/L	M/G	0-24	25	0-18	19	0-18	19	
	N=96 n(%)	N=48 n(%)	N=79 n(%)	N=67 n(%)	N=76 n(%)	N=70 n(%)	N=79 n(%)	N=70 n(%)	
VNTR	2R/2R	1 (1)	1 (2)	1 (1)	1 (2)	1 (1)	1 (1)	2 (3)	0 (0)
	3R/2R	29 (30)	9 (19)	26 (33)	13 (19)	24 (32)	15 (22)	23 (29)	18 (26)
	3R/3R	66 (69)	38 (79)	52 (66)	53 (79)	51 (67)	54 (77)	54 (68)	52 (74)

^a Test CV 0-106 vs. 107-159 ($p=0.007$; $pc=0.021$, $OR=0.339$; $IC\ 95\%=0.156-0.735$); ^b Test CV 0-106 vs. 107-159 ($p=0.005$; $pc=0.015$; $OR=3.091$; $IC\ 95\% (1.432-6.673)$). Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G, Moderado/Grave.

- IL-10.

No se encontraron diferencias significativas en la distribución de los genotipos de los SNPs de los genes de las citoquinas IL-10, en los diferentes grupos de pacientes con FM segregados en función de las características clínicas de la FM (tablas 29).

Tabla 29. Frecuencia genotípica de los SNPs del gen de la IL- 10 en pacientes con FM segregados según las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Polimorfismos de IL-10		Test FIQ		Test CV		Test WPI		Test COS	
		0-50	>50	0-106	107-159	0-12	13	0-47	48
		N=17 n(%)	N=129 n(%)	N=42 n(%)	N=108 n(%)	N=57 n(%)	N=95 n(%)	N=44 n(%)	N=52 n(%)
rs1800896	TT	8 (47)	54 (42)	20 (48)	44 (41)	20 (35)	45 (47)	20 (46)	20 (39)
	TC	4 (24)	54 (42)	15 (36)	44 (41)	24 (42)	36 (38)	16 (36)	21(40)
	CC	5 (29)	20 (16)	7 (16)	19 (18)	13 (23)	14 (15)	8 (18)	11 (21)
rs1800871	AA	13 (76)	67 (52)	22 (52)	60 (56)	31 (55)	52 (55)	20 (46)	28 (54)
	AG	3 (18)	50 (39)	17 (41)	39 (36)	23 (40)	34 (35)	23 (52)	20 (38)
	GG	1 (6)	12 (9)	3 (7)	9 (8)	3 (5)	10 (10)	1 (2)	4 (8)
rs1800872	TT	1 (6)	12 (9)	3 (7)	9 (8)	3 (5)	10 (10)	1 (2)	4 (8)
	TC	3 (18)	50 (39)	17 (41)	39 (36)	23 (40)	34 (35)	23 (52)	20 (38)
	CC	13 (76)	67 (52)	22 (52)	60 (56)	31 (55)	52 (55)	20 (46)	28 (54)
Polimorfismos de IL-10		Test GCI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ	
		N/L	M/G	0-24	25	0-18	19	0-18	19
		N=99 n(%)	N=49 n(%)	N=81 n(%)	N=69 n(%)	N=78 n(%)	N=72 n(%)	N=80 n(%)	N=73 n(%)
rs1800896	TT	45 (46)	17 (35)	37 (46)	26 (38)	37 (48)	26 (36)	40 (50)	25 (35)
	TC	38 (39)	21 (43)	31 (39)	28 (40)	29 (38)	30 (42)	28 (35)	32(44)
	CC	15 (15)	11 (22)	12 (15)	15 (22)	11 (14)	16 (22)	12 (15)	15 (21)
rs1800871	AA	52 (53)	28 (57)	42 (52)	40 (58)	40 (51)	42 (58)	40 (50)	43 (59)
	AG	40 (40)	16 (33)	33 (41)	23 (33)	32 (41)	24 (33)	32 (40)	25 (34)
	GG	7 (7)	5 (10)	6 (7)	6 (9)	6 (8)	7 (8)	8 (10)	5 (7)
rs1800872	TT	7 (7)	5 (10)	6 (7)	6 (9)	6 (8)	7 (8)	8 (10)	5 (7)
	TC	40 (40)	16 (33)	33 (41)	23 (33)	32 (41)	24 (33)	32 (40)	25 (34)
	CC	52 (53)	28 (57)	42 (52)	40 (58)	40 (51)	42 (58)	40 (50)	43 (59)

Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; Moderado/Grave.

• TGF- .

El estudio del SNPs rs1800470 del gen del TGF , mostró un incremento de la frecuencia del genotipo homocigoto AA en el grupo de pacientes con afectación leve en la calidad de vida, según test calidad de vida, con respecto al grupo de pacientes con afectación moderada a grave (50 % vs 29%; $p=0.021$, $pc>0.05$, $OR=0.430$, I.C.= (0.193-0.839). Por el contrario se observó un incremento de la frecuencia del genotipo homocigoto GG en el grupo de pacientes con afectación moderada a grave en la calidad de vida, según test calidad de vida, con respecto al grupo de pacientes con afectación leve (21% vs 9%; $p=0.021$, $pc>0.05$, $OR=2.484$, I.C.=(1.191-5.178).

En lo que respecta al estudio del SNPs rs1800469 del gen del TGF , se observó un incremento de la frecuencia del genotipo homocigoto GG en el grupo de pacientes con afectación leve en la calidad de vida, según test calidad de vida, con respecto al grupo de pacientes con afectación moderada a grave (59% vs 36%; $p=0.011$, $pc=0.033$, $OR=2.602$, $IC=(1.253-5.402)$). Además, se observó un incremento de la frecuencia del genotipo heterocigoto AG en el grupo de pacientes con ansiedad severa o grave, según test HARS, respecto al grupo de pacientes sin ansiedad o con ansiedad leve, media o moderada (59 % vs 37%; $p=0.009$, $pc=0.027$, $OR=2.489$, $IC=(1.288-4.811)$). Contrariamente se observó un incremento de la frecuencia del genotipo homocigoto GG en el grupo de pacientes sin ansiedad o con ansiedad leve, media o moderada, según test HARS, respecto al grupo de pacientes con ansiedad severa o grave (51% vs 32%; $p=0.031$, $pc>0.5$, $OR=0.457$, $IC=(0.234-0.89)$) (tabla 30).

Tabla 30. Frecuencia genotípica de los SNPs del gen de la TGF- en pacientes con FM segregados según las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Polimorfismos de TGF-		Test FIQ		Test CV		Test WPI		Test COS	
		0-50	>50	0.106	107-159	0.12	13	0-47	48
		N=17 n(%)	N=129 n(%)	N=42 n(%)	N=108 n(%)	N=57 n(%)	N=96 n(%)	N=44 n(%)	N=52 n(%)
rs1800470	AA	4 (23)	43 (33)	21 (50)	31 (29)^a	19 (33)	33 (34)	18 (41)	18 (35)
	AG	11 (65)	60 (47)	17 (41)	54 (50)	26 (46)	47 (49)	19 (43)	22 (42)
	GG	2 (12)	26 (20)	4 (9)	23 (21)^b	12 (21)	16 (17)	7 (16)	12 (23)
rs1800469	AA	0 (0)	16 (12)	2 (5)	13 (12)	7 (12)	9 (9)	4 (9)	7 (14)
	AG	11 (65)	60 (47)	15 (36)	56 (52)	26 (46)	47 (49)	16 (36)	24 (46)
	GG	6 (35)	53 (41)	25 (59)	39 (36)^c	24 (42)	40 (42)	24 (55)	21 (40)
Polimorfismos de TGF-		Test GCI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ	
		N/L	M/G	0-24	25	0-18	19	0-18	19
		N=99 n(%)	N=49 n(%)	N=81 n(%)	N=69 n(%)	N=78 n(%)	N=72 n(%)	N=80 n(%)	N=73 n(%)
rs1800470	AA	34 (34)	16 (33)	33 (41)	18 (26)	24 (31)	27 (37)	29 (36)	23 (32)
	AG	48 (49)	22 (45)	34 (42)	37 (54)	38 (49)	33 (46)	40 (50)	33 (45)
	GG	17 (17)	11 (22)	14 (17)	14 (20)	16 (20)	12 (17)	11 (14)	17 (23)
rs1800469	AA	12 (12)	4 (8)	10 (12)	6 (9)	11 (14)	5 (7)	6 (7)	10 (14)
	AG	43 (43)	27 (55)	30 (37)	41 (59)^d	35 (45)	36 (50)	39 (49)	34 (46)
	GG	44 (45)	18 (37)	41 (51)	22 (32)^e	32 (41)	31 (43)	35 (44)	29 (40)

^a Test CV 0-106 vs. 107-159, $p=0.021$, $pc>0.05$; $OR=0.403$, $IC=(0.193-0.839)$; ^b Test CV 0-106 vs. 107-159; $p=0.021$, $pc>0.05$; $OR=2.484$, $I.C.=(1.191-5.178)$; ^c Test CV 0-106 vs. 107-159; $p=0.011$, $pc=0.033$; $OR=0.384$, $IC=(0.185-0.798)$; ^d Test HARS 0.-24 vs. 25; $p=0.009$, $pc=0.027$; $OR=2.489$, $IC=(1.288-4.811)$; ^e Test HARS 0.-24 vs. 25; ($p=0.031$, $pc>0.05$; $OR=0.457$, $IC=(0.234-0.89)$). Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G, Moderado/Grave.

2.3. OBJETIVO 3: Determinación de polimorfismos HLA/KIR.

2.3.1. Polimorfismo de los genes HLA en pacientes con Fibromialgia.

El estudio genético del polimorfismo de los genes HLA se realizó en un total de 148 pacientes con diagnóstico de FM y 147 controles compatibles en edad y sexo y procedentes de la misma área geográfica.

Los alelos del locus HLA-A más representados en el grupo de controles sanos y en el grupo de pacientes fueron el A*02 (42% y 37%, respectivamente), A*01 (24% y 20%, respectivamente), A*03 (18% y 16%, respectivamente), y A*24 (15% y 18%, respectivamente), mientras que los alelos A*34 (1% y 0%, respectivamente), A*69 (0% y 1%, respectivamente) y A*80 (0% y 1%, respectivamente), fueron los menos representados, (tabla 31). Para el locus HLA-B los alelos más frecuentes fueron el B*44 (25% y 25%, respectivamente), B*07 (17% y 18%, respectivamente), B*18 (18% y 13%, respectivamente), B*35 (14% y 14%, respectivamente) y B*51 (14% y 12%, respectivamente), y los menos frecuentes fueron el B*47 (1% y 1%, respectivamente), el B*67 (0% y 1%, respectivamente) y el B*73 (0% y 1%, respectivamente), (tabla 32). Para el locus HLA-C los alelos más representados en el grupo de controles sanos y pacientes fueron el HLA-C*07 (42% y 47%, respectivamente), HLA-C*04 (19% y 20%, respectivamente), y el HLA-C*12 (16% y 21%, respectivamente) y los menos representados fueron el C*14 (3% y 2%, respectivamente) y el C*16:02 (3% y 2%, respectivamente), (tabla 33). Finalmente, para el locus HLA-DR, los alelos DRB1*13 (27% y 30%, respectivamente), DRB1*15 (20% y 28%, respectivamente) fueron los más representados, mientras que el DRB1*09 (2% y 1%, respectivamente) y el DRB1*10 (2% y 1%, respectivamente) fueron los menos representados en el grupo control y en el grupo de pacientes con FM (tabla 34).

Por otra parte, el análisis de la frecuencia de los alelos del locus HLA-A (Tabla 31), HLA-B (Tabla 32) y HLA-C (Tabla 33), no mostró diferencias significativas entre el grupo de pacientes y el grupo control. Sin embargo, se observó que el alelo HLA-DR*04 (Tabla 34) estaba significativamente menos representado en el grupo de pacientes que en el grupo control (14% vs 30%; $p=0.001$, $pc=0.048$).

Tabla 31. Frecuencia de los alelos del gen HLA-A en pacientes con FM. y controles.

HLA-A	Controles	Pacientes con FM
	N=147 n (%)	N=148 n (%)
A*01	36 (24)	30(20)
A*02	61 (42)	54 (37)
A*03	26 (18)	24 (16)
A*11	13(9)	18 (12)
A*23	7(5)	10 (7)
A*24	22(15)	27(18)
A*25	7 (5)	5(3)
A*26	16 (11)	10(7)
A*29	20 (14)	23 (16)
A*30	20 (14)	17 (12)
A*31	7(5)	7 (5)
A*32	7(5)	17 (12)
A*33	12(8)	11(7)
A*34	2 (1)	0(0)
A*66	3(2)	4 (3)
A*68	18(12)	13 (9)
A*69	0(0)	1(1)
A*80	0(0)	1(1)

Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. No se han encontrado diferencias significativas entre los distintos grupos. Abreviaturas; FM, Fibromialgia

Tabla 32. Frecuencia de los alelos del gen HLA-B en pacientes con FM y controles.

HLA- B	Controles	Pacientes con FM
	N=148 n(%)	N=147 n(%)
B*07	25 (17)	27(18)
B*08	17 (12)	20 (14)
B*13	2 (1)	4 (3)
B*14	18(12)	23 (16)
B*15	19 (13)	16 (11)
B*18	27 (18)	19 (13)
B*27	7 (5)	10 (7)
B*35	20 (14)	21 (14)
B*37	1 (1)	4 (3)
B*38	12 (8)	9 (6)
B*39	3 (2)	3 (2)
B*40	11 (7)	10 (7)
B*41	6 (4)	6 (4)
B*42	1 (1)	0(0)
B*44	37 (25)	36 (25)
B*45	9 (6)	4 (3)
B*47	1 (1)	1 (1)
B*49	16 (11)	18 (12)
B*50	6 (4)	4 (3)
B*51	20 (14)	17 (12)
B*52	5 (3)	10 (7)
B*53	5 (3)	6 (4)
B*55	6 (4)	3 (2)
B*56	2 (1)	1 (1)
B*57	5 (3)	7 (5)
B*58	3 (2)	5 (3)
B*67	0(0)	1(1)
B*73	0(0)	1(1)

Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. No se han encontrado diferencias significativas entre los distintos grupos. Abreviaturas; FM. Fibromialgia

Tabla 33. Frecuencia de los alelos del gen HLA-C en pacientes con FM y controles.

HLA- C	Controles	Pacientes con FM
	N=150 n(%)	N=154 n(%)
C*01	6 (4)	10(7)
C*02	12 (8)	17 (11)
C*03	28 (19)	17 (11)
C*04	28 (19)	31 (20)
C*05	29 (19)	19 (12)
C*06	21 (14)	21 (14)
C*07	63 (42)	73 (47)
C*08	20 (13)	24 (16)
C*12	24 (16)	32 (21)
C*14	5 (3)	3 (2)
C*15	8 (5)	16 (10)
C*16:01	21 (14)	21 (14)
C*16:02	5 (3)	3 (2)
C*17	6 (4)	6 (4)

Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. No se han encontrado diferencias significativas entre los distintos grupos. Abreviaturas; FM. Fibromialgia

Tabla 34. Frecuencia de los alelos del gen HLA-A en pacientes con FM y controles.

HLA- DRB1	Controles	Pacientes con FM
	N=153 n(%)	N=153 n(%)
DRB1*01	37 (24)	40(26)
DRB1*03	38 (25)	41 (27)
DRB1*04	46 (30)^a	21 (14)
DRB1*07	39 (26)	40(26)
DRB1*08	8 (5)	10 (7)
DRB1*09	3 (2)	1 (1)
DRB1*10	3 (2)	2 (1)
DRB1*11	29 (19)	29 (19)
DRB1*12	7 (5)	1 (1)
DRB1*13	41 (27)	46 (30)
DRB1*14	11 (7)	6 (4)
DRB1*15	30 (20)	42 (28)
DRB1*16	3 (2)	6 (4)

^a Pacientes FM vs Controles ($p=0.001$; $p_c=0.048$, $OR=0.370$; $IC\ 95\%=0.208-0.658$). Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: FM, Fibromialgia

Posteriormente, se realizó un estudio para comparar la frecuencia de los distintos alelos de los locus HLA-A, -B, -C y -DR, segregando a los pacientes con FM en distintos grupos en función de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, evaluadas mediante los test FIQ, CALIDAD DE VIDA, WPI, COS, GCI, HARS, HDRS y MPQ.

Los resultados de este estudio mostraron una frecuencia incrementada de los alelos HLA A*25 y HLA-A*30 en el grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad mínima o moderada, según el test FIQ, respecto al grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad grave o muy grave (19% vs 1%; $p=0.005$, $pc>0.05$, OR= 0.035, IC 95% (0.003-0.361), y 31 % vs 10%; $p=0.027$; $pc>0.05$, OR= 0.234, IC 95% (0.069-0.786), respectivamente), (tabla 35a).

Además, el estudio reveló un incremento de la frecuencia de los alelos HLA A*23 y HLA A*33 en el grupo de pacientes sin depresión, depresión menor o moderada, según test HDRS, frente al grupo de pacientes con depresión severa o muy severa, (12 % vs 1%; $p=0.020$; $pc>0.05$, OR= 0.113, IC 95% (0.014-0.915), y 12 % vs 1%; $p=0.020$, $pc>0.05$, OR= 0.113, IC 95% (0.014-0.915), respectivamente), (tabla 35b).

No se encontraron diferencias significativas en la distribución de la frecuencia de los alelos del locus HLA-A en pacientes con FM segregados según los test CV WPI, COS, GCI, HARS y MPQ (tablas 35a y 35b).

Tabla 35. Frecuencia de los alelos del gen HLA-A, en pacientes con FM segregados en función de las manifestaciones clínicas de la FM según los distintos test estudiados.

a)

HLA-A	Test FIQ		Test C. VIDA		Test WPI		Test COS	
	0-50	>50	0-106	107-159	0-12	13	0-47	48
	N=16 n(%)	N=125 n(%)	N=40 n(%)	N=104 n(%)	N=53 n(%)	N=95 n(%)	N=43 n(%)	N=52 n(%)
A*01	3 (19)	29 (23)	9 (22)	27 (26)	13 (24)	23 (24)	13 (30)	14 (27)
A*02	3 (19)	49 (39)	12 (30)	41 (39)	22 (41)	32 (34)	14 (33)	22 (42)
A*03	3 (19)	20 (16)	8 (20)	15 (14)	6 (11)	18 (19)	5 (12)	11 (21)
A*11	3 (19)	14 (11)	5 (12)	13 (12)	8 (15)	10 (10)	6 (14)	6 (11)
A*23	0 (0)	9 (7)	3 (7)	7 (7)	3 (6)	7 (7)	6 (14)	1 (2)
A*24	5 (31)	22 (17)	7 (17)	19 (18)	7 (13)	20 (21)	7 (16)	11 (21)
A*25	3 (19)	1 (1)^a	5 (12)	0 (0)	3 (6)	2 (2)	4 (9)	0 (0)
A*26	1 (6)	8 (6)	3 (7)	7 (7)	6 (11)	4 (4)	1 (2)	4 (2)
A*29	1 (6)	22 (18)	3 (7)	19 (18)	8 (15)	15 (16)	5 (12)	9 (17)
A*30	5 (31)	12 (10)^b	7 (17)	9 (9)	7 (13)	10 (10)	3 (7)	5 (10)
A*31	1 (6)	6 (5)	2 (5)	5 (5)	1 (2)	6 (6)	1 (2)	3 (6)
A*32	1 (6)	16 (13)	3 (7)	13 (12)	5 (9)	12 (13)	8 (19)	5 (10)
A*33	2 (12)	8(6)	3 (7)	8(8)	6 (11)	5 (5)	3 (7)	3 (6)
A*34	2 (12)	0 (0)	2 (5)	0 (0)	2 (4)	0 (0)	2 (5)	0 (0)
A*66	0 (0)	3 (2)	0 (0)	4 (4)	1 (2)	3 (3)	1(2)	1 (2)
A*68	0 (0)	13 (10)	2 (5)	11 (10)	6 (11)	7 (7)	4 (9)	3 (6)
A*69	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (2)	0 (0)
A*80	1 (6)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	1 (2)	0 (0)

b)

HLA-A	Test GCI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ	
	N/L	M/G	0-24	25	0-18	19	0-18	19
	N=97 n(%)	N=46 n(%)	N=79 n(%)	N=67 n(%)	N=77 n(%)	N=68 n(%)	N=78 n(%)	N=70 n(%)
A*01	21 (22)	13 (28)	22 (28)	12 (18)	19 (25)	15 (22)	22 (28)	14 (20)
A*02	34 (35)	19 (41)	24 (30)	30 (45)	26 (34)	28 (41)	26 (33)	28 (40)
A*03	16 (16)	8 (17)	14 (18)	11 (16)	9 (12)	15 (22)	13 (17)	11 (16)
A*11	8 (8)	9 (20)	8 (10)	9 (13)	8 (10)	9 (13)	13 (17)	5 (7)
A*23	9 (9)	1 (2)	7 (9)	3 (4)	9 (12)^c	1 (1)	7 (9)	3 (4)
A*24	22 (23)	5 (11)	16 (20)	11 (16)	15 (19)	12 (18)	13 (17)	14 (20)
A*25	5 (5)	0 (0)	4 (5)	1 (1)	5 (6)	0 (0)	4 (5)	1 (1)
A*26	9 (9)	1 (2)	5 (6)	5 (7)	6 (8)	4 (6)	6 (8)	4 (6)
A*29	12 (12)	9 (20)	10 (13)	11 (16)	10 (13)	11 (16)	11 (14)	12 (17)
A*30	12 (12)	4 (9)	11 (14)	7 (10)	10 (13)	7 (10)	11 (14)	6 (9)
A*31	4 (4)	3 (6)	3 (4)	4 (6)	2 (3)	5 (7)	4 (5)	3 (4)
A*32	12 (12)	4 (9)	10 (13)	7 (10)	9 (12)	8 (12)	5 (6)	12 (17)
A*33	8 (8)	2 (4)	5 (6)	5 (7)	9 (12)^d	1 (1)	7 (9)	4 (6)
A*34	2 (2)	0 (0)	2 (3)	0 (0)	2 (3)	0 (0)	2 (3)	0 (0)
A*66	3 (3)	1 (2)	3 (4)	1 (1)	1(1)	3 (4)	1 (1)	3 (4)
A*68	7 (7)	6 (13)	7 (9)	6 (9)	6 (8)	7 (10)	4 (5)	9 (13)
A*69	0 (0)	1 (2)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
A*80	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)

a) ^a test FIQ >50 vs. 0-50, (p=0.005, pc>0.05, OR=0.035, IC 95%=0.03-0.361); ^b test FIQ >50 vs. 0-50, (p=0.027, pc>0.05, OR=0.237; IC 95% 0.069-0.786). b) ^c test HDRS 0-18 vs. 18, (p=0.020, pc>0.05, OR=0.113, IC 95% 0.14-0.915), ^d test HDRS 0-18 vs. 18, (p=0.020, OR=0.113, IC 95% 0.14-0.915). Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G, Moderado/Grave.

Los resultados del análisis de la frecuencia de los alelos del locus HLA-B revelaron una frecuencia aumentada del alelo HLA B*18 en el grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad mínima o moderada, según el test FIQ, respecto al grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad grave o muy grave (31% vs 10%, $p=0.035$, $pc>0.05$, OR= 0.258, IC= (0.077-0.858).

Por otra parte, al analizar la frecuencia de los alelos del locus HLA-B entre los diferentes grupos de pacientes segregados atendiendo al test Calidad de Vida, se observó que la frecuencia del alelo B*44 era significativamente mayor en el grupo de pacientes con una afectación de moderada a grave en la calidad de vida con respecto al grupo de pacientes con afectación leve (30 % vs 10%; $p=0.016$, $pc>0.05$, OR= 3.822, IC 95%= (1.253-11.657).

También se observó un incremento de la frecuencia del alelo B*38 en el grupo de pacientes con una puntuación inferior o igual a 12, según la puntuación del test WPI, respecto al grupo de pacientes con puntuación igual o superior a 13 (9% vs 0 %; $p=0.027$, $pc>0.05$, OR= 0.623, IC 95% (0.547-0.710).

Al segregar los pacientes atendiendo al test COS se observó que el alelo B*18 estaba más representado en el grupo de pacientes con buena calidad de sueño, respecto al grupo de pacientes con mala calidad del sueño, (19% vs 4 %; $p=0.039$, $pc>0.05$, OR= 0.173, IC 95% (0.035-0.868). Al agrupar a los pacientes en función del test HARS, se observó que las frecuencias de los alelos B*8 y B*15 era mayor en el grupo de pacientes sin ansiedad, ansiedad leve, media o moderada, respecto al grupo de pacientes con ansiedad severa ó grave (19 % vs 6%; $p=0.027$, $pc>0.05$, OR= 0.280, IC= (0.088-0.890y (16 % vs 5% ; $p=0.032$, $pc>0.05$, OR= 0.246, IC 95% (0.067-0.904), respectivamente) .

Al agrupar a los pacientes en función del test HDRS, se observó que la frecuencia del alelo B*27 era significativamente mayor en el grupo de pacientes con depresión severa o muy severa, respecto al grupo de pacientes sin depresión o con una depresión menor o moderada (12% vs 3%; $p=0.046$, $pc>0.05$, OR= 5.017, IC 95% (1.026-24.523).

Además, se observó un incremento de la frecuencia del alelo B*18, en el grupo de pacientes con una puntuación inferior o igual a 18, según la puntuación del test MPQ, respecto al grupo de pacientes con puntuación superior a 18 (19 % vs 6%; $p=0.026$, $pc>0.05$, OR= 0,275; IC 95% = (0.087-0.074) (Tabla 36). Todas estas diferencias no resultaron significativas al corregir por el número de alelos testados.

Tabla 36. Frecuencia de los alelos del gen HLA-B, en pacientes con FM segregados en función de las manifestaciones clínicas de la FM.

HLA-B	Test FIQ		Test CV		Test WPI		Test COS		Test GCI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ	
	0-50	>50	0-106	107-159	0-12	13	0-47	48	N/L	M/G	0-24	25	0-18	19	0-18	19
	N=16 n(%)	N=124 n(%)	N=40 n(%)	N=104 n(%)	N=52 n(%)	N=95 n(%)	N=42 n(%)	N=51 n(%)	N=95 n(%)	N=45 n(%)	N=79 n(%)	N=65 n(%)	N=76 n(%)	N=67 n(%)	N=80 n(%)	N=67 n(%)
B*07	2 (12)	23 (18)	10 (25)	17 (17)	9 (17)	18 (19)	6 (14)	9 (18)	20 (21)	6 (13)	16 (20)	11 (17)	12 (16)	15 (22)	14 (17)	13 (19)
B*08	3 (19)	16 (13)	7 (17)	13 (12)	9 (17)	11 (12)	8 (19)	6 (12)	14 (15)	4 (9)	15 (19)	4 (6)^e	13 (17)	5 (7)	11 (14)	9 (13)
B*13	2 (12)	2 (2)	0 (0)	4 (4)	1 (2)	3 (3)	2 (5)	0 (0)	3 (3)	1 (2)	1 (1)	3 (5)	3 (4)	1 (1)	1 (1)	3 (4)
B*14	3 (19)	18 (14)	4 (10)	19 (18)	9 (17)	14 (15)	4 (9)	10 (20)	13 (14)	8 (17)	10 (13)	12 (18)	12 (16)	10 (15)	14 (17)	9 (13)
B*15	1 (6)	15 (12)	5 (12)	10 (10)	5 (10)	11 (12)	5 (12)	8 (16)	11 (12)	5 (11)	13 (16)	3 (5)^f	8 (10)	8 (12)	9 (11)	7 (10)
B*18	5 (31)	13(10)^a	8 (20)	11 (11)	6 (11)	13 (14)	8 (19)	2 (4)^d	14 (15)	5 (11)	10 (13)	10 (15)	12 (16)	7 (10)	15 (19)	4 (6)^h
B*27	0 (0)	9 (7)	2 (5)	8 (8)	3 (6)	7 (7)	2 (5)	6 (12)	5 (5)	4 (9)	4 (5)	6 (9)	2 (3)	8 (12)^g	3 (4)	7 (10)
B*35	4 (25)	17 (14)	5 (12)	15 (15)	10(19)	11 (12)	2 (5)	9 (18)	11 (12)	9 (20)	10 (13)	10 (15)	9 (12)	11 (16)	15 (19)	6 (9)
B*37	0 (0)	2 (2)	1 (2)	3 (3)	0 (0)	4 (4)	1 (2)	1 (2)	2 (2)	2 (4)	2 (2)	2 (3)	3 (4)	1 (1)	3 (4)	1 (1)
B*38	1 (6)	8 (6)	3 (7)	6 (6)	0 (0)	9 (9)^c	5 (12)	1 (2)	6 (6)	2 (4)	4 (5)	4 (6)	4 (5)	4 (6)	6 (7)	3 (4)
B*39	1 (6)	2 (2)	0 (0)	2 (2)	1 (2)	2 (2)	0 (0)	2 (4)	3 (3)	0 (0)	2 (2)	1 (1)	2 (3)	1 (1)	1 (1)	2 (3)
B*40	1 (6)	9 (7)	3 (7)	7 (7)	2 (4)	8 (8)	2 (5)	4 (8)	5 (5)	5 (11)	4 (5)	6 (9)	4 (5)	6 (9)	6 (7)	4 (6)
B*41	2 (12)	4 (3)	4 (10)	2 (2)	3 (6)	3 (3)	2 (5)	4 (8)	5 (5)	1 (2)	4 (5)	2 (3)	3 (4)	3 (4)	5(6)	1 (1)
B*42	2 (1)	0 (0)	2 (1)	0 (0)	2 (1)	0 (0)	2 (1)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	2 (3)	0 (0)	2 (1)	0 (0)
B*44	2 (12)	33 (27)	4 (10)	31 (30)^b	13 (25)	23 (24)	8 (19)	13 (25)	20 (21)	13 (28)	17 (21)	17 (26)	17 (22)	17 (25)	17 (21)	19 (28)
B*45	0 (0)	4 (3)	1 (2)	3 (3)	0 (0)	4 (4)	2 (5)	2 (4)	3 (3)	1 (2)	3 (4)	1 (1)	2 (3)	2 (3)	0 (0)	4(6)
B*47	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (2)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
B*49	2 (12)	15 (12)	7 (17)	11 (11)	7 (13)	11 (12)	7 (17)	4 (8)	11 (12)	6 (13)	8 (10)	9 (14)	11 (15)	6 (9)	10 (12)	8 (12)
B*50	0 (0)	4 (3)	1 (2)	3 (3)	1 (2)	3 (3)	1 (2)	2 (4)	3 (3)	1 (2)	3 (4)	1 (1)	4 (5)	0 (0)	2 (2)	2 (3)
B*51	1 (6)	15 (12)	2 (5)	15 (15)	6 (11)	11 (12)	2 (5)	7 (14)	10 (10)	7 (15)	6 (8)	11 (17)	6 (8)	11 (16)	8 (10)	9 (13)
B*52	0 (0)	8 (6)	2 (5)	7 (7)	4 (8)	6 (6)	2 (5)	4 (8)	8 (8)	2 (4)	4 (5)	6 (9)	5 (7)	5 (7)	4 (5)	6 (9)
B*53	1 (6)	5 (4)	1 (2)	5 (5)	3 (6)	3 (3)	2 (5)	2 (4)	3 (3)	3 (6)	2 (2)	4 (6)	2 (3)	4 (6)	2 (2)	4 (6)
B*55	0 (0)	3 (2)	0 (0)	2 (2)	1 (2)	2 (2)	2 (5)	1 (2)	2 (2)	1 (2)	2 (2)	1 (1)	2 (3)	1 (1)	2 (2)	1 (1)
B*56	1 (6)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (3)	0 (0)	1 (2)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
B*57	0 (0)	7 (6)	2 (5)	5 (5)	1 (2)	6 (6)	2 (4)	1 (3)	5 (5)	2 (4)	5 (6)	2 (3)	5 (7)	2 (3)	4 (5)	3 (4)
B*58	0 (0)	5 (4)	2 (5)	3 (3)	3 (6)	2 (2)	3 (7)	1 (3)	4 (4)	1 (2)	0 (0)	1 (1)	3 (4)	2 (3)	3 (4)	2 (3)
B*67	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (3)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
B*73	1 (6)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	1 (3)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)

^atest FIQ >50 vs. 0-50, (p=0.035 , pc>0.05, OR= 0.258, IC 95% (0.077-0.858), ^b test CV 0-106 vs. 107-159 (p=0.016 , pc>0.05, OR= 3.822, IC 95% (1.253-11.657);^c test WPI 0-12 vs. 13 (p=0.027 , pc<0.05, OR= 0.623, IC 95% (0.547-0.710), ^d test COS 0-47 vs. 48 (p=0.039 , pc>0.05, OR= 0.173, IC 95% (0.035-0.868), ^e test HARS 0-24 vs. 25 (p=0.027, pc>0.05, OR= 0.280, IC 95% (0.088-0.890), ^f test HARS 0-24 vs. 25 (p=0.032, pc>0.05, OR= 0.246, IC 95% (0.067-0.904);^g test HDRS 0-18 vs. 18 (p=0.046 , pc>0.05, OR= 5.017, IC 95% (1.026-24.523); ^h test MPQ 0-18 vs. 18 (p=0.026, pc>0.05, OR= 0.275, IC 95% (0.087-0.074). Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G, Moderado/Grave.

El estudio de la frecuencia de los distintos alelos del locus HLA-C en los pacientes con FM segregados en función de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, evaluadas en función de los diferentes test, mostró una disminución de la frecuencia del alelo C*12 en el grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad grave o muy grave, según el test FIQ, respecto al grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad mínima o moderada, (16% vs 44% ; $p=0.015$; $p<0.05$; OR= 0.243, IC 95% (0.086-0.688). También se observó que el alelo C*07 estaba menos representado en el grupo de pacientes con afectación moderada a grave en la calidad de vida, según test Calidad de Vida, con respecto al grupo de pacientes con afectación leve (43 % vs 63%; $p=0.031$, $p<0.05$; OR= 0.440, IC 95% (0.213-0.909). Además, los alelos C*07 y C*12 mostraron una frecuencia aumentada en el grupo de pacientes con buena calidad de sueño, según test COS, respecto al grupo de pacientes con alteraciones en la calidad del sueño (64 % vs 36% ; $p=0.014$, $p>0.5$, OR= 0,329, IC 95% (0.143-0.758), y 30 % vs 10% ; $p=0.018$ $p>0.5$, OR= 0,254, IC 95% (0.082-0.783), respectivamente). Sin embargo estas diferencias no resultaron significativas al corregir por el número de alelos testados (tabla 37 a).

Por otro lado, se observó que el alelo C*06 era más frecuente en el grupo de pacientes sin depresión o con una depresión menor o moderada, según test HDRS, respecto al grupo de pacientes con depresión severa o muy severa, (20 % vs 7%; $p=0.020$, $p>0.5$, OR= 0,294, IC 95% (0.102-0.849), (tabla 37 b). Al corregir por el número de alelos testados, estas diferencias no resultaron significativas.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el análisis de la frecuencia de los alelos de HLA-C, entre los distintos grupos de pacientes segregados atendiendo a los test WPI, GCI, HARS y MPQ, (tabla 37 a y tabla 37 b).

Tabla 37. Frecuencia de los alelos del gen HLA-C, en pacientes con FM segregados en función de las manifestaciones clínicas de la FM atendiendo a los distintos test estudiados.

a)

HLA-C	Test FIQ		Test CV		Test WPI		Test COS	
	0-50	>50	0-106	107-159	0-12	13	0-47	48
	N=18 n(%)	N=129 n(%)	N=43 n(%)	N=108 n(%)	N=58 n(%)	N=96 n(%)	N=44 n(%)	N=52 n(%)
C*01	1 (6)	9 (7)	2 (5)	8 (7)	4 (7)	6 (6)	2 (4)	5 (10)
C*02	2 (11)	14 (11)	4 (9)	13 (12)	4 (7)	13 (13)	3 (7)	10 (5)
C*03	1 (6)	16 (12)	4 (9)	11 (10)	7 (12)	10 (10)	5 (11)	8 (15)
C*04	3 (17)	28 (22)	6 (13)	24 (22)	14 (24)	17 (18)	4 (9)	12 (23)
C*05	4 (22)	15 (12)	6 (13)	13 (12)	5 (9)	14 (15)	4 (9)	7 (13)
C*06	3 (17)	16 (12)	4 (9)	17 (16)	5 (9)	16 (17)	7 (16)	5 (10)
C*07	7 (39)	63 (49)	27 (63)	46 (43)^b	26 (45)	47 (49)	28 (64)	19 (36)^c
C*08	3 (17)	19 (15)	4 (9)	20 (17)	9 (15)	15 (16)	4 (9)	10 (5)
C*12	8 (44)	21 (16)^a	12 (28)	18 (17)	12 (21)	20 (21)	13 (30)	5 (10)^d
C*14	1 (6)	2 (2)	0 (0)	3 (3)	1 (2)	2 (2)	0 (0)	1 (2)
C*15	0 (0)	15 (12)	5 (12)	11 (10)	9 (16)	7 (7)	4 (9)	7 (13)
C*16:01	1 (6)	19 (15)	3 (7)	17 (16)	11 (19)	10 (10)	8 (18)	6 (11)
C*16:02	0 (0)	3 (2)	0 (0)	3 (3)	0 (0)	3 (3)	1 (2)	0 (0)
C*17	2 (11)	4 (3)	4 (9)	2 (2)	3 (5)	3 (5)	2 (4)	4 (8)

b)

HLA-C	Test GCI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ	
	N/L	M/G	0-24	25	0-18	19	0-18	19
	N=100 n(%)	N=49 n(%)	N=82 n(%)	N=69 n(%)	N=79 n(%)	N=72 n(%)	N=81 n(%)	N=73 n(%)
C*01	5 (5)	5 (10)	5 (6)	5 (7)	4 (5)	6 (8)	4 (5)	6 (8)
C*02	7 (7)	8 (16)	8 (10)	9 (13)	5 (6)	12 (17)	8 (10)	9 (13)
C*03	10 (10)	7 (14)	11 (13)	6 (9)	9 (11)	8 (11)	10 (12)	7 (10)
C*04	17 (17)	14 (29)	15 (18)	16 (23)	13 (16)	18 (25)	17 (21)	14 (19)
C*05	10 (10)	9 (18)	8 (10)	11 (16)	9 (11)	10 (14)	12 (15)	7 (10)
C*06	16 (16)	5 (10)	12 (15)	9 (13)	16 (20)	5 (7)^e	8 (10)	13 (18)
C*07	51 (51)	18 (37)	42 (51)	28 (41)	40 (51)	30 (42)	36 (44)	37 (51)
C*08	14 (14)	8 (16)	10 (12)	13 (19)	13 (16)	10 (14)	15 (24)	9 (13)
C*12	26 (26)	6 (12)	18 (22)	14 (20)	18 (23)	14 (19)	20 (32)	12 (16)
C*14	12 (12)	4 (8)	2 (2)	1 (1)	1 (1)	2 (3)	1 (1)	2 (3)
C*15	13 (13)	3 (6)	8 (10)	8 (12)	8 (10)	8 (11)	8 (10)	8 (11)
C*16:01	13 (13)	6 (12)	11 (13)	8 (12)	10 (13)	9 (12)	11 (13)	10 (14)
C*16:02	1 (1)	2 (4)	1 (1)	2 (3)	1 (1)	2 (3)	1 (1)	2 (3)
C*17	5 (5)	1 (2)	4 (5)	2 (3)	3 (4)	3 (4)	5 (6)	1 (1)

a) ^a test FIQ >50 vs. 0-50, ($p=0.015$, $pc>0.05$, OR= 0.243, IC 95% (0.086-0.688)); ^b test CV 0-106 vs.107-159 ($p=0.031$, $pc>0.05$, OR= 0.440, IC 95% (0.213-0.909)); ^c test COS 0-47 vs. 48 ($p=0.014$, $pc>0.05$, OR= 0,329, IC 95% (0.143-0.758)); ^d test COS 0-47 vs. 48 ($p=0.018$, $pc>0.05$, OR= 0,254, IC 95% (0.082-0.783)); ^e test HDRS 0-18 vs. 19 ($p=0.020$, $pc>0.05$, OR= 0,294, IC 95% (0.102-0.849)). Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G, Moderado/Grave.

El análisis de la frecuencia de los alelos del locus HLA-DR entre los diferentes grupos de pacientes, mostró una frecuencia aumentada de los alelos HLA DRB1*03 y HLA DRB1*07 en el grupo de pacientes que no presentaba alteración del sueño, según test COS, respecto al grupo de pacientes con alteración del sueño moderada o grave, (37 % vs 17% ; $p=0.035$, $pc>0.05$, OR= 0.345, IC 95% (0.134-0.890), y 37 % vs 15%; $p=0.018$, $pc>0.05$, OR= 0.300, IC 95% (0.113-0.794), respectivamente) (Tabla 38a). También, se observó un incremento de la frecuencia del alelo HLA DRB1*03 en el grupo de pacientes sin ansiedad o con ansiedad leve, media o moderada, según test HARS, respecto al grupo de pacientes con ansiedad severa ó grave (35 % vs 17 % ; $p=0.026$, $pc>0.05$, OR= 0.395, IC 95% (0.184-0.863), mientras que el alelo DRB*13 estaba más representado en el grupo de pacientes con ansiedad severa ó grave que en el grupo de pacientes sin ansiedad o con ansiedad leve, media o moderada, según el test HARS (42% vs 21% ; $p=0.007$, $pc>0.05$, OR= 2.729, IC 95% (1.332-5.592). Además, el estudio mostró una frecuencia aumentada del alelo DRB1*03 en el grupo de pacientes sin depresión, o con depresión menor o moderada, según el test HDRS, respecto al grupo de pacientes con depresión severa o muy severa (35 % vs 17%; $p=0.016$, $pc>0.05$, OR= 0.384, IC 95% (0.177-0.835). (Tabla 38b). Sin embargo, todas estas diferencias no resultaron significativas al corregir por el número de alelos testados.

No se observaron diferencias en el análisis de la frecuencia de los alelos de HLA-DR, entre los distintos grupos de pacientes segregados atendiendo a los test FIQ, Calidad de Vida, WPI, GCI, y MPQ (tablas 38 a y b).

Tabla 38. Frecuencia de los alelos del gen HLA-DRB1, en pacientes con FM segregados en función de las manifestaciones clínicas de la FM atendiendo a los distintos test estudiados.

a)

HLA-DRB1	Test FIQ		Test CV		Test WPI		Test COS	
	0-50	>50	0-106	107-159	0-12	13	0-47	48
	N=16 n(%)	N=130 n(%)	N=43 n(%)	N=108 n(%)	N=56 n(%)	N=97 n(%)	N=43 n(%)	N=53 n(%)
DRB1*01	6 (37)	32 (25)	11 (26)	28 (26)	15 (27)	25 (26)	10 (23)	14 (26)
DRB1*03	7 (44)	34 (26)	13 (32)	28 (26)	19 (34)	22 (23)	16 (37)	9 (17)^a
DRB1*04	0 (0)	20 (15)	6 (15)	15 (14)	4 (7)	17 (17)	6 (14)	8 (15)
DRB1*07	7 (44)	32 (25)	11 (27)	28 (26)	18 (32)	22 (23)	16 (37)	8 (15)^b
DRB1*08	1 (6)	9 (7)	2 (5)	8 (7)	3 (5)	7 (7)	1 (2)	5 (9)
DRB1*09	0 (0)	1 (1)	1 (2)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
DRB1*10	0 (0)	2 (1)	2 (5)	0 (0)	0 (0)	2 (2)	1 (2)	0 (0)
DRB1*11	3 (19)	24 (18)	6 (15)	23 (21)	7 (12)	22 (23)	9 (21)	14 (26)
DRB1*12	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	1 (2)
DRB1*13	2 (12)	42 (32)	8 (19)	36 (33)	18 (32)	28 (29)	12 (28)	19 (36)
DRB1*14	0 (0)	6 (5)	1 (2)	5 (5)	2 (4)	4 (4)	3 (7)	3 (6)
DRB1*15	3 (19)	34 (26)	15 (37)	26 (24)	15 (27)	27 (28)	9 (21)	16 (30)
DRB1*16	1 (6)	5 (4)	1 (2)	4 (4)	1 (2)	5 (5)	0 (0)	2 (4)

b)

HLA-DRB1	Test GCI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ	
	N/L	M/G	0-24	25	0-18	19	0-18	19
	N=99 n(%)	N=48 n(%)	N=81 n(%)	N=69 n(%)	N=78 n(%)	N=71 n(%)	N=81 n(%)	N=72 n(%)
DRB1*01	24 (24)	14 (29)	21 (26)	18 (26)	17 (22)	22 (31)	17 (21)	23 (32)
DRB1*03	29 (29)	10 (21)	28 (35)	12 (17)^c	27 (35)	12 (17)^e	24 (30)	17 (24)
DRB1*04	10 (10)	9 (19)	11 (14)	9 (13)	8 (10)	12 (17)	12 (15)	9 (13)
DRB1*07	24 (24)	13 (27)	25 (31)	12 (17)	23 (29)	14 (20)	24 (30)	16 (22)
DRB1*08	7 (7)	3 (6)	4 (5)	6 (9)	4 (5)	6 (8)	6 (7)	4 (6)
DRB1*09	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
DRB1*10	1 (1)	1 (2)	1 (1)	1 (1)	2 (3)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
DRB1*11	23 (23)	6 (12)	14 (17)	15 (22)	17 (22)	12 (17)	14(17)	15 (21)
DRB1*12	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
DRB1*13	28 (28)	17 (35)	17 (21)	29 (42)^d	20 (26)	25 (35)	26 (32)	20 (28)
DRB1*14	4 (4)	2 (4)	2 (2)	4 (6)	1 (1)	5 (7)	1 (1)	5 (7)
DRB1*15	29 (29)	12 (25)	24 (30)	18 (26)	21 (27)	21 (30)	22 (27)	20 (28)
DRB1*16	3 (3)	2 (4)	3 (4)	3 (4)	3 (4)	3 (4)	3 (3)	4 (6)

^a test COS 0-47 vs. 48 (p=0.035 , pc>0.05, OR= 0.345, IC 95% (0.134-0.890); ^b test COS 0-47 vs. 48 (p=0.018, pc>0.05, OR= 0.300, IC 95% (0.113-0.794); ^c test HARS 0-24 vs. 25 (p=0.026 , pc>0.05, OR= 0.395, IC 95% (0.184-0.863); ^d test HARS 0-24 vs. 25 (p=0.007, pc>0.05, OR= 2.729, IC 95% (1.332-5.592)); ^e test HDRS 0-18 vs. 19 (p=0.016, pc>0.05, OR= 0.384, IC 95% (0.177-0.835)). Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G,

2.3.2. Polimorfismo de los genes KIR en pacientes con Fibromialgia.

La frecuencia de los genes KIR estudiados, tanto genes KIR inhibidores como activadores, fue similar en los pacientes con FM estudiados y en el grupo control (tabla 39).

Tabla 39. Frecuencia de los genes KIR, activadores e inhibidores en pacientes con FM y controles.

Genes KIR	Controles N=153 n(%)	Pacientes con FM N=156 n(%)
KIR inhibidores		
2DL1	149 (97)	148 (95)
2DL2	81 (53)	89 (57)
2DL3	141 (92)	133 (85)
2DL5	76(50)	79 (51)
3DL1	142(93)	142 (91)
3DL2	153(100)	154(99)
3DL3	153(100)	154(99)
KIR activadores		
2DS1	65 (43)	56 (36)
2DS2	81 (53)	88 (56)
2DS3	38 (25)	51 (33)
2DS4	141 (92)	142 (91)
2DL4	153 (100)	154 (99)
2DS5	49 (32)	43 (28)
3DS1	62 (41)	57 (37)
2DP1	150 (98)	149 (96)
3DP1	153 (100)	154 (99)
2DL2_L3	12 (8)	21 (14)

Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. No se han encontrado diferencias significativas entre los distintos grupos. Abreviaturas; FM, Fibromialgia.

El análisis de la frecuencia de los genes KIR inhibidores en pacientes con FM segregados en diferentes grupos en función de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, evaluadas mediante los diferentes test, mostró una frecuencia aumentada de los genes KIR2DL3 en el grupo de pacientes que no presentaron alteraciones del sueño, según el test COS, respecto al grupo de pacientes con

alteraciones del sueño moderadas o graves (86% vs 72 %, respectivamente), aunque estas diferencias no alcanzaron la significación estadística ($p=0.090$). Para el resto de análisis realizado no se observaron resultados destacables (tabla 40).

Tabla 40. Frecuencia de los genes KIR Inhibidores, en pacientes con FM segregados en función de las manifestaciones clínicas atendiendo a los distintos test estudiados.

Genes KIR INHIBIDORES	Test FIQ		Test C. VIDA		Test WPI		Test COS	
	0-50	>50	0-106	107-159	0-12	≥13	0-47	≥48
	N=18 n(%)	N=131 n(%)	N=43 n(%)	N=110 n(%)	N=58 n(%)	N=98 n(%)	N=44 n(%)	N=53 n(%)
2DL1	18 (100)	123 (94)	42 (98)	103 (94)	56 (97)	92 (94)	43 (98)	47 (89)
2DL2	10 (56)	77 (59)	24 (56)	62 (56)	31 (53)	58 (59)	27 (61)	31 (59)
2DL3	17 (94)	109 (83)	37 (86)	94 (86)	52 (90)	81 (83)	38 (86)	38 (72)
2DL5	9 (50)	67 (51)	20 (46)	57 (52)	33 (57)	46 (47)	25 (57)	26 (49)
3DL1	18 (100)	118 (90)	41 (95)	99 (90)	53 (91)	89 (91)	40 (91)	48 (91)
3DL2	18 (100)	129 (98)	43 (100)	108 (98)	58 (100)	96 (98)	44 (100)	52 (98)
3DL3	18 (100)	129 (98)	43 (100)	108 (98)	58 (100)	96 (98)	44 (100)	52 (98)

Genes KIR INHIBIDORES	Test CGI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ	
	N/L	M/G	0-24	25	0-18	19	0-18	19
	N=101 n(%)	N=49 n(%)	N=83 n(%)	N=70 n(%)	N=79 n(%)	N=73 n(%)	N=82 n(%)	N=74 n(%)
2DL1	97 (96)	46 (94)	79 (95)	67 (98)	76 (96)	69 (95)	79 (96)	69 (93)
2DL2	58 (57)	29 (59)	51 (61)	36 (51)	46 (58)	41 (56)	51 (62)	38 (51)
2DL3	88 (87)	40 (82)	70 (84)	61 (87)	69 (87)	61 (84)	71 (87)	62 (84)
2DL5	48 (47)	28 (57)	42 (51)	34 (49)	36 (46)	40 (55)	41 (50)	38 (51)
3DL1	95 (94)	43 (88)	78 (94)	63 (90)	72 (91)	68 (93)	74 (90)	68 (92)
3DL2	100 (99)	49 (100)	83 (100)	69 (99)	78 (99)	73 (100)	81 (99)	73 (99)
3DL3	100 (99)	49 (100)	83 (100)	69 (99)	78 (99)	73 (100)	81 (99)	73 (99)

Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G.

Respecto al estudio de los genes KIR activadores, se observó un incremento de la frecuencia del gen KIR2DS5 en el grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad de moderada a grave, según la escala CGI, respecto al grupo de pacientes con una manifestación normal, dudosa o leve, (37% vs 22 %), aunque estas diferencias no alcanzaron la significación estadística ($p=0.075$). También se observó un aumento de la frecuencia del gen KIR2DS5 en el grupo de pacientes con depresión severa o muy severa, según test HDRS, respecto al grupo de pacientes sin depresión o con una depresión menor o moderada, (33% vs 20 %), diferencias que no

alcanzaron la significación estadística ($p=0.097$). El resto de análisis realizados no mostraron resultados destacables (tabla 41).

Tabla 41. Frecuencia de los genes KIR Activadores, en pacientes con FM segregados en función de las manifestaciones clínicas atendiendo a los distintos test estudiados.

Genes KIR ACTIVADORES	Test FIQ		Test C. VIDA		Test WPI		Test COS	
	0-50	>50	0-106	106-159	0-12	≥13	0-47	≥48
	N=18 n(%)	N=131 n(%)	N=43 n(%)	N=110 n(%)	N=58 n(%)	N=98 n(%)	N=44 n(%)	N=53 n(%)
2DS1	6 (33)	48 (37)	11 (26)	44 (40)	21 (36)	35 (36)	18 (41)	18 (34)
2DS2	10 (56)	76 (58)	24 (56)	61 (55)	31 (53)	57 (58)	26 (59)	31 (58)
2DS3	5 (28)	45 (34)	13 (30)	36 (33)	18 (31)	33 (34)	15 (34)	19 (36)
2DS4	18 (100)	118 (90)	41 (95)	99 (90)	53 (91)	89 (91)	40 (91)	48 (91)
2DL4	18 (100)	129 (98)	43 (100)	108 (98)	58 (100)	96 (98)	44 (100)	52 (98)
2DS5	5 (28)	36 (28)	9 (21)	33 (30)	17 (29)	26 (27)	14 (32)	13 (24)
3DS1	6 (33)	49 (37)	12 (28)	44 (40)	22 (38)	35 (36)	19 (43)	18 (34)
2DP1	18 (100)	124 (95)	42 (98)	104 (94)	56 (97)	93 (95)	43 (98)	48 (91)
3DP1	18 (100)	129 (98)	43 (100)	108 (98)	58 (100)	96 (98)	44 (100)	52 (98)
2DL2_L3	9 (50)	57 (43)	18 (42)	48 (44)	25 (43)	43 (44)	21 (48)	17 (32)

Genes KIR ACTIVADORES	Test CGI		Test HARS		Test HDRS		Test MPQ	
	N/L	M/G	0-24	25	0-18	19	0-18	19
	N=101 n(%)	N=49 n(%)	N=83 n(%)	N=70 n(%)	N=79 n(%)	N=73 n(%)	N=82 n(%)	N=74 n(%)
2DS1	32 (32)	21 (43)	29 (35)	24 (34)	23 (29)	30 (41)	29 (35)	27 (36)
2DS2	57 (56)	29 (59)	50 (60)	36 (51)	45 (57)	41 (56)	51 (62)	37 (50)
2DS3	33 (33)	17 (35)	30 (36)	20 (29)	25 (50)	25 (32)	26 (32)	25 (34)
2DS4	95 (94)	43 (88)	78 (94)	63 (90)	72 (51)	68 (93)	74 (90)	68 (92)
2DL4	100 (99)	49 (100)	83 (100)	69 (99)	78 (99)	73 (100)	81 (99)	73 (99)
2DS5	25 (22)	18 (37)	19 (23)	21 (30)	16 (20)	24 (33)	23 (28)	20 (27)
3DS1	34 (34)	20 (41)	31 (37)	23 (33)	25 (32)	29 (40)	30 (37)	27 (36)
2DP1	98 (97)	46 (94)	80 (96)	67 (96)	76 (96)	70 (96)	79 (96)	70 (95)
3DP1	100 (99)	48 (100)	83 (100)	69 (99)	78 (99)	73 (100)	81 (99)	73 (99)
2DL2_L3	46 (45)	20 (41)	38 (46)	28 (40)	37 (47)	29 (40)	41 (50)	27 (36)

Los valores de p fueron determinados mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G.

En un análisis posterior, también se valoró la influencia de los genotipos KIR en el desarrollo y pronóstico de la fibromialgia. Para ello, los individuos fueron agrupados en aquellos que presentaban un genotipo AA (haplotipo A en homocigosis) y aquellos que presentaban un genotipo Bx (presencia de al menos un haplotipo B). Los resultados no revelaron diferencias significativas entre el grupo de pacientes con FM y el grupo control (figura 50).

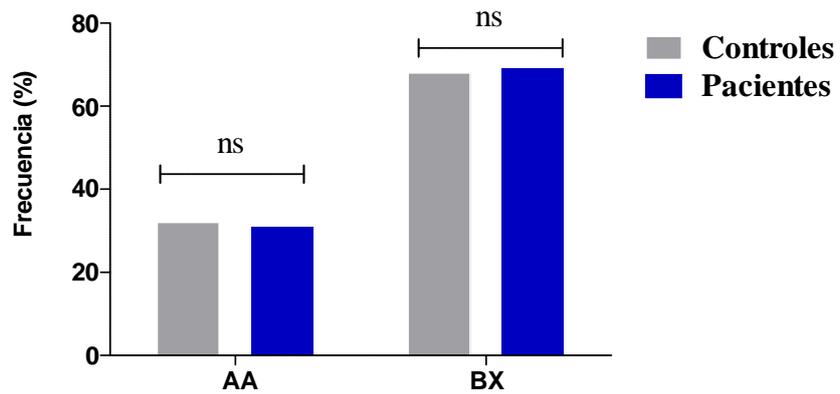


Figura 50. Frecuencia de los genotipos KIR en y controles.
El valor de la p fue determinado mediante un test de Fisher bilateral.

En cuanto al estudio de los pacientes segregados en diferentes grupos en función de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, evaluadas mediante los diferentes test, no mostró diferencias significativas en ninguno de los casos (figura 51).

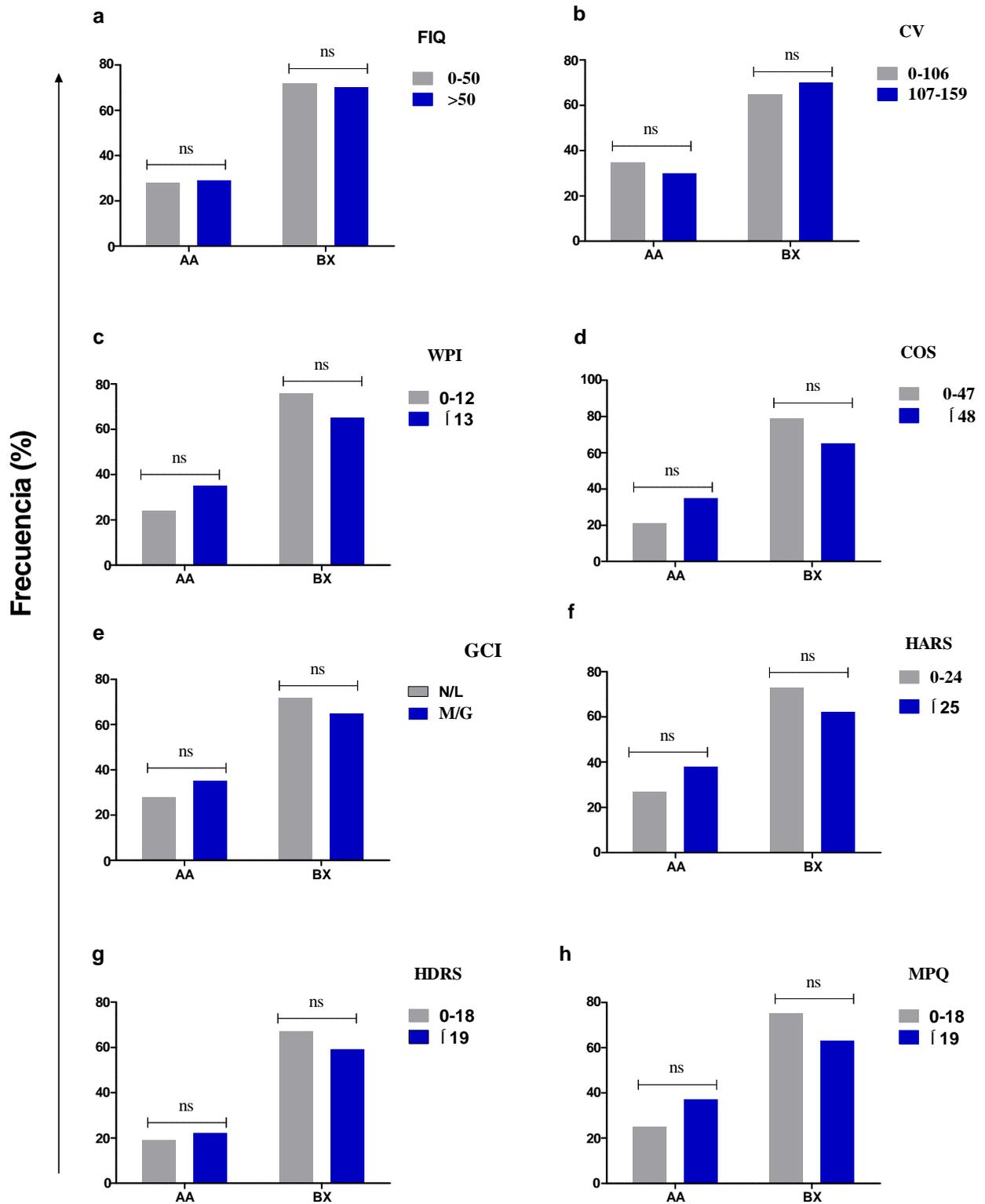


Figura 51. Frecuencia de los genotipos KIR en pacientes de FM segregados en función de las características clínicas al diagnóstico, y controles. Frecuencia de los genotipos KIR en pacientes con FM segregados atendiendo al : (a) test FIQ, (b) test CV, (c) test WPI, (d) test COS, (e) test GCI, (f) test HARS, (g) test HDRS y (h) test MPQ. El valor de la p fue determinado mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G,

2.3.3. Polimorfismo de los ligando de los genes KIR en pacientes con FM.

2.3.3.1. Dimorfismo en posición 80 de los ligandos HLA-C en FM.

El análisis del dimorfismo en posición 80 del locus HLA-C (grupos C1 y C2 de ligandos KIR), no mostró diferencias en cuanto a la frecuencia de los genotipos C1C1, C1C2 y C2C2 entre el grupo de pacientes con FM y el grupo control. (Figura 52).

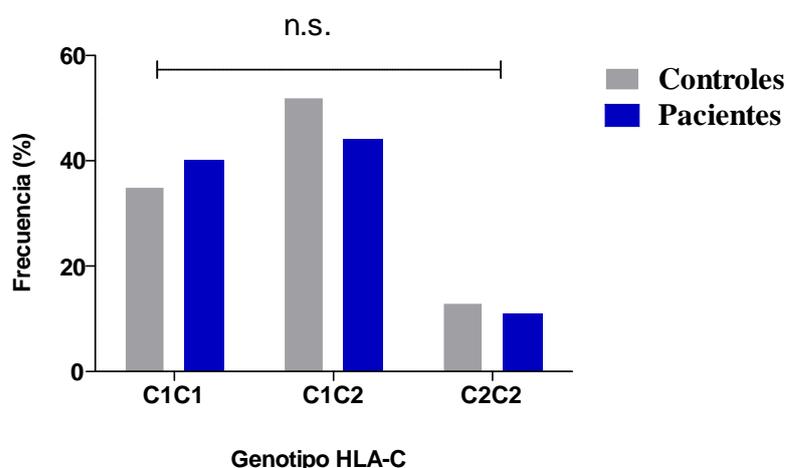


Figura 52. Frecuencia de los genotipos HLA-C en pacientes de FM y controles. El valor de la p fue determinado mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas:

El estudio del dimorfismo HLA-C en los pacientes segregados en base a las manifestaciones clínicas de la enfermedad atendiendo al cuestionario del análisis de calidad de sueño COS, reveló un aumento del genotipo C2C2 en el grupo de pacientes con mala calidad de sueño respecto al grupo con buena calidad (21% vs. 79%; $P=0.079$), aunque estas diferencias no alcanzaron la significación estadística. (figura 53 d). En resto de análisis realizados no se observaron resultados remarcables (figura 53).

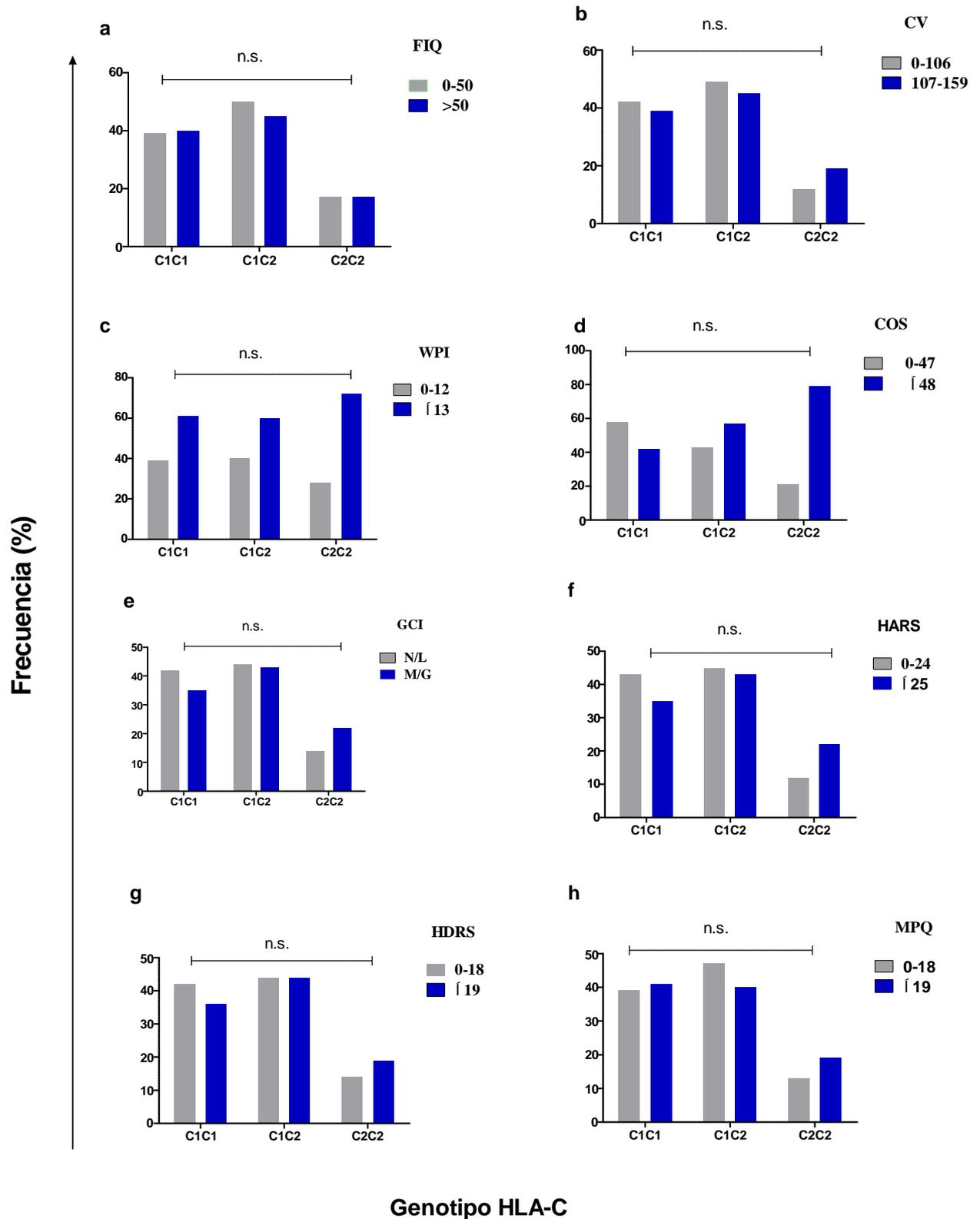


Figura 53. Frecuencia de los genotipos HLA-C en pacientes de FM segregados en función de las características clínicas al diagnóstico. Frecuencia de los genotipos HLA-C en pacientes con FM segregados atendiendo al :(a) test FIQ., (b) test C. vida, (c) test WPI, (d) test COS, (e) test GCI, (f) test HARS, (g) test HDRS y (h) test MPQ. El valor de la p fue determinado mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G,

2.3.3.2. Epítomos Bw4 y Bw6 en pacientes con FM.

El estudio de los epítomos Bw4 y Bw6 en pacientes con FM y controles, no mostró diferencias significativas (Figura 54).

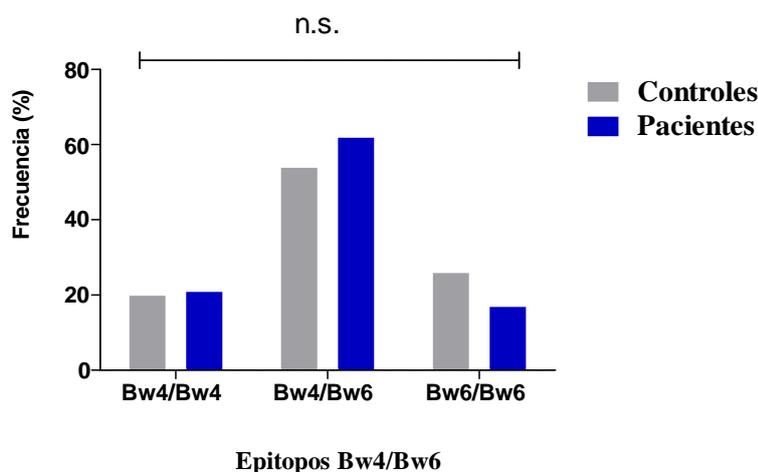
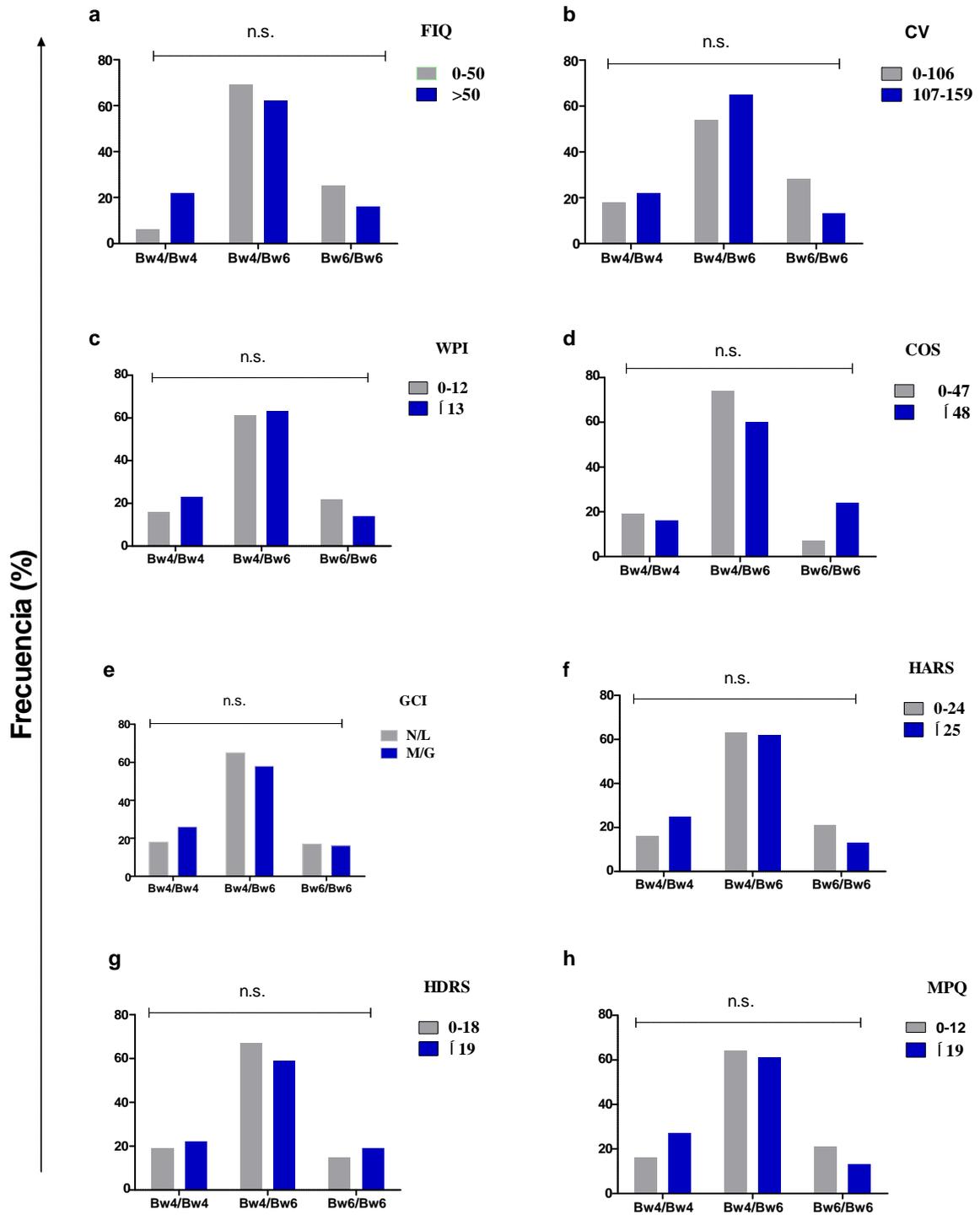


Figura 54. Análisis de los epítomos Bw4/Bw6 en pacientes de FM y controles. El valor de la p fue determinado mediante un test de Fisher bilateral.

El estudio del dimorfismo de los epítomos Bw4 y Bw6 en los pacientes con FM segregados en base a las manifestaciones clínicas de la enfermedad atendiendo al cuestionario del análisis de calidad de sueño COS, reveló un aumento del genotipo Bw6Bw6 en el grupo de pacientes con mala calidad de sueño respecto al grupo con buena calidad (24% vs. 7%; $p=0.043$, $pc>0.05$) (Figura 54). Asimismo, al estudiar los pacientes según el test de calidad de vida, los resultados obtenidos mostraron una mayor frecuencia del genotipo Bw6Bw6 en aquellos pacientes que presentaban una afectación más leve en la calidad de vida, respecto a los pacientes con una afectación moderada o grave en su calidad de vida (28% vs. 13%; $p=0.045$, $pc>0.05$), aunque estas diferencias no alcanzaron la significación estadística al aplicar la corrección por el número de alelos estudiados.



Epítomos Bw4/Bw6

Figura 54. Análisis de los epítomos Bw4/Bw6 en pacientes de FM segregados en función de las características clínicas al diagnóstico. Frecuencia de epítomos Bw4/Bw6 en pacientes con FM segregados atendiendo al (a) test FIQ., (b) test C. vida, (c) test WPI, (d) test COS, (e) test GCI, (f) test HARS, (g) test HDRS y (h) test MPQ. El valor de la p fue determinado mediante un test de Fisher bilateral. Abreviaturas: N/L, Normal/Leve; M/G,

DISCUSIÓN

Niveles de serotonina, ACS anti-serotonina, anti-gangliósidos y otros autoACS en pacientes con FM y controles.

La FM es un proceso de dolor crónico, generalizado, de localización preferentemente osteomuscular. La etiología y fisiopatología de la FM son controvertidas, y a día de hoy todavía no existen biomarcadores diagnósticos específicos de esta enfermedad.

Aunque los mecanismos que provocan los síntomas y signos de la FM son aún desconocidos, hay evidencias de que existe un procesamiento anormal del dolor, tanto por alteraciones de los mecanismos periféricos de información nociceptiva, como por el procesamiento anormal del dolor central, así como alteraciones en el sistema neuro-endocrino e inmunitario (Goicoechea C, et al., 2006; Abeles AM, et al., 2007).

La FM y otros trastornos psiquiátricos que tienen en común síntomas como la depresión y la ansiedad, se caracterizan por presentar una desregulación parcial del sistema de neurotransmisores serotoninérgicos en el SNC. Por tanto, los metabolitos derivados del triptófano, como la 5-HT o serotonina podrían ser biomarcadores potenciales de la FM (Hackshaw Kv, et al., 2018). El papel del triptófano y su metabolito la 5-HT en la patogénesis de la FM, ha sido apoyado por un gran número de observaciones experimentales (Wolf F et al 1997; Rusell IJ et al 1993) y confirmado por el uso común de los inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina en el tratamiento farmacológico de la enfermedad (Walitt B, et al., 2015). Además, también se ha descrito que muchos de los síntomas que presentan los pacientes con FM tienen relación con bajos niveles de serotonina (Sicuteri 1972, Molfosky et al., 1975; Molfosky&Scarbrick, 1975; Van Woert&Sethy, 1975; Goldenberg, 1989).

Desde el punto de vista inmunológico, la existencia de una respuesta inmunitaria contra antígenos propios como la 5-HT está respaldada por el hallazgo de linfocitos T autoreactivos que reconocen la 5-HT y el triptófano en la población sana y con una incidencia mayor en pacientes con FM (Barth H, et al., 2001), y por el hallazgo de una alta prevalencia de ACS anti-5-HT en pacientes con FM (Klein et al. 1992). Por tanto, los auto-ACS frente a la 5-HT podrían tener una gran utilidad como biomarcadores en la FM. Además, se ha descrito que la presencia de ACS anti-5-HT en pacientes con FM está asociada con la presencia de ACS anti-gangliósidos (Klein, et al., 1992). Esta

fuerte asociación, así como el hecho de que los gangliósidos son componentes de los receptores de 5-HT (Fishman PH, et al., 1988), podría significar que los ACS anti-gangliósidos pueden interferir en la captación de 5-HT por sus receptores.

Basándonos en la evidencia existente acerca de la implicación de la 5-HT, los ACS anti-5-HT y otros ACS en la etiopatogenia FM, en el presente trabajo hemos estudiado los niveles séricos de 5-HT, ACS anti-5-HT, ACS anti-gangliosidos y otros autoACS, con la finalidad de identificar y validar biomarcadores séricos que puedan convertirse en una herramienta útil en el diagnóstico de los pacientes con FM.

Para estudiar el papel de la serotonina en la FM, hemos analizado los niveles séricos de 5-HT en 156 pacientes diagnosticados de FM y 144 controles sanos provenientes de la región de Murcia. Nuestros resultados, muestran unos niveles significativamente disminuidos de serotonina en el suero de los pacientes con FM respecto al grupo control, de la misma manera que otros estudios publicados previamente (Hertzman PA, et al., 1993; Hrycaj P, et al., 1993, Frederick Wolfe, et al., 1992; Russell IJ, Vaeroy H, et al 1992 b; Stratz T et al., 1993; Mali Emberg, et al., 2000). Sin embargo, en estos estudios no encontraron una relación entre la disminución de la serotonina sérica y las manifestaciones clínicas de la enfermedad (Al-nimerMsm et al., 2018). Por el contrario, existe un estudio publicado hace varias décadas en el que se describe la presencia de una asociación entre los niveles de serotonina sérica y los síntomas que acompañan a la FM (Hertzman PA, et al., 1993).

De la misma manera, en el presente trabajo, hemos encontrado que al segregar los pacientes con FM en función de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, los niveles séricos de serotonina eran inferiores en el grupo de pacientes con ansiedad moderada, severa o grave, respecto al grupo de pacientes sin ansiedad o con ansiedad leve, lo que revela una asociación entre los niveles de serotonina y el grado de ansiedad que experimentan los pacientes con FM, sin embargo, no encontramos una asociación entre el resto de manifestaciones clínicas estudiadas y los niveles séricos de serotonina. Contrariamente a nuestros resultados, hay que destacar la existencia de otros estudios en los que se ha encontrado una relación inversa entre los niveles de serotonina y síntomas de la FM como el dolor, la depresión y la ansiedad (Frederick Wolfe et al, 1997; Mali Emberg et al., 2000).

Por otro lado, algunos estudios han revelado una disminución de los metabolitos de la 5-HT en líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con FM (Russell IJ et al., 1992 b). Sin embargo, no se ha demostrado que los niveles de 5-HT en suero reflejen los

niveles de 5-HT del SNC, ya que estos suponen menos de un 2% de la 5-HT corporal total y además no cruzan la barrera hematoencefálica.

En conclusión, los resultados del presente estudio y de estudios previos han encontrado niveles significativamente bajos de 5-HT en suero de pacientes con FM de una manera consistente y empleando distintas metodologías, lo que sugiere que los niveles de 5-HT en suero podrían tener utilidad en el diagnóstico de los pacientes con FM, sin embargo, la correlación de los niveles de 5-HT con la severidad clínica de la enfermedad no está clara y requiere de futuros estudios. Además, el hecho de que los niveles de 5-HT en suero no reflejen los niveles de 5-HT en el SNC, podría limitar la utilidad de la 5-HT sérica como biomarcador de la FM, por lo que futuros trabajos que estudien la síntesis de 5-HT en el cerebro, podrían ser una forma más directa de detectar una disfunción de la 5-HT en pacientes con FM (Alnigenis MNY et al., 2001).

Contrariamente a los estudios que indican un papel relevante de los niveles bajos de serotonina en la FM, existen otros trabajos que no han encontrado niveles bajos de serotonina en pacientes con FM, pero si han demostrado la existencia de una alta prevalencia de ACS. anti-5-HT en estos pacientes (Klein et al 1992). Según los autores de este trabajo, en los pacientes con FM ocurriría un fenómeno similar a lo que ocurre en pacientes con migraña y depresión, en los que los niveles de 5-HT en suero no están disminuidos, sino que lo que se produce es una disminución en la unión de la serotonina a sus receptores debido a la presencia de acs. anti-5-HT.

Ante la evidencia de que distintos auto-ACS podrían jugar un papel importante en la FM (Klein, et al., 1992; Fishman PH, et al., 1988), en el presente trabajo decidimos estudiar la presencia de una serie de autoACS como los ACS anti-serotonina, ACS anti-gangliósidos, ACS anti-sulfátidos y otros en el suero de pacientes con FM.

La cuantificación de ACS anti-5-HT IgG e IgM en un grupo de 155 pacientes con FM y 151 controles sanos, reveló una mayor presencia de ACS anti-5-HT IgG e IgM en pacientes con FM en comparación con el grupo control, que fue significativa en ambos casos. De la misma manera que en el presente trabajo, otros estudios previos han descrito la presencia de una elevada prevalencia de ACS anti-5-HT en pacientes con FM (Klein et al, 1992; Klein et al. 1994). Además, los resultados de estos estudios fueron confirmados posteriormente empleando la misma técnica de detección de ACS anti-5-HT en una amplia cohorte de pacientes con FM (EgonWerle et al. 2001). Por lo tanto, tanto los resultados de nuestro estudio, como los resultados publicados

previamente, indican un papel importante de los ACS anti-5-HT en el diagnóstico de la FM.

Por el contrario, existen otros estudios realizados con grupos más reducidos de pacientes con FM que no fueron capaces de reproducir estos resultados (Russel IJ et al; 1995; Welin M et al, 1995). La discrepancia entre los resultados de estos estudios y nuestro trabajo, puede ser debida en parte a los diferentes tamaños muestrales empleados.

Adicionalmente, en el presente trabajo, realizamos el estudio de ACS anti-5-HT segregando a los pacientes con FM en función de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, y observamos que el grupo de pacientes con formas más severas de la enfermedad, según la escala de dolor CGI, presentaba niveles más altos de ACS anti-5-HT IgG que aquellos pacientes con formas más leves de la enfermedad. Así mismo, también encontramos que el grupo de pacientes con formas de ansiedad moderada, severa o grave, presentaba niveles más elevados de ACS anti-5-HT IgG e IgM que aquellos pacientes sin ansiedad o con ansiedad moderada, lo que sugiere una asociación entre la presencia de estos ACS y formas más severas de la enfermedad. Estos resultados, unidos al hecho de que los ACS anti-5-HT se han detectado en pacientes con otros trastornos psiquiátricos, como la esquizofrenia paranoide (Schott et al. 1992), cuyos pacientes tienen síntomas comunes a los que presentan los pacientes con FM como la depresión y la ansiedad, evidencian una clara asociación entre la presencia de estos ACS y la aparición de síntomas como la ansiedad y la depresión en pacientes con FM.

Contrariamente a los resultados de este trabajo, otros estudios, a pesar de haber encontrado ACS anti-5-HT con alta prevalencia en pacientes con FM, no han encontrado una asociación entre los niveles de estos ACS y las manifestaciones clínicas de la FM (EgonWerle et al .2001).

Hoy en día se desconoce cómo estos ACS anti-5-HT se producen en pacientes con FM. En este sentido, el estudio anteriormente mencionado, realizado en Alemania por Werle y colaboradores (EgonWerle et al.2001), explica la presencia de ACS anti-5-HT mediante la hipótesis de que estos ACS podrían ser inducidos por drogas, como los inhibidores selectivos de la recaptación de 5-HT (IRSS), que tienen una estructura complementaria a la 5-HT, pudiendo actuar de este modo como anti-idiotipo de los ACS anti-5-HT. Sin embargo, esta hipótesis no es del todo consistente, puesto que en

el momento en el que se realizó el estudio los IRSS no se empleaban como tratamiento habitual para pacientes con FM en Alemania.

En definitiva los resultados obtenidos en el presente estudio indican que la presencia de anticuerpos anti-serotonina se asocian con la severidad de la enfermedad, al igual que en trabajos previos. El significado clínico y patogénico de estos anticuerpos en la FM no es concluyente (Alnigenis MNY et al., 2001), y se requieren futuros estudios para averiguar el papel de estos anticuerpos en esta enfermedad.

En lo que a los niveles de 5-HT se refiere, encontramos una correlación negativa entre los niveles de 5-HT en suero y la presencia de ACS anti-5-HT IgG en pacientes con FM, de tal manera que los niveles de 5-HT disminuyen al aumentar los niveles de ACS anti-5-HT. Estos resultados, podrían explicarse mediante la hipótesis de que los ACS anti-5-HT, podrían unirse y por tanto secuestrar las moléculas de 5-HT presentes en el suero de los pacientes con FM.

Por otro lado, también estudiamos la presencia de ACS anti-gangliósidos en 151 pacientes con FM y 152 controles sanos. Nuestros resultados muestran una prevalencia muy baja de estos ACS en pacientes con FM así como en controles sanos. De hecho, tan solo detectamos la presencia de ACS anti-gangliósidos GM2 (IgM) en un 1% de los pacientes con FM. Por tanto, los resultados de nuestro estudio sugieren una ausencia de asociación entre los ACS anti-gangliósidos y la FM. Estos resultados contrastan con los resultados obtenidos en estudios previos en los que se ha detectado la presencia de ACS anti-gangliósidos en el 49 % de los pacientes con FM (Klein et al. 1994). Las discrepancias entre nuestros resultados y los obtenidos por Klein y colaboradores en el año 1994, pueden ser debidas al diferente tamaño muestral empleado, ya que en nuestro caso analizamos una serie de 151 pacientes, y en su caso, tan solo de 50 pacientes. No obstante, es necesaria la realización de más estudios similares para poder confirmar la relevancia de estos auto-ACS en pacientes con FM así como su posible asociación con las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Respecto al resto de ACS estudiados en este trabajo, como los ACS anti-sufátidos, anti- células parietales, anti-nucleares, anti-LKM y anti-reticulina, los resultados no muestran diferencias destacables entre los pacientes con FM y el grupo control.

Niveles de citoquinas anti-inflamatorias y pro-inflamatorias y sus polimorfismos genotípicos en pacientes con FM.

Cuantificación de citoquinas anti-inflamatorias y pro-inflamatorias.

Las citoquinas son moléculas reguladoras que intervienen en los procesos inmunológicos y pueden actuar como mediadores proinflamatorios o antiinflamatorios. Los niveles de citoquinas en suero pueden incidir en la susceptibilidad, e incluso en el desarrollo de diferentes enfermedades infecciosas, alérgicas y autoinmunes como es el caso de la FM.

Durante los últimos 30 años se han realizado multitud de estudios sobre el papel de las citoquinas en la patogénesis de la FM. Los resultados de estos estudios han sido bastante contradictorios, ya que describen un perfil de citoquinas en pacientes con FM, en algunos casos incrementadas, y en otros disminuidas en comparación con la población sana. Además, también existen discrepancias en la correlación de los niveles séricos de citoquinas con las manifestaciones clínicas de la enfermedad. En este sentido, hay estudios que reportan un incremento de los niveles séricos de IL-1R e IL-8, pero no de IL-1, IL-2, IL-10, sIL-2R o IFN (Wallace et al, 2001), mientras que otros autores demuestran en sus trabajos un aumento de los niveles séricos de IL-8 e IL-2R, pero no de IL-1 e IL-6 (Gür, et al., 2002b). Contrariamente, otros autores muestran que las citoquinas pro-inflamatorias IL-2, IL-8 e TNF- α , no varían con respecto a los controles sanos, mientras que las citoquinas anti-inflamatorias como la IL-4 e IL-10 se encontraban disminuidas en pacientes con FM respecto a los controles sanos (Uceyler et al; 2006).

Estudios más recientes, realizados con técnicas de análisis de citoquinas más modernas basadas en la tecnología Luminex, han descrito un incremento significativo de los niveles de IL-8 y TNF- α , pero no de IL-6 en pacientes con FM comparados con controles sanos. Los autores de este estudio consideran que los niveles elevados de estas citoquinas están implicados en la patología de la FM pero no son causa directa de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, puesto que no encuentran una relación entre la intensidad del dolor y el nivel sérico de las citocinas estudiadas. Además, observaron que la terapia farmacológica modificadora del dolor utilizada en estos pacientes modificó el perfil de citoquinas durante el periodo de estudio, ya que antes del inicio de la terapia las concentraciones séricas circulantes del IL-8 e TNF- α eran significativamente superiores en pacientes con FM comparadas con controles

sanos, mientras que diez días tras el inicio de la misma, los niveles de TNF- se normalizaron y los de IL-8 seguían siendo superiores que en controles sanos. Sin embargo, estos estudios no detectaron diferencias entre los niveles de IL-6, y citoquinas anti-inflamatorias como la IL-10 e IL-4 entre paciente con FM y controles (Haili Wang, et al., 2008).

A diferencias, de los estudios previamente mencionados, los resultados del presente estudio muestran niveles similares de citoquinas tanto pro-inflamatorias (IL-1 , IL-6, IL-8; IL-17 , TNF- , IFN-), como anti-inflamatorias (IL-4, IL-10 y TGF-) en el suero de pacientes con FM y de controles sanos.

Las diferencias entre los resultados obtenidos en nuestro estudio, respecto a otros trabajos similares, publicados previamente, pueden ser debidas a diferencias metodológicas, como por ejemplo el tamaño muestral, la utilización de unos criterios de selección de los pacientes diferentes, a la utilización de técnicas analíticas diferentes (ELISA, radioinmunoensayo, tecnología Luminex, y además Kits comerciales de distintos fabricantes) (Victoria Menzies, RN, et al. 2010), al perfil de citoquinas analizado, o a la falta de grupos control adecuados. La mayoría de los estudios que han tratado de relacionar los niveles de citoquinas en pacientes con FM, son estudios transversales en los que probablemente no se han podido controlar ciertos factores que pueden afectar a los niveles de citoquinas como el sexo, la duración de la enfermedad, el índice de masa corporal, y el uso de medicamentos concomitantes. (Rodriguez-Pinto, et al., 2014; Uceyler, N., et al., 2011).

Otro factor que podría explicar las diferencias entre nuestros resultados y los de otros estudios, sería la utilización de diferentes técnicas de laboratorio empleadas en la cuantificación de citoquinas, ya que los diferentes métodos empleados implican diferencias en la recolección y tipo de muestra (suero, plasma, sobrenadante de cultivos previamente estimulados con diversos mitógenos).

Análisis de polimorfismos genotípicos de citoquinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias.

Se han llevado a cabo multitud de estudios para analizar los polimorfismos de los genes de diferentes citoquinas, algunos de los cuales se han relacionado con los niveles de expresión y producción de las mismas. Además, varios estudios han demostrado una asociación de los polimorfismos de nucleótido simple (SNP, single

nucleotide polymorphisms) de distintas citoquinas con la susceptibilidad y severidad de enfermedades autoinmunes e inflamatorias (Lilian Andrea Casas et al., 2008).

Teniendo en cuenta los estudios previamente mencionados y la hipótesis de una posible alteración de la regulación de las citoquinas en la patogenia de la FM, en el presente estudio investigamos la relación entre los polimorfismos de los genes de las citocinas pro-inflamatorias (IL-1 , IL-6, IL-8; IL-17 , TNF- , IFN-) y anti-inflamatorias (IL-4, IL-10 y TGF-), y la susceptibilidad y curso clínico de la FM.

En primer lugar, se analizó la frecuencia de los polimorfismos de los genes de las citoquinas pro-inflamatorias, IL1 (rs1143634 y rs16944), IL-6 (rs1800795), IL-8 (rs4073), IL-17 (rs2275913), IFN (rs2430561), TNF (rs1800629) y de las citoquinas anti-inflamatorias : IL-4 (VNTR) , IL-10 (rs 1800896, rs 1800871 y rs 1800872) y TGF 1 (rs1800470; rs1800469), en el grupo de pacientes con FM y el grupo control . Los resultados de dicho análisis revelaron una frecuencia similar de los diferentes SNPs en ambos grupos.

En la misma línea que en nuestro estudio, otros trabajos tampoco han encontrado asociaciones significativas entre los polimorfismos de las citoquinas y el desarrollo de enfermedades inflamatorias y autoinmunes. En concreto, nuestros resultados coinciden con un estudio que revela una falta de asociación de los polimorfismos de intrón 3 de la IL-4 con el desarrollo FM (Su SY, et al., 2007). Además, otro estudio publicado previamente en pacientes con psoriasis no encontró asociación entre los polimorfismos de la IL-10 y la enfermedad (Craven N, et al., 2001). De la misma manera, varios estudios han mostrado una falta de asociación entre el polimorfismo del gen del TNF- y la EA (Fraile A, et al., 1998). Sin embargo, otro estudio realizado entre etnias en la población alemana e inglesa, asoció dicha enfermedad al genotipo -308 GG del TNF- en la población alemana (Hohler T, et al., 1998), pero no encontraron asociación en la población inglesa, lo que pone en evidencia la importancia de la variabilidad étnica en los estudios de asociación entre los polimorfismos genéticos y enfermedad.

Un metaanálisis realizado para estudiar la asociación entre los polimorfismos del gen del TGF- 1 +869 T / C, +915 C / G y -509 T / C, con enfermedades autoinmunes como LES y AR, mostró una falta de asociación entre el polimorfismo +869 T / C y el LES. Además, no se encontró una asociación entre los polimorfismos TGF- 1 +915 G / C o -509 C / T y la RA o SLE (Lee YH, et al., 2017). Resultados similares se observaron en otro metaanálisis previo realizado en el 2013, con pacientes con ES,

en los que no se observó una asociación entre el polimorfismo del gen TGF- 1 (codón 10, codón 25, -509C / T) y la ES (Wan YN, et al., 2013).

A diferencia de los resultados obtenidos en el presente estudio, un trabajo publicado en el año 2013, encontró una asociación entre el polimorfismo VNTR del gen IL-4 de 70 pb con la susceptibilidad al desarrollo de FM (Yigit S, et al., 2013), sin embargo para el resto de SNPs de las distintas citoquinas estudiadas en este trabajo, no existen estudios similares publicados en la literatura científica, realizados en pacientes con FM .

No obstante, existen numerosos trabajos que han descrito asociaciones entre los polimorfismos de nucleótidos simple (SNPs) analizados en este trabajo y diferentes patologías inflamatorias y autoinmunes.

En el caso de los polimorfismos del gen de la IL-1 , un metaanálisis publicado en el año 2015, describió una asociación entre el alelo A del polimorfismo IL-1 en posición -511 (rs 16944) y el desarrollo de artritis reumatoide en caucásicos.(Lee YH et al., 2015)

En el caso de gen promotor de la IL-6, se ha observado que el polimorfismo en la posición -174G> C (rs1800795), está asociado con el riesgo de desarrollar AR (Sajad Ahmad Dar, et al., 2017), y otras enfermedades inflamatorias (Nie G, et al., 2016 ; Qian D, et al., 2017; Wang CY, et al., 2017). Concretamente, la presencia del alelo G en este SNP, se ha descrito que produce una mayor transcripción del gen de la IL-6 y por ende una mayor producción de IL-6 (Fishman D, et al., 1998), y se ha asociado con una mayor susceptibilidad a desarrollar enfermedad periodontal y enfermedad celíaca (Raunio T, et al., 2009). Además, el genotipo G/G se ha asociado con susceptibilidad a desarrollar DM (Jahromi MM, et al., 2000).

Otros ejemplos de polimorfismos de citoquinas analizados en este trabajo, que han sido asociados en la literatura científica con desarrollo de enfermedades inflamatorias son el SNP (rs227513) del gen de la IL-17A (Arisawa T, et al., 2008), los SNP -1082GG y -592 CC del gen de la IL-10, en concreto el genotipo -1082 GG del gen de la IL-10, se ha asociado con elevada producción de IL-10 en pacientes con IL-10 (Suárez A, et al., 2005). Además, los genotipos -1082 GG y -592 CC del gen IL-10 se ha asociado con LES, y una alta producción de IL-10. (Chong W, et al., 2004). En la población inglesa se ha encontrado una asociación del alelo A del SNPs -1082 de la IL-10 con la patogénesis de la AR juvenil (Fife M, et al., 2006).

Lee y colaboradores realizaron un metaanálisis en el que analizaron el polimorfismo -308 del TNF- α , de 21 estudios publicados y encontraron que este polimorfismo puede conferir susceptibilidad a padecer LES en población europea, pero no en población asiática o africana (Lee Y, et al., 2006). Ozen y colaboradores encontraron asociación del polimorfismo -308A del gen del TNF- α con la susceptibilidad a padecer artritis idiopática juvenil en un grupo de pacientes turcos, pero esta asociación no se reprodujo en pacientes checos, lo que podría indicar que este polimorfismo puede actuar de manera diferente en función de la población estudiada (Ozen S, et al., 2002). De la misma manera, varios metaanálisis, uno realizado en el año 2013 y otro realizado en el año 2017, mostraron una asociación entre el alelo T en posición +869 del gen TGF- β 1 y la AR. Un análisis posterior en el que se estratificó a los pacientes en función de su etnia indicó que el alelo T se encontraba asociado con AR en individuos asiáticos y árabes, pero no europeos (Lee YH, et al., 2017; Zhang L, et al., 2013). Lo que nuevamente señala la importancia de la variabilidad étnica en los estudios de asociación entre los polimorfismos genéticos y enfermedad.

Respecto al gen de la IL-8, un estudio realizado en población China, ha sugerido que el polimorfismo rs 4073 del gen de la IL-8, podría constituir un marcador para el desarrollo primario de artritis gotosa primaria (Cui YX et al., 2016).

El gen que codifica el IFN- γ , presenta un SNP en el intrón 1 (+874 T/A) que está asociado con varias enfermedades autoinmunes e inflamatorias como la enfermedad inflamatoria intestinal y la tuberculosis (Ito C, et al., 2006; Rossouw M, et al., 2003).

Por otro lado, existen resultados contradictorios acerca del papel del alelo T del polimorfismo IFN- γ +874 T/A, en la patogénesis del desorden bipolar, ya que algunos estudios describen una asociación de este alelo con la susceptibilidad a desarrollar esta enfermedad (Fatemi Nayeri M, et al 2019 ; Yoon H-K, et al., 2012), mientras que otros estudios describen una asociación del genotipo TT y del alelo T, con un efecto protector frente al desarrollo del desorden bipolar (Clerici M, et al., 2009).

Por otra parte, analizamos la asociación entre las manifestaciones clínicas de la FM evaluadas mediante los diferentes test aplicados en este estudio, y el polimorfismo genético de las citoquinas pro- y anti-inflamatorias.

Los resultados de este estudio revelaron una frecuencia aumentada del genotipo heterocigoto G/A del SNP rs16944 del gen de la IL-1 β , en el grupo de pacientes con una manifestación de la enfermedad leve o moderada, según el test FIQ, con

respecto al grupo de pacientes con una manifestación grave o muy grave de la enfermedad, por el contrario, el genotipo homocigoto AA del SNP rs16944 del gen IL-1 , se encontró más representado en el grupo de pacientes con manifestaciones de la enfermedad grave o muy grave, según test FIQ.

Para el SNP rs1143634 del gen de la IL-1 , se observó que la frecuencia del genotipo homocigoto AA, estaba incrementada en pacientes con una manifestación de la enfermedad de moderada a grave, según la escala CGI, frente a aquellos pacientes con una manifestación de la enfermedad leve.

Nuestros resultados están en consonancia con un estudio realizado en pacientes con anemia de las células falciformes, los cuales tienen un estado de inflamatorio crónico, en el que se observó que el genotipo AA del SNP en posición +3954 G / A, (rs1143634) del gen de la IL-1 , estaba asociado con los casos más graves, lo cuales presentaban complicaciones debido a hipertensión pulmonar (Afifi RAA, et al., 2019).

En esta misma línea, existe otro estudio realizado en población brasileña que asocia los SNP del gen de la IL-1 (-511G>A y + 3954G>A) con complicaciones de la anemia de células falciformes, indicando que estos polimorfismos pueden actuar como predictores genéticos de la heterogeneidad clínica de la enfermedad (Vicari P et al., 2015).

Por el contrario, otros estudios como el realizado por Harrison et col, en pacientes con artritis reumatoide, no han observado una asociación directa entre el polimorfismo IL-1 (-511 A / G, rs16944), y las características de gravedad clínica de la enfermedad (Harrison Pet al., 2008)

Además, al estudiar las variaciones del VNTR de 70 pb de interleucina-4 (IL-4) e pacientes con FM encontramos una mayor frecuencia del genotipo heterocigoto 3R/2R en pacientes con mejor calidad de Vida, según el test CV, en comparación con aquellos que presentaban peor calidad de vida. Por el contrario, el genotipo homocigoto 3R/3R se encontraba aumentado en aquellos pacientes con peor calidad de vida, en comparación con aquellos pacientes con mejor calidad de vida.

Contrariamente a nuestros resultados, un estudio publicado en el año 2013 en el que se estudió el polimorfismo de la IL-4 en pacientes turcos con FM, no encontró una asociación entre las variaciones VNTR de 70 pares de bases del gen de la IL-4 y las características clínicas de la enfermedad (Yigit Set al., 2013).

De manera similar, otro estudio realizado en población China, reveló una ausencia de asociación entre el polimorfismo de la IL-4 y el desarrollo de ansiedad en pacientes con FM. (Shan-Yu Su, et al., 2007)

El estudio del SNPs rs1800469 del gen del TGF β , se observó un incremento de la frecuencia del genotipo homocigoto AA en el grupo de pacientes con afectación leve en la calidad de vida, según test calidad de vida, con respecto al grupo de pacientes con afectación moderada a grave. Además, se observó un incremento de la frecuencia del genotipo heterocigoto AG en el grupo de pacientes con ansiedad severa o grave, según test HARS, respecto al grupo de pacientes sin ansiedad o con ansiedad leve, media o moderada, con respecto al grupo de pacientes con ansiedad leve.

De manera similar a los resultados del presente estudio, un trabajo publicado en el año 2016, en pacientes con trastornos depresivos, encontró una asociación del SNPs en posición +869 del gen TGF β , con el desarrollo de depresión, lo que sugiere una asociación de este SNPs con el desarrollo de depresión, la cual es una manifestación clínica muy común en pacientes con FM. (Elena Ivanova-Genova et al., 2016).

Para el resto de polimorfismos estudiados no hemos encontrado una asociación con las manifestaciones clínicas de la enfermedad. Sin embargo, algunos estudios como el de Ito y colaboradores asocian el alelo T del polimorfismo de IFN- γ +874 T / A, con formas más severas de tiroiditis de Hashimoto (Ito et al 2006). Mientras que otros estudios asocian ciertos genotipos de la IL-10 con una manifestación moderada de la enfermedad según la escala de Hamilton, en pacientes con depresión (Elena Ivanova-Genova et al., 2016)

En definitiva, en el presente trabajo hemos encontrado una falta de asociación de los SNPs de las distintas citoquinas estudiadas y el desarrollo de FM, sin embargo si hemos encontrado asociación entre los SNPs rs16944, rs 1143634, de la IL-1, y la gravedad de la enfermedad, VNTR de la IL-4 con la calidad de vida, y del SNP rs1800469 del TGF β con el desarrollo de ansiedad en pacientes con FM. No obstante, y debido a la casi total ausencia de estudios de asociación entre los polimorfismos de citoquinas y el desarrollo de FM, es necesario la realización de más estudios de este tipo para confirmar nuestros resultados.

Influencia del polimorfismo de los genes HLA y KIR en el desarrollo de la fibromialgia.

Polimorfismo HLA y FM.

El descubrimiento de asociaciones entre ciertas enfermedades y las moléculas HLA ha proporcionado un fundamento firme para entender la etiología de muchas enfermedades (Trowsdale, 2011). La hipótesis general radica en que ciertos polimorfismos de estos genes HLA codificarían para proteínas que contribuirían a la pérdida de la tolerancia o facilitarían el desarrollo de autoinmunidad (Van Driel, I.R., et al., 2002; Vyse, T.J. et al, 1996).

Se han descrito múltiples asociaciones entre el polimorfismo HLA y el desarrollo de enfermedades autoinmunes como la EA, la AR (Masson-Bessière, C. et al., 2001; Van Venrooij et al., 2000), la EG, la EM y el SS entre otras (Thorsby, E., 2011).

Para el caso de la FM, ciertos autores han sugerido un papel directo del sistema HLA en la patogénesis de la enfermedad (Biasi GL et al., 1994; Hørven SL, et al., 1992), por lo que en el presente estudio, decidimos analizar la potencial asociación entre el polimorfismo HLA y la FM.

El estudio del polimorfismo de los genes HLA de clase I (HLA-A, -B, -C) reveló una ausencia de asociación entre los distintos alelos HLA y la susceptibilidad a desarrollar FM. Asimismo, tampoco se encontró una asociación entre dichos polimorfismos y las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Respecto al polimorfismo de los genes HLA de clase II (HLA-DRB1) estudiados, encontramos una frecuencia significativamente disminuida del alelo HLA-DRB1*04, en el grupo de pacientes con FM con respecto al grupo control, lo que revela un posible efecto protector de este alelo frente al desarrollo de esta enfermedad. Por el contrario, no encontramos una asociación significativa entre los polimorfismos de los genes HLA de clase II y las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Existen varios estudios publicados dos o tres décadas atrás, en los que se estudió el polimorfismo de los genes HLA en pacientes con FM y dolor crónico (Burda CD, et al., 1986 ; Hørven S, et al., 1992; Biasi G et al., 1994; Branco JC, et al., 1996; Yunus MB. 1998). Aunque los resultados de estos estudios no han sido muy consistentes, alguno de ellos ha encontrado una asociación entre los alelos HLA-B58, HLA-DR4, HLA-DR5, y HLA-DR8 y el desarrollo de FM y dolor crónico (Burda CD, et al., 1986;

Branco JC, et al., 1996). En concreto, el estudio realizado por Burda et al., encontró una asociación del alelo DR4 con la susceptibilidad a padecer FM (Burda CD, et al., 1986), este resultado va en contra de los resultados obtenidos en nuestro trabajo en los que hemos encontrado una asociación de este alelo con un efecto protector a desarrollar FM. Estas discrepancias, son bastante comunes en estudios de asociación entre polimorfismos genéticos y enfermedad, y pueden ser debidas a diferencias étnicas, al uso de distintos criterios de clasificación de los pacientes, e incluso a diferencias metodológicas.

Por el contrario, otros trabajos no han sido capaces de demostrar una asociación entre los polimorfismos de los genes HLA y el desarrollo de FM, (Yunus MB. Et al. 1998; Biasi Get al., 1994; Hørven S, et al., 1992)

Además, esta ausencia de asociación entre los polimorfismos HLA y la FM, ha sido confirmada recientemente en estudios de GWAS (Genome-wide association studies), (Jacob N.Ablin, et al., 2015) donde se ha observado una asociación de regiones específicas que se encuentran en la región cromosómica 17p11.2eq11.2 en la cual se encuentran dos potenciales genes candidatos como son el gen transportador de la serotonina (SLC6A4) y el receptor de potencial transitorio valinoide 2 (TRPV2). Lo cual va en la línea de que no existe una asociación consistente entre la región HLA y la FM.

Influencia del polimorfismo de los genes KIR y los ligandos HLA-I en el desarrollo de la fibromialgia.

El alto grado de polimorfismo de los receptores KIR y sus correspondientes ligandos HLA, confiere a estas moléculas un considerable potencial como marcadores de susceptibilidad y/o progresión en un amplio grupo de enfermedades inflamatorias o autoinmunes (M. Carrington et al., 2006).

Debido a ello, en el presente trabajo se ha estudiado la influencia del polimorfismo de los genes KIR, la influencia de los genotipos KIR (AA y BX) y la de los ligandos HLA de clase I de los receptores KIR, en la susceptibilidad y manifestaciones clínicas de un grupo de pacientes con FM provenientes de la región de Murcia.

El estudio individual de los genes KIRi y KIRa, los genotipos KIR (AA y BX) y los ligandos HLA clase-I en la población de pacientes con FM en comparación con el grupo control, no ha revelado asociaciones significativas. Asimismo, el análisis de la frecuencia de los genes KIRi y KIRa, los genotipos KIR (AA y BX) y los ligandos HLA

clase-I en pacientes con FM segregados en diferentes grupos en función de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, mostró frecuencias similares en los distintos grupos. Por lo tanto, no se encontró ninguna asociación de los genes KIR y sus ligandos con la susceptibilidad a desarrollar FM, ni con las características clínicas de la enfermedad. Sin embargo, y debido a la ausencia de estudios previos de asociación entre el polimorfismo de los genes KIR y sus ligandos y la FM en la literatura científica, no hemos podido contrastar nuestros resultados, por lo que es necesaria la realización de trabajos similares para poder confirmar los resultados obtenidos en este trabajo.

No obstante, existen numerosos estudios que han asociado el polimorfismo de los genes KIR y sus ligandos HLA clase-I con el desarrollo de otras enfermedades autoinmunes e inflamatorias (Tajik et al., 2011; Aranda-Romo et al., 2012). En estos estudios, se sugiere la existencia de un desequilibrio en el balance entre las señales activadoras proporcionadas por la interacción entre los receptores KIRa y sus ligandos, y las señales inhibitorias proporcionadas por la interacción entre los receptores KIRi y sus ligandos. De tal manera que cuando este desequilibrio se produce en favor de las señales activadoras (Wilson TJ, et al 2010 ; Sun HS, et al., 2019), puede afectar a la función de las células NK y las células T, dando lugar a una sobreproducción de citoquinas locales y sistémicas que pueden contribuir a la patogénesis de dichas enfermedades.

En esta línea, hay que destacar la publicación de un estudio realizado en población China, en el que se ha demostrado que la activación del receptor KIR2DS1 solo o en combinación con el ligando C1 en homocigosis (genotipo HLA-C1C1, que indica la ausencia de ligandos HLA C2 para su receptor inhibitor homólogo KIR2DL1) está asociada con la susceptibilidad a desarrollar artritis reactiva, mientras que la presencia del receptor KIR2DL2 en combinación con el ligando HLA-C1 está asociada con la protección contra la enfermedad (Sun HS, et al., 2019)

Otro estudio realizado en población mexicana con pacientes con esclerosis sistémica (SSc), observó que los genes KIR2DL2 y KIR2DS4 podrían tener un papel relevante en el riesgo de desarrollar SSc, pero no demostraron una asociación de dichos genes con las manifestaciones clínicas de la enfermedad (Machado-Sulbaran AC, et al., 2019).

En este mismo estudio, los autores también observaron que el genotipo Bx fue el más representado y se asoció con riesgo de desarrollar SSc. En contra de estos

resultados, nuestro estudio no encontró una asociación entre los genotipos KIR (genotipos AA y genotipo Bx) y el desarrollo y pronóstico de la FM, al comparar el grupo de pacientes con FM y el grupo control.

De la misma manera, otro trabajo realizado en Japón en pacientes con EII, mostró que los pares HLA-Bw4 y KIR-HLA pueden jugar un papel importante en la susceptibilidad genética a la dicha enfermedad (Saito H, et al., 2018).

Adicionalmente, un trabajo realizado en población iraní encontró una asociación entre los genes KIR, los ligandos HLA y la ES. En este estudio, de forma similar al nuestro, los genes KIR estudiados individualmente no se asociaron con el riesgo de desarrollar SSc, aunque si observaron que existe una relación importante entre determinadas combinaciones de los genes KIR y sus ligandos HLA de clase I con el desarrollo de la enfermedad (Mahmoudi M, et al., 2017).

Por el contrario, un metaanálisis realizado en el año 2017, sugirió que el polimorfismo KIR2DL1 y 2DS1 podría ser un factor protector potencial para la DMT1 en la etnia específica (Liu SL et al., 2017).

En definitiva, la evidencia científica ha demostrado un papel relevante de los genes KIR y sus ligandos HLA-Clase I en multitud de enfermedades inflamatorias y autoinmunes, sin embargo para determinar su papel en el desarrollo y pronóstico de la FM, sería necesaria la realización de otros estudios con series de pacientes más amplias y a ser posible con pacientes de diferentes etnias.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES:

1. Los niveles de serotonina se encuentran disminuidos en el suero de los pacientes con FM pero no parecen asociarse con la severidad de las manifestaciones clínicas de la enfermedad.
2. La prevalencia de ACS anti-serotonina IgG e IgM y los niveles séricos de estos ACS se encuentran aumentados en pacientes con FM respecto a la población sana.
3. La prevalencia de ACS anti-serotonina IgG e IgM es mayor en pacientes de FM con niveles de ansiedad moderada, severa o grave que en pacientes con niveles de ansiedad leve, lo que sugiere una asociación de estos ACS con formas más severas de la enfermedad.
4. Los niveles séricos de las citoquinas pro-inflamatorias (IL-1 , IL-6, IL-8, TNF- , IL-17a e IFN-) y anti-inflamatorias (IL-4, IL-10 y TGF-) estudiadas son similares en pacientes con FM y en la población sana.
5. Los SNPs de los genes de las citoquinas pro-inflamatorias (IL-1 , IL-6, IL-8, TNF- , IL-17a e IFN-) y anti-inflamatorias (IL-4, IL-10 y TGF-) estudiadas no parecen asociarse con la susceptibilidad al desarrollo de FM.
6. El genotipo AA del SNP rs16944 del gen de la IL-1 se asocia con una manifestación grave o muy grave de la enfermedad según el test FIQ en pacientes con FM, por el contrario, la presencia del genotipo GA de este SNP se asocia con una manifestación más leve de la enfermedad.
7. El genotipo AA del SNP rs1143634 del gen de la IL-1 se asocia con una manifestación moderada o grave de la FM según el test CGI.
8. El genotipo 3R/3R de la región VNTR del gen de la IL-4 se asocia con una peor calidad de vida en pacientes con FM, por el contrario el genotipo 2R/3R se asocia a una mejor calidad de vida de los mismos.
9. El genotipo GG del SNP rs1800469 del gen del TGF- se asocia a una mejor calidad de vida de los pacientes con FM, por el contrario el genotipo AG se asocia con niveles de ansiedad severa o grave en estos pacientes.

10. El polimorfismo de los genes KIR y HLA no se asocia con la susceptibilidad a desarrollar FM ni con las manifestaciones clínica de la misma.

11. Este trabajo confirma que la FM, además de estar condicionada por factores genéticos, desde el punto de vista inmunológico puede tener mecanismos etiopatogénicos diferentes como son los fenómenos autoinmunes o los fenómenos de desregulación de los mecanismos inflamatorios, hecho que puede tener relevancia clínica a la hora de evaluar adecuadamente a los pacientes así como para poder diseñar tratamientos más personalizados.

BIBLIOGRAFÍA

Aaron LA, Burke MM, Buchwald D. Overlapping conditions among patients with chronic fatigue syndrome, fibromyalgia and temporo-mandibular disorders. *Arch Intern Med.* 1994; 160: 221-27.

Abbadie C, Lindia JA, Cumiskey AM, et al.: Impaired neuropathic pain responses in mice lacking the chemokine receptor CCR2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 7947– 7952.

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Major Histocompatibility Complex Molecules and Antigen Presentation to T Lymphocytes. *Cellular and Molecular Immunology*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier/Saunders; 2010: 109-138

Abeles, A. M., Pillinger, M. H., Solitar, B. M., & Abeles, M. Narrative review: The pathophysiology of fibromyalgia. *Annals of Internal Medicine*, 2007;146: 726-734.

Ablin, J.N., Cohen, H. & Buskila, D. Mechanisms of disease: genetics of fibromyalgia. *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.* 2006 Dec; 2(12): 671–678

Ablin, J., Neumann, L. & Buskila, D. Pathogenesis of fibromyalgia A review. *Joint Bone Spine.* 2008; 75: 273–279

Abraham SN and St John AL. Mast cell-orchestrated immunity to pathogens. *Nat Rev Immunol.* 2010; 10: 440–452.

Aceves-Ávila JJ, Ferrari R, Ramos-Remus C. New insights in to culture-driven disorders. *Best Practice & Research Clin Rheumatol.* 2004;18: 55-71.

Aichele, P., Bachmann MF, Hengartner H, Zinkernagel RM. Immunopathology or organ-specific autoimmunity as a consequence of virus infection. *Immunol Rev.* 1996. 152: 21-45.

Albrecht Ds, Forsberg A, Sandström A et al.: Brain glial activation in fibromyalgia – A multi-site positron emission tomography investigation. *Brain Behav Immun.* 2019; 75: 72-83.

Alnigenis M.N.Y, Barland P. Fibromyalgia syndrome and serotonin. Clin Exp Rheumatol. 2001;19: 205-210.

Al-nimer Msm, Mohammad Tam, Alsakeni Ra: Serum levels of serotonin as a biomarker of newly diagnosed fibromyalgia in women: Its relation to the platelet indices. J Res Med Sci; 2018; 23: 71.

Al Omar S, Middleton D, Marshall E, Porter D, Xinarianos G, Raji O, et al. "Associations between genes for killer immunoglobulin-like receptors and their ligands in patients with solid tumors". Human Immunology. 2010; 71(10): 976–81.

Alvarez JC, Gluck N, Fallet A, Gregorie A, ChevalierJF, Advenier C, Spreux-Varoquaux O. Plasma serotonin level after 1 day of fluoxetine treatment: A biological predictor for antidepressant response ? Psychopharmacology (Berl) 1999; 143:97-101).

Alvarez P, Green PG, and Levine JD. Role for monocyte chemoattractant protein-1 in the induction of chronic muscle pain in therat. Pain. 2014; 155:1161–1167

Arisawa T, Tahara T, Shibata T, Nagasaka M, Nakamura M, Kamiya Y, et al. The influence of polymorphisms of interleukin-17A and interleukin-17F genes on the susceptibility to ulcerative colitis. J Clin Immunol. 2008; 28(1):44-9.

Arnett K. L., Parham P. HLA class I nucleotide sequences. Tissue Antigens 1995; 45: 217-257

Arnold LM, BlomT J, Welge JA, Mariutto E, Heller A. A randomized, placebo-controlled, double-blinded trial of duloxetine in the treatment of general fatigue in patients with chronic fatigue syndrome. Psychosomatics 2015; 56:242-53.

A. Steinkasserer, N.K. Spurr, S. Cox, P. Jeggo, R.B. Sim, The human IL-1 receptor antagonist gene (IL1RN) maps to chromosome 2q14- q21, in the region of the IL-1 alpha and IL-1 beta loci, Genomics. 1992 Jul, 13 (3): 654–657.

Atzeni. F, Talotta R., Masala I.F, Giacomelli C., Conversano C., Nucera V., Lucchino B, Iannuccelli C., Di Franco M., Bazzichi L. One year in review 2019: Fibromyalgia. Clinical and Experimental Rheumatology 2019; 37 (Suppl.116):S3-S10.

- Avrameas S, Ternynck T. Natural autoantibodies: the other side of the immune system. *Res Immunol* 1995; 146:235-48 .
- Aranda-Romo S, García-Sepulveda CA, Comas-García A, Lovato-Salas F, Salgado-Bustamante M, Gómez-Gómez A, et al. "Killer-cell immunoglobulin-like receptors (KIR) in severe A (H1N1) 2009 influenza infections". *Immunogenetics*. 2012; 64(9): 653-62.
- Ballenger JC. Clinical guidelines for establishing remission in patients with depression and anxiety. *J Clin Psychiatry* 1999; 60 (Suppl 22):29-34
- Bakker AB, Phillips JH, Figdor CG, Lanier LL. "Killer cell inhibitory receptors for MHC class I molecules regulate lysis of melanoma cells mediated by NK cells, gamma delta T cells, and antigen-specific CTL". *Journal of Immunology*. 1998; 160(11): 5239-45.
- Barbosa FR, Matsuda JB, Mazucato M, et al. Influence of catechol-O-methyltransferase (COMT) gene polymorphisms in pain sensibility of Brazilian fibromyalgia patients. *Rheumatol Int*. 2012; 32: 427-430
- Barth H, Klein R, Berg PA. L-tryptophancontamination "peak E" induce the release of IL-5 and IL-10 by peripheral blood mononuclear cells from patients with functional somatic syndromes. *Clin Exp Immunol*. 2001; 126:187-92.
- Bashirova A. A., Martin M. P., McVicar D. W., Carrington M. The killer Immunoglobulin-like receptor gene cluster: Tuning the genome for defense. *Annu Rev Genom Human Genet* .2006; 7:277-300.
- Bazzichi, L., Rossi, A., Massimetti, G., Giannaccini, G., Giuliano, T., De Feo, F., Ciapparelli A, Dell'Osso L, Bombardieri S. Cytokine patterns in fibromyalgia and their correlation with clinical manifestations. *Clinical and Experimental Rheumatology*. 2007 Mar-Apr; 25 (2): 225-230.
- Belenger R, Sisó A, Ramos-Casals M. Utilidad de la clasificación de la fibromialgia. *JANO*. 2008; 1:28-31.
- Biasi G, Fioravanti A, Galeazzi M, Marcolongo R. Absence of correlation between HLA antigens and fibromyalgia Syndrome in Italian patients *Ann Ital Med Int*. 1994 Oct-Dec;9(4):228-30.

- Biassoni R, Pessino A, Malaspina A, Cantoni C, Bottino C, Sivori S, et al. A. "Role of amino acid position 70 in the binding affinity of p50.1 and p58.1 receptors for HLA-Cw4 molecules". *European Journal of Immunology*. 1997; 27(12): 3095-9.
- Bingham. B., Ajit, S.K., Blake, D.R.&Samad, T. A. The molecular basic of pain and its implications in rheumatology. *Nat. Clin. Pract.Rheumatol*. 2009 Jan;5(1):28-37.
- Bi, Y., G. Liu, and R. Yang. Th17 cell induction and immune regulatory effects. *J Cell Physiol*, 2007.May; 211 (2): 273-8.
- Bjorkman P. J., Saper M. A., Samraoui B., Bennett W. S., Strominger J. L., Wiley D. C. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature*. 1987; 329:506-12.
- Blanco I, Bérítze N, Argüelles M, Cárcaba V, Fernández F, Janciauskiene S, Oikonomopoulou K, de Serres FJ, Fernández-Bustillo E, and Hollenberg MD . Abnormal over expression of mastocytes in skin biopsies of fibromyalgia patients. *Clin Rheumatol*. 2010; 29:1403–1412.
- Bobes J., Bulbena A., Luque A., Dal-Ré R., Ballesteros J., Ibarra N. y el Grupo de Validación en Español de Escalas Psicométricas (GVEEP), Evaluación psicométrica comparativa de las versiones en español de 6, 17 y 21 ítems de la Escala de valoración de Hamilton para la evaluación de la depresión. *Med Clin* . 2003. 120(18): 693-700.
- Bondy B, Spaeth M, Offenbaecher M, et al. The T102C polymorphism of the 5-HT2A-receptor gene in fibromyalgia. *Neurobiol Dis*. 1999; 6: 433–439.
- Branco JC, Tavares V, Abreu I, et al. HLA studies in fibromyalgia. *J Musculoske Pain* 1996;4:21-7.
- BuskilaD, Sarzi-PuttiniP,Ablin JN. The genetics of fibromyalgia síndrome. *Pharmacogenomics*. 2007,Jan; 8(1):67-74.
- Bravo C, SkjaervenLh, Espart A, Guitard Sein-Echaluce L, Catalan-Matamoros D: Basic Body Awareness Therapy in patients suffering from fibromyalgia: A randomized clinical trial. *PhysiotherTheoryPract* . 2019 Oct; 35(10):919-929

Burda CD, Cox FR, Osborne P. Histocompatibility antigens in the fibrositis (fibromyalgia) Syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 1986 Oct-Dec; 4(4):355-8.

Burshtyn DN, Scharenberg AM, Wagtmann N, Rajagopalan S, Berrada K, Yi T, et al. "Recruitment of tyrosine phosphatase HCP by the Killer Cell Inhibitor Receptor". *Immunity*. 1996; 4(1): 77-85.

Calandre EP, Rico-Villademoros F, Galán J, Molina-Barea R, Vilchez JS, Rodriguez-Lopez CM, Hidalgo-Tallon J, Morillas-Arques P. Quetiapine extended-release (Seroquel-XR) versus amitriptyline monotherapy for treating patients with fibromyalgia: a 16-week, randomized, flexible-dose, open-label trial. *Psychopharmacology (Berl.)*. 2014 Jun; 231(12): 2525–2531.

Candito M, Souetre E, Lordache A, Pringuey D, Ardisson JL, Chambon P, Darcourt G. Diurnal variation in total plasma tryptophan in controls and in depression. *J. Psychiatr Res* 1990; 24:227-230.

L. Carmona, F.J. Ballina, R. Gabriel, A. Laffon, EPISER Study Group. The burden of musculoskeletal diseases in the general population of Spain: results from a nationwide study. *Ann Rheum Dis*. 2001; 60: 1040-1045.

Carrasco GA, Van De Kar LD. Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol*. 2003; 463(1–3): 235–272.

M. Carrington M. P. Martin. The Impact of Variation at the KIR Gene Cluster on Human Disease. *Immunobiology of Natural Killer Cell Receptor*. 2006; 298: 225-257.

Carvalho LS, Correa H, Silva GC, Campos FS, Baiao FR, Ribeiro LS, Aria AM, d'Avila Reis, D. May genetic factors in fibromyalgia help to identify patients with differentially altered frequencies of immune cells? *Clin Exp Immunol*, 2008 Dec; 154 (3):346-52.

Casanueva B. Tratado de fibromialgia. ISBN-13: 9788461166183. Ed. Cantabria Imagen. 1ª Edición

Catley D, Kaell AT, Kirschbaum C, Stone AA. A naturalistic evaluation of cortisol secretion in persons with fibromyalgia and rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res*. 2000; 13(1):51-61. 19.

Chatterjea D and Martinov T. Mast cells: versatile gatekeepers of pain. *Mol Immunol* 2015 Jan; 63(1):38–44.

Chong W, Ip W, Wong W, Lau C, Chan T, Lau Y. Association of interleukin-10 promoter polymorphisms with systemic lupus erythematosus. *Genes Immun.* 2004; 5: 484-92.

Clauw, D. J., Arnold, L. M., McCarberg, B. H. & Fibro Collaborative. The science of fibromyalgia. *Mayo Clin. Proc.* 2011 Sep; 86 (9):907-11.

Clawn DJ. Fibromyalgia: a clinical review. *JAMA.* 2014 Apr 16;311(15):1547-55

Clerici M, Arosio B, Mundo E, Cattaneo E , Pozzoli S, Dell’Osso B, et al. Cytokine polymorphisms in the pathophysiology of mood disorders. *CNS spectrums.* 2009; 14(8):419-25.

Cohen H, Buskila D, Neumann L, Ebstein RP. Confirmation of an association between fibromyalgia and serotonin transporter promoter region (5- HTTLPR) polymorphism, and relations hip to anxiety-related personality traits. *Arthritis Rheum.* 2002; 46:845-847.

Corthay, A., How do regulatory T cells work? *Scand J Immunol*, 2009. 70(4): p. 326-36.

Costantino, C. M., C. Baecher-Allan, and D.A. Hafler, Multiplesclerosis and regulatory T Cell. *J Clin Immunol*, 2008. 28(6): p. 697-706.

Craven N, Jackson C, Kirby B, Perrey C, Pravica V, Hutchinson I, et al. Cytokine gene polymorphisms in psoriasis. *Br J Dermatol.* 2001;144:849-53.

Cuatrecasas G, Riudavets C, Güell MA, Nadal A. Growth hormone as concomitant treatment in severe fibromyalgia associated with low IGF-1 serum levels. A pilot study. *BMC Musculo skeletal Disorders*, 2007; 8: 119.

Cui YX, Zhao H, Guo HQ. Role of IL-8 rs 4073 and rs 2227306 polymorphisms in the development of primary gouty arthritis in a Chinese population. *Genet Mol Res.* 2016 Oct 17; 15(4).

- Dai C-Y, Chuang W-L, Hsieh M-Y, Lee L-P, Hou N-J, Chen S-C, et al. Polymorphism of interferon- γ gene at position+ 874 and clinical characteristics of chronic hepatitis C. *Translational Research*. 2006; 148 (3):128-33
- D'Andrea A, Chang C, Franz-Bacon K, McClanahan T, Phillips JH, Lanier LL. "Molecular cloning of NKB1: a natural killer cell receptor for HLA-B allotypes". *Journal of Immunology*. 1995; 155(5): 2306- 2310.
- Daridon, C, P. Youinou, and J.O. Pers, BAFF, APRIL, TWE-PRIL: who's who? *Autoimmun Rev.* 2008; 7(4): p. 267-71.
- Das S, Baniyadi V, Kapuria V. Association of -308 TNF- promoter polymorphism with type 1 diabetes in North Indians. *Int J Immunogenet*. 2006; 33:411-6,
- Depression: management of depression in primary and secondary care- NICE guidance. 2004.
- Diatchenko L, Slade Gd, Nackley Ag et al. Genetic basis for individual variations in pain perception and the development of a chronic pain condition. *Hum Mol Genet*. 2005; 14: 135-43.
- Diaz Robredo. ¿Es la Fibromialgia un trastorno depresivo con síntomas somáticos o es un síndrome de sensibilización central con comorbilidad depresiva? *Sanid. mil*. 2014; 70 (2): 76-87
- Díaz Robredo LA, Robles Sánchez JI. Estabilidad emocional y cortisol como factores diferenciadores de la fibromialgia. *Sanid. mil*. 2011; 67 (1): 11-17.
- Docampo, E. et al. Genome-wide analysis of single nucleotide polymorphisms and copy number variants in fibromyalgia suggest a role for the central nervous system. *Pain*. 2014 Jun;155 (6):1102-9
- Dong-Jin Park and Shin-Seok Le. New insights into the genetics of fibromyalgia. *Korean J Intern Med*. 2017; 32:984-995.
- Dunham I, Sargent CA, Dawkins RL, Campbell RD. An analysis of variation in the long-range genomic organization of the human major histocompatibility complex class II region by pulsed-field gel electrophoresis. *Genomics*. 1989, (4): 787-96

Du Z, Gjertson DW, Reed EF, Rajalingam R. "Receptor-ligand analyses define minimal killer cell Ig-like receptor (KIR) in humans". *Immunogenetics*. 2007; 59(1): 1-15.

Egon Werle, Heinrich P.Fisher, Annette Muller, Walter Fiehn, and Wolfgang Eich. Antibodies against Serotonin have no diagnostic relevance in patient with Fibromialgia Syndrome. *J Rheumatol*. 2001 Mar; 28 (3):595-600

Elena Ivanova-Genova, Tzvetelin Lukanov, Vesela Stoyanova, Vihra Milanova, Elissaveta Naumova. A study of TNF-, TGF-, IL-10, IL-6, and IFN- gene polymorphisms in patients with depression. *J Neuroimmunol*. 2016 Apr 15; 293: 123-128.

Enoksson M, Lyberg K, Möller-Westerberg C, Fallon PG, Nilsson G, and Lunderius-Andersson C. Mastcells as sensors of cell injury through IL-33 recognition. *J Immunol*. 2011; 186:2523–2528.

Ernberg M, Hedenberg-Magnusson B, Alstergren P, Kopp S. The level of serotonin in the superficial masseter muscle in relation to local pain and allodynia. *Live Sci*. 1999; 65: 313-325.

Eskdale J, Kube D, Tesch H, Gallagher G. Mapping of the human IL-10 gene and further characterization of the 5' flanking sequence. *Immunogenetics*. 1997; 46: 20-8.

Estudio EPISER *Sociedad Española de Reumatología*. Prevalencia e impacto de las enfermedades reumáticas en la población adulta española. Monografía 2011.

Seoane-Mato D, et al., Prevalencia de enfermedades reumáticas en población adulta en España (estudio EPISER 2016)

Fatemi Nayeri M, Talaei A, Tavakkol Afshari J, Nikpoor AR, Talaei A, Ganjali R. Association between IFN- +874 T/A (Rs2430561) Polymorphisms and Bipolar 1 Disorder: A Study in an Ethnic Iranian Population. *Rep Biochem Mol Biol*. 2019 Apr; 8(1):1-8.

Feng J, Zhang Z, Wu X, Mao A, Chang F, et al. Discovery of Potential New Gene Variants and Inflammatory Cytokine Associations with Fibromyalgia Syndrome by Whole Exome Sequencing. *PLoS One*. 2013 Jun 10; 8(6):e65033

Ferrari R, Russell AS. Fibromyalgia: 30 years of drug-seeking behavior. *Nature Clin Practice Rheumatol.* 2007; 3:62-3.

Ferrer. Calidad de vida como herramienta de controlen las Unidades de dolor. V Congreso de la Sociedad Española del Dolor. Eds. ARAN S.L Barcelona. 2002,68-70

Fibromialgia. MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL E IGUALDAD. (2011) ISBN: 978-84-7670-717-3

Fibrositis síndrome: A historical perspective. Article in *Journal of Rheumatology Supplement* 19:2-6. December 1989.

Fife M, Gutiérrez A, Ogilvie E, Samuel J, Gutiérrez A, Humphries SE, et al. Novel IL-10 gene family associations with systemic juvenile Idiopathic arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2006; 8(5): R148.

Finan PH, Zautra AJ, Davis MC, Lemery-Chalfant K, Covault J, Tennen H. COMT moderates the relation of daily mal adaptive coping and pain in fibromyalgia. *Pain.* 2011; 152:300–307.

Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, Woo P. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest.* 1998, 102: 1369-76.

Fishman PH. Gangliosides as cell surface receptors and transducers of biological signals. In: Ledeen RW, Hogan EL, Tettamanti G, Yates AJ, Yu RR (Eds) *New Trends in Ganglioside Research: Neurochemical and Neuroregenerative Aspects.* Liviana Press, Padova. 1988; 183-217.

Fitzcharles, MA, Costa, DD, Poyhia, R. *A study of standard care in fibromyalgia syndrome: a favorable outcome.* *J Rheumatol.* 2003; 30:154.

Fraile A, Nieto A, Beraun Y, Vinasco J, Matarán L, Martín J. Tumor necrosis factor gene polymorphisms in ankylosing spondylitis. *Tissue Antigens.* 1998;51:386-90

Froiep R. *Einbeitrag zur pathologie und therapie des rheumatismus.* Weimar, 1843

Fujinami, RS., Von Herrath MG., Christen U, and Whitton , JL. Molecular mimicry, bystander activation , or viral persistence: infections and autoimmune disease. *Clin Microbiol Rev*, 2006.19(1): 80-94.

Fux M, Pecaric-Petkovic T, Odermatt A, Hausmann OV, Lorentz A, Bischoff SC, Virchow JC, and Dahinden CA. IL-33 is a mediator rather than a trigger of the acute allergic response in humans. *Allergy*. 2014; 69:216-222.

Gambino CM, Di Bona D, Aiello A, Carru C, Duro G, Guggino G, Ferrante A, Zinellu A, Caruso C, Candore G, Accardi G. HLA-C1 ligands are associated with increased susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Hum Immunol*. 2018 Mar; 79(3):172-177.

Giovenco, S.L., Russell, I.J. & Larson, A.A. Increased concentrations of nerve growth factor in cerebrospinal fluid of patients with fibromyalgia. *J. Rheumatol*. 1999; 26, 1564-1569

Gowers WR. Lumbago: its lessons and analogues. *Br Med J*, 1 (1904), 117-21

Goldenberg DL. Fibromyalgia and other chronic fatigue syndromes: Is there any evidence for chronic viral diseases? *Semin Arthritis Rheum*. 1988; 18:111-20.

Gracely, R.H., Petzke, F., Wolf, J.M. & Clauw, D.J. Functional magnetic resonance imaging evidence of augmented pain processing in fibromyalgia. *Arthritis Rheum*. 2002; 46, 1333-1343

Graven-Nielsen T, Arendt-Nielsen L. Peripheral and central sensitization in musculoskeletal pain disorders: an experimental approach. *Curr Rheumatol Rep*. 2002 Aug; 4(4):313-21

Grönblad, M., Nykänen, J., Kontinen, Y., Järvinen, E. & Helve, T. Effect of zopiclone on sleep quality, morning stiffness, widespread tenderness and pain and general discomfort in primary fibromyalgia patients. A double-blind randomized trial. *Clin. Rheumatol*. 1993; 12: 186–191.

Mamyrova G, O'Hanlon TP, Sillers L, Malley K, James-Newton L, Parks CG, Cooper GS, Pandey JP, Miller FW, Rider LG; Childhood Myositis Heterogeneity Collaborative Study Group. Cytokine Gene Polymorphisms as Risk and Severity Factors for Juvenile Dermatomyositis. *Arthritis Rheum.* 2008 Dec;58(12):3941-50.

Gu'r, A., Karakoc, M., Erdogan, S., Nas, K., Cevik, R., & Sarac, A. J. Regional cerebral blood flow and cytokines in Young females with fibromyalgia. *Clinical and Experimental Rheumatology.* 2002; 20: 753-760.

Gu'r, A., Karakoc, M., Nas, K., Remzi, Cevik, Denli, A., et al. Cytokines and depression in cases with fibromyalgia. *The Journal of Rheumatology.* 2002; 29: 358-361.

Gursoy S, Erdal E, Herken H, Madenci E, Alasehirli B. Association of T102C polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene with psychiatric status in fibromyalgia syndrome. *Rheumatol Int.* 2001; 21:58-61

Guy, W. Clinical global impression. ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology, revised. 1976.

Hackshaw KV, Aykas DP, Sigurdson GT, Plans M, Madiari F, Yu L, Buffington CAT, Giusti MM, Rodriguez-Saona L. Metabolic fingerprinting for diagnosis of fibromyalgia and other rheumatologic disorders. *J. Biol Chem.* 2019 Feb 15; 294(7):2555-2568.

Hamilton, M., A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1960; (23): 56-62

Hamilton, M., Development of a rating scale for primary depressive illness. *Br J Soc Clin Psychol.* 1967; (6): 278-296.

Hamilton M. The assessment of anxiety states by rating. *Br J Med Psychiat* 1959; 32:50-5.

Harrison. Principios de Medicina Interna, 19e; 2019 Capítulo 373e: El complejo mayor de histocompatibilidad.

Hasset AL, Claw DJ. Fibromyalgia and irritable bowel syndrome: there is a connection? *Medscape CME.* Epub 2010 Jun

Harden RN, Revivo G, Song S, et al. A critical analysis of the tender points in fibromyalgia. *Pain Med.* 2007; 8(2):147-56.

Häuser W, Bernardy K, Arnold B, Offenbächer M, and Schiltenswolf M. Efficacy of multicomponent treatment in fibromyalgia syndrome: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Arthritis Rheum*, 2009; 61:216–224.

Häuser,W., Kosseva,M., Üceyler,N., Klose,P. &Sommer,C. Emotional, physical, and sexual abuse in fibromyalgia syndrome: a systematic review with metaanalysis. *ArthritisCare Res. (Hoboken)*. 2011; 63, 808–820

Häuser, W., Urrútia, G., Tort, S., Uçeyler, N. & Walitt, B. Serotonin and noradrenaline reuptake inhibitors (SNRIs) for fibromyalgia syndrome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 Jan 31;(1):CD010292

Häuser, W., Walitt, B., Fitzcharles, M.A. &Sommer, C. Review of pharmacological therapies in fibromyalgia syndrome. *Arthritis Res Ther.* 2014 Jan 17;16(1):201

Häuser,W., Wolfe,F., Tölle, T., Uçeyler,N. & Sommer,C. The role of antidepressants in the management of fibromyalgia syndrome: a systematic review and meta-analysis. *CNS Drugs* 2012; 26, 297–307.

Hazemeijer I Rasker JJ. Fibromyalgia and the therapeutic domain. A philosophical study on the origins of fibromyalgia in a specific social setting. *Rheumatology.* 2003; 42:1514-19

Henningsen P, Zipfel S, Herzog W. Management of functional somatic syndromes. *Lancet.* 2007; 369:946-55

Hesse-Husain, J. Fibromyalgia: A psychoneuroimmunological perspective. 2007; urn:nbn:de:hbz:385-4050. [Electronic version]. Retrieved March 5, 2008, from University of Trier, Department for Theoretical and Clinical Psychobiology.

Hertzman PA, Borda IA: The toxic oil syndrome and the eosinophilia-myalgia syndrome: Pursuing clinical parallels. *J. Rheumatol* 1993; 20: 1707-10.

Hoffmann, Steven C.; Stanley, Eran M.; Darrin Cox, E.; Craighead, Nancy; Dimercurio, Barbara s.; Koziol, Deloris E.; Harlan, David m.; Kirk, Allan D.; Blair, Patrick j. Association of cytokine polymorphic inheritance and in vitro cytokine production in anti-cd3/cd28-stimulated peripheral blood lymphocytes. *Transplantation*:October 27th, 2001 - Volume 72 - Issue 8 - 1444-1450

Hohler T, Schaper T, Schneider P, Meyer zum Büschenfelde K, MärkerHermann E. Association of different tumor necrosis factor alpha promoter allele frequencies with ankylosing spondylitis in HLA-B27 positive individuals. *Arthritis Rheum.* 1998;41:1489-92.

Hollenbach JA, Necedal I, Ladner MB, Single RM, Trachtenberg EA. "Killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) gene content variation in the HGDP-CEPH populations". *Immunogenetics.* 2012; 64(10): 719–37.

Hollenbach JA, Pando MJ, Caillier SJ, Gourraud PA, Oksenberg JR. The killer immunoglobulin-like receptor KIR3DL1 in combination with HLA-Bw4 is protective against multiple sclerosis in African Americans. *Genes Immun.* 2016 Apr;17(3):199-202.

Holman, A. J. & Myers, R. R. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of pramipexole, a dopamine agonist, in patients with fibromyalgia receiving concomitant medications. *Arthritis Rheum,* 2005; 52, 2495–2505.

Horton R., Wilming L., Rand V., Lovering R. C, Bruford E. A., Khodiyar V. K. , Lush M. J., Povey S., Talbot Jr C. C., Wright M. W., Wain H. M., Trowsdale J., Ziegler A., Beck S. Gene map of the extended human MHC. *Nat Rev Genet.* 2004; 5:889-899

Hørven S, Stiles TC, Holst A, Moen T. HLA antigens in primary fibromyalgia syndrome. *J Rheumatol.* 1992 Aug; 19 (8):1269-70.

Hrycaj P, Stratz T, Muller W: Platelet ³H-mipramina uptake receptor density and serum serotonin levels in patients with fibromyalgia/fibrositis syndrome (letter); Russell IJ, Vipraio GA, Lopez Y: Reply. *J. Rheumatol.* 1993; 20:1986-8.

Huizinga T, Westendorp R, Bollen E, Keijsers V, Brinkman B, Langermans J, et al. TNF-alpha promoter polymorphisms, production and susceptibility to multiple sclerosis in different groups of patients. *J Neuroimmunol.* 1997;72: 149-53

Igarashi T, Wynberg J, Srinivasan R, Becknell B, McCoy JP Jr, Takahashi Y, et al. "Enhanced cytotoxicity of allogeneic NK cells with killer immunoglobulin-like receptor ligand incompatibility against melanoma and renal cell carcinoma cells". *Blood.* 2004; 104(1): 170-7.

Ito C, Watanabe M, Okuda N, Watanabe C, Iwatani Y. Association between the severity of Hashimoto's disease and the functional+ 874A/T polymorphism in the interferon- gene. *Endocrine journal.* 2006; 53 (4):473-8.

Jacob N. Ablin, Dan Buskila. Update on the genetics of the fibromyalgia síndrome. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2015 Feb;29(1):20-8

Jahromi MM, Millward BA. Demaine AGA polymorphism in the promoter region of the gene for interleukin-6 is associated with susceptibility to type 1 diabetes mellitus. *J Interferon Cytokine Res.* 2000; 20: 885-8.

J. Babes, M.P González, J. Vallejo, J. S, J. Gibert, J.L. Ayuso, F. Rico. Oviedo SleepQuestionnaire (OSQ): A new semistructured interview for sleep disorders. *European Neuropsychopharmacology* 1998; 8 (suppl 2):S162.

Jiao YL, Ma CY, Wang LC, Cui B, Zhang J, YouL, Chen ZJ, Li JF, Zhao YR. Polymorphisms of KIRs gene and HLA-C alleles in patients with ankylosing spondylitis: possible association with susceptibility to the disease. *J Clin Immunol.* 2008 Jul; 28(4):343-9.

Julia Uceda Montañés, M^a Isabel González Agudo, Celia Fernández Delgado, Raquel Hernández Sánchez: Fibromialgia. Sección de Reumatología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. *Revista Española de Reumatología.* Diciembre 2000. Vol. 27. Núm. 10. Páginas 413-449.

Julien, N., Goffaux, P., Arsenault, P. & Marchand, S. Widespread pain in fibromyalgia is related to a deficit of endogenous pain inhibition. *Pain.* 2005 Mar;114(1-2):295-302.

- Karasneh J, Hajeer AH, Barrett J, Ollier WE, Thornhill M, Gul A. Association of specific interleukin 1 gene cluster polymorphisms with increased susceptibility for Behcet's disease. *Rheumatology (Oxford)*. 2003; 42(7):860–864
- Kashikar-Zuck S, Black Wr, Pfeiffer M et al.: Pilo trandomized trial of integrated cognitive-behavioral therapy and neuromuscular training for juvenile fibromyalgia: The FIT TeensProgram. *J Pain*. 2018; 19: 1049-62
- Kawaguchi Y, Tochimoto A, Ichikawa N, Harigai M, Hara M, Kotake S, et al. Association of IL1A gene polymorphisms with susceptibility to and severity of systemics clerosis in the Japanese population. *Arthritis Rheum*. 2003 Jan;48(1):186-92
- Kelley KW, Bluth RM, Dantzer R, et al.: Cytokine-induced sickness behavior. *Brain Behav Immun* 2003, 17: S112–S118.
- Kelly M. The nature of fibrositis; the myalgic lesion and its secondary effects; a reflex theory. *Ann Rheum Dis*. 1945 Sep;5(1):1-7.
- Kempuraj D, Tagen M, Iliopoulou BP, Clemons A, Vasiadi M, Boucher W, House M, Wolfberg A, and Theoharides TC Luteol in inhibits myelin basic protein induced human mast cell activation and mastcell-dependent stimulation of Jurkat T cells. *Br J Pharmacol*. 2008; 155:1076-1084.
- Khakoo SI, Thio CL, Martin MP, Brooks CR, Gao X, Astemborski J, et al. "HLA and NK cell inhibitory receptor genes in resolving hepatitis C virus infection". *Science*. 2004; 305(5685): 872-4.
- Khalil A, Hall J, Aziz F, Price P. Tumor necrosis factor: implications for surgical patients. *ANZ J Surg*. 2006 Nov;76(11):1010-6.
- Kim SK, Kim SH, Nah SS, et al. Association of guanosine triphosphate cyclohydrolase 1 gene polymorphisms with fibromyalgia syndrome in a Korean population. *J Rheumatol*. 2013; 40:316–322
- Kingo K, Kōks, Silm H, Vasar E. IL-10 promoter polymorphisms influence disease severity and course in psoriasis. *Genes Immun*. 2003; 4:455-57
- Klein J., Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med*. 2000; 343:702-709.

Klein R, Berg PA. Demonstration of “naturally occurring mitochondrial antibodies” in family members of patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 1990 ; 12:335-341.

Klein R, Berg PA, Bansch M. High incidence of antibodies to 5-hydroxytryptamine, gangliosides and phospholipids in patients with chronic fatigue and fibromyalgia syndrome and their relatives: evidence for a clinical entity of both disorders. *Eur J Med Res* 1995;1:21-6.

Klein R, Bansch M, Berg PA. Clinical relevance of antibodies against serotonin and gangliosides in patients with primary fibromyalgia syndrome. *Psychoneuroendocrinology*. 1992; 17:593-8.

Klein R, Berg PA. A comparative study on autoantibodies to nucleoli and 5-hydroxytryptamine in patients with fibromyalgia syndrome and tryptophan-induced eosinophilia-myalgia syndrome. *Clin Invest*. 1994; 72:541-9

Kumanovics A, Takada T, Lindahl KF. Genomic organization of the mammalian MHC. *Annu Rev Immunol*. 2003; 21: 629-57.

Lázaro C, Bosch F, Torrubia R, Baños JE. The Development of a Spanish Questionnaire for Assessing Pain: Preliminary Data Concerning Reliability and Validity. *Eu J Psychol Assessment* 1994; 10(2): 145-51.

Lee S-W, Chuang T-Y, Huang H-H, Lee K-F, Chen TT-W, Kao Y-H, et al. Interferon gamma polymorphisms associated with susceptibility to tuberculosis in a Han Taiwanese population. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2015; 48(4):376-80.

Lee Y, Harley J, Nath S. Meta-analysis of TNF- promoter -308 A/G polymorphisms and SLE susceptibility. *Eur J Hum Genet*. 2006;14:363-71.

Lee YH, Bae SC. Association between circulating transforming growth factor- 1 level and polymorphisms in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: A meta-analysis. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2017 Feb 22;63(1):53-59.

Leslie Crofford. New knowledge of the pathophysiology of fibromyalgia syndrome. *Medwave* 2005 Jun; 5 (6):e1194.

Leslie Crofford Merskey H, Bogduck N. Classification of chronic pain: descriptions of chronic pain syndromes and definition of pain terms. 2nd ed. Seattle. International Association for Study of Pain (IASP Press); 1994.

Levine, S. J. Mechanisms of soluble cytokine receptor generation. *Journal of Immunology*. 2004; 173, 5343-5348.

Light KC, Bragdon EE, Grewen KM, Brownley KA, Girdler SS, Maixner W. Adrenergic dysregulation and pain with and without acute beta-blockade in women with fibromyalgia and temporomandibular disorder. *J Pain*. 2009 May;10(5):542-52.

Li JT, GuoC, Li ML, Wei YQ, HouYF, JiaoYL, Zhao YR, SunH, XuJ, CaoMF, FengL, YuGN, GaoL, LiuYQ, ZhangBC, ZhaoJJ, Zhang HQ. Killer cell immunoglobulin-like receptor genes and their HLA-C ligands in Hashimoto Thyroiditis in a Chinese population. *EndocrPract*. 2016 Aug;22(8):935-40.

Lilian Andrea Casas Alberto Gómez Gutiérrez. Association of genetic polymorphisms of TNF- and IL-10, regulatory cytokines of the immune response in infectious, allergic and autoimmune diseases. *Asociación colombiana de infectología* 2008; Vol . 12 – 1.

Lim DG, Slavik JM, Bourcier K, Smith KJ, Hafler DA. Allelic variation of MHC structure alters peptide ligands to induce atypical partial agonistic CD8+ T cell function. *J Exp Med*. 2003; 198: 99-109.

Liu SL, Zheng AJ, Ding L. Association between KIR gene polymorphisms and type 1 diabetes mellitus (T1DM) susceptibility: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2017 Dec;96(52):9439.

Lobo A, Chamorro L, Luque A, Dal-Ré R, Badía X, Baró E y el Grupo de Validación en Español de Escalas Psicosométricas (GVPEEP). Validación de las versiones en español de la Montgomery-Asberg Depression Rating Scale y la Hamilton Anxiety Rating Scale para la evaluación de la depresión y de la ansiedad. *Med. Clin (Barc)* 2002; 118(13):439-9.

Loevinger BL, Shirtcliff EA, Muller D, Alonso C, Coe CL. Delineating Psychological and Biomedical Profiles in a Heterogeneous Fibromyalgia Population Using Cluster Analysis. *Clin Rheumatol*. 2012 Apr; 31(4):677-85.

Lucas HJ, Brauch CM, Settas L, and Theoharides TC (2006) Fibromyalgia-new concepts of pathogenesis and treatment. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2015;19:5–10. 63 .

Ludewig, B., R.M. Zinkernagel, and H. Hengartner, Transgenic animal models for virus-induced autoimmune diseases. *Exp Physiol*, 2000. 85(6): p. 653-9.

Macedo JA, Hesse J, Turner JD, Meyer J, Hellhammer DH, Muller CP. Glucocorticoid sensitivity in fibromyalgia patients: decreased expression of corticosteroid receptors and glucocorticoid-induced leucine zipper. *Psychoneuroendocrinology*. 2008; 33(6): 799-809.

McCain GA, Tilbe KS. Diurnal hormone variation in fibromyalgia syndrome: a comparison with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol Suppl*. 1989; 19: 154-7.

Machado-Sulbaran AC, Ramírez-Dueñas MG, Navarro-Zarza JE, Muñoz-Valle JF, Mendoza-Carrera F, Baños-Hernández CJ, Parra-Rojas I, Montoya-Buelna M, Sánchez-Hernández PE. KIR/HLA Gene Profile Implication in Systemic Sclerosis Patients from Mexico. *J Immunol Res*. 2019 Jan 6; 2019: 6808061.

McDowell TL, Symons JA, Ploski R, Forre O, Duff GW. A genetic association between juvenile rheumatoid arthritis and a novel interleukin-1 alpha polymorphism. *Arthritis Rheum*. 1995; 38:221–22.

MacFarlaneGJ, Kronisch c, Dean le et al.: EULAR Revised recommendations for the management of fibromyalgia. *Ann Rheum Dis*. 2017; 76: 318-28.

Mahmoudi M, Fallahian F, Sobhani S, Ghoroghi S, Jamshidi A, Poursani S, Dolati M, Hosseinpour Z, Gharibdoost F. Analysis of killer cell immunoglobulin-like receptors (KIRs) and their HLA ligand genes polymorphisms in Iranian patients with systemic sclerosis. *Clin Rheumatol*. 2017 Apr;36(4):853-862.

Mali Emberg, Ulle Voog, Per Alstergren, Thomas Lundeberg, Sygvard Kopp. Plasma and Serum serotonin Levels and Their Relationship to Orofacial Pain and Anxiety in Fibromyalgia. *Journal of Orofacial Pain*. 2000;14:37-46.

Mandelboim O, Reyburn HT, Valés-Gómez M, Pazmany L, Colonna M, Borsellino G, et al. "Protection from lysis by natural killer cells of group 1 and 2 specificity is mediated by residue 80 in human histocompatibility leukocyte antigen C alleles and

also occurs with empty major histocompatibility complex molecules". *The journal of experimental medicine*. 1996; 184(3): 913-922.

Manuel López Espino, José Carlos Mingote Adán. *Fibromyalgia Clínica y Salud*, 2008, vol. 19 n. 3 - Págs. 343-358.

María Teresa Bascarán Fernández, Celso Iglesias Álvarez, Pilar Alejandra Saiz Martínez, María Paz García Portilla González, Julio Bobes García, Juan M^a Fernández Domínguez. Propiedades psicométricas del cuestionario oviedo de sueño. *Psicothema*, Vol. 12, N^o. 1, 2000, págs. 107-112

Marsh S. G., Parham P., Dupont B., Geraghty D. E., Trowsdale J., Middleton D., Vilches C., Carrington M., Witt C., Guethlein L. A., Shilling H., Garcia C. A., Hsu K. C., Wain H. Killer-cell immunoglobulin-like receptor (KIR) nomenclature report, 2002. *Tissue Antigens*. 2003; 62:79-86.

Marsh SG; WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System. Nomenclature for factors of the HLA system, update. *Hum Immunol*. 2012; 73 (1):130-4

Martin MP, Borecki IB, Zhang Z, Nguyen L, Ma D, Gao X, et al. "HLA-Cw group 1 ligands for KIR increase susceptibility to invasive cervical cancer". *Immunogenetics*. 2010; 62(11-12): 761–65.

Masson-Bessière, C. et al., The major sinovial target of the arthritis-specific anti filaggrin autoantibodies are delimited forms of the alpha and beta-chain so fibrin. *J Immunol*. 2001; 166(6): p. 4177-84.

Matsuda JB, Barbosa FR, Morel LJ, et al. Serotonin receptor (5-HT 2A) and catechol-O-methyl transferase (COMT) gene polymorphisms: triggers of fibromyalgia? *Rev Bras Reumatol*. 2010; 50:141–149.

Matzinger, P., Tolerance, damage, and the extended family. *Annual Review of Immunology*, 1994. 12: p. 991-1045.

Mease P, Arnold LM, Bennett R, Boonen A, Buskila D, Carville S, Chappell A, Choy E, Clauw D, Dadabhoy D, Gendreau M, Goldenberg D, Littlejohn G, Martin S, Perera P,

Meda F, Folci M, Baccarelli A, Selmi C. The epigenetics of autoimmunity. *Cell Mol Immunol*. 2011 May;8(3):226-36.

Miller, A. H. Cytokines and sickness behavior: Implications for cancer care and control. *Brain Behav Immun*. 2003 Feb; 17 Suppl 1:S132-4.

Milligan, E.D. & Watkins, L.R. Pathological and protective roles of glia in chronic pain. *Nat. Rev. Neurosci*. 2009; 10: 23–36

Miquel et al., Efficacy of Mindfulness Training for Fibromyalgia Patients *Clínica y Salud* vol. 22 nº.1 Madrid mar. 2011. ISSN 1130-5274.

Mira J, Cariou A, Grall F, Delclaux C, Losser M, Heshmati F, et al. Association of TNF2, a TNF-alpha promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality: a multicenter study. *JAMA*.1999; 282:561-8.

Moldofsky, H., Harris, H. W., Archambault, W. T., Kwong, T. & Lederman, S. Effects of bed time very low dose cyclobenzaprine on symptoms and sleep physiology in patients with fibromyalgia syndrome: a double-blind randomized placebo-controlled study. *J. Rheumatol*. 2011; 38, 2653–2663

Monterde S, et al. Validación de la versión española del Fibromyalgia Impact Questionnaire. *Rev Esp Reumatol* 2004; 31(9):507-13

Moretta A., Moretta L. HLA class I specific inhibitory receptors. *Curr Opin Immunol* 1997; 9:694-701

Moretta L., Moretta A. Killer immunoglobulin-like receptors *Curr Opin Immunol* 2004, 16:626-633

Manuel Muro, Moya Quiles MR, Alvarez Lopez MR. Capítulo: Histocompatibilidad en el trasplante. *Manual sobre donación y trasplante de órganos*. Aran ediciones 2008, pp 603-616).

Mujagic Z, Jonkers DMAE, Ludidi S, Keszthelyi D, Hesselink MA, Weerts ZZRM, Kievit RN, Althof JF, Leue C, Kruijmel JW, van Schooten FJ, Masclee AAM. Biomarkers for

visceral hypersensitivity in patients with irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil.* 2017 Dec;29(12)

Myliwiec M, Myliwska J, Zorena K, Balcerska A, Mali-nowska E, Winiewski P. Interleukin 6 -174(G>C) gene polymorphism is related to celiac disease and autoimmune thyroiditis coincidence in diabetes type 1 children. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 82: 108-12.

Nada Yas Ameen, Mohammed Qais Abed, Nawal Mohammed Utba, Ahmed Asmar Mankhi . Genetic polymorphisms of IL-17a in association with the risk of pulmonary tuberculosis in iraqi patients. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* Vol 11, Issue 10, 2018

Naparstek Y, Plotz PH. The role of autoantibodies in autoimmune disease. *Ann Rev Immunol.* 1993; 11:79-104.

Nicole Jadue, Iván González. Immunopathogenesis of autoimmune diseases. *Rev Med. Clin. Condes-2012;* 23 (4) 464-472.

Nie G, Xie CL, Cao YJ, Xu MM, Shi X, Zou AL, Qi JH. Meta-analysis of IL-6 -174G/C polymorphism and psoriasis risk. *Genet Mol Res.* 2016 Jul 14;15 (2).

Nielson, WR, Jensen, MP. Relations hip between changes in coping and treatment outcome in patients with fibromyalgia syndrome. *Pain.* 2004 Jun;109(3):233-41.

Nüesch, E., Häuser, W., Bernardy, K., Barth, J. & Jüni, P. Comparative efficacy of pharmacological and non-pharmacological interventions in fibromyalgia syndrome: network meta-analysis. *Ann. Rheum. Dis.* 2013; 72: 955-962

Ocejo-Vinyals JG, de Mateo EP, Hoz MÁ, Arroyo JL, Agüero R, Ausín F, et al. The IL-17 G-152A single nucleotide polymorphism is associated with pulmonary tuberculosis in Northern Spain. *Cytokine* , 2013; 64:58-61.

Offenbaecher M, Bondy B, de Jonge S, et al. Possible association of fibromyalgia with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Arthritis Rheum.* 1999;42:2482-2488.

Okifuji A, Turk DC, Sinclair JD, Starz TW, Marcus DA. A standardized manual tender point survey. I. Development and determination of a threshold point for the identification of positive tender points in fibromyalgia syndrome. *J Rheumatol.* 1997 Feb;24(2):377-83.

Olga María Moreno, Clara Isabel González, Diego Luis Saaibi, William Otero, Reynaldo Badillo, Javier Martín, Gerardo Ramírez. Polimorfismos de la región promotora del gen de la IL-10 y artritis reumatoide en una población colombiana *Biomédica* 2007;27:56-65

Ozen S, Alikasifoglu M, Bakkaloglu A, Duzova A, Jarosova K, Nemcova D, et al. Tumor necrosis factor- G/A -238 and G/A -308 polymorphisms in juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2002;41:223-7.

Parham P. "NK cells lose their inhibition". *Science.* 2004; 305(5685): 786-7.

Parham P. "MHC class I molecules and KIRs in human history, health and survival". *Nature reviews Immunology.* 2005; 5(3): 201-14.

Park DJ, Kim SH, Nah SS, et al. Polymorphisms of the TRPV2 and TRPV3 genes associated with fibromyalgia in a Korean population. *Rheumatology (Oxford)* 2016;55:1518–1527

Phillips, K. & Clauw, D. J. Central pain mechanisms in the rheumatic diseases: future directions. *Arthritis Rheum.* 2013; 65, 291–302

Pociot F, Molvig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest.* 1992;22(6):396-402.

Pollack S . Mast cells in fibromyalgia. *Clin Exp Rheumatol.* 2015 Jan-Feb;33 (1 Suppl 88):S140.

Pourmand A, Davis S, Marchak A, Whiteside T, Sikka n: Virtual Reality as a Clinical Tool for Pain Management. *Curr Pain Headache Rep* 2018; 22: 53.

Qian D, Yan S, Pan X. Association of IL-6 -597 G/A Polymorphism with Cancer Risk: Evidence from a Meta-Analysis. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2017;27(3):211-217.

Qi L, Zhang C, van Dam RM, Hu FB. Interleukin-6 genetic variability and adiposity: associations in two prospective cohorts and systematic review in 26,944 individuals. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 3618-25.

Quitner, International Statistical Classification of Diseases and Related Problems. ICD-10. WHO, Geneva. 1992.

Rajagopalan S, Long EO. Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence disease. *J Exp Med.* 2005 Apr 4;201(7):1025-9.

Rahman P, Sun S, Peddle L, Snelgrove T, Melay W, Greenwood C, et al. Association between the interleukin-1 family gene cluster and psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006; 54: 2321–2325.

Ramos-Brieva JA, Cordero-Villafafila A. A new validation of the Hamilton Rating Scale for Depression. *J Psychiatr Res.* 1988;22(1):21-8.

Ramos-Brieva, J.C, A, Validación de la versión castellana de la escala de Hamilton para la depresión. *Actas Luso-Esp Neurol Psiquiatr* 1986(14): p.324-334.

Raunio T, Knuutila M, Hiltunen L, Karttunen R, Vainio O, Tervonen T. IL-6(-174) genotype associated with the extent of periodontal disease in type 1 diabetic subjects. *J Clin Periodontol.* 2009 Jan;36(1):11-7

Reinhild Klein, Matthias Bansch, and Peter A. Berg. Clinical relevance of antibodies against serotonin and gangliosides in patients with primary fibromyalgia syndrome. *Psychoneuroendocrinology.* 1992 Nov;17(6):593-8.

Reinhild Klein and Peter A Berg. Diagnosis irrelevance of antibodies to serotonin and phospholipids in fibromyalgia syndrome. *J Rheumatol* 2002; 29;395-396,

R Melzack. The McGill pain questionnaire: major properties and scoring methods. *Pain* 1975; 1: 277-99.

Rodriguez-Pinto, I., Agmon-Levin, N., Howard, A. & Shoenfeld, Y. Fibromyalgia and cytokines. *Immunol Lett.* 2014 Oct;161(2):200-3.

Rolandelli A, Hernández Del Pino RE, Pellegrini JM, Tateosian NL, Amiano NO, de la Barrera S, et al. The IL-17A rs 2275913 single nucleotide polymorphism is associated with protection to tuberculosis but related to higher disease severity in Argentina.. *Sci Rep*. 2017 Jan 18;7:40666.

Rossouw M, Nel HJ, Cooke GS, van Helden PD, Hoal EG. Association between tuberculosis and a polymorphic NF B binding site in the interferon gene. *The lancet*. 2003; 361(9372):1871-2.

Ruddy MD, Shaun , Harris Jr. MD, Edward D., Sledge MD, Clement B., Sargent MD, John S., Budd MD, Ralph C. Kelley's Textbook of Rheumatology (2-Volume Set) 6th Edition. ISBN-13: 978-0721680088

Russell I.J. Fibromyalgia syndrome: approach to management. *CNS Spectr*. 2008 Mar;13(3 Suppl 5):27-33.

Russel IJ, Michalek JE, Vipraio GA, Fletcher EM, Javor MA, Bowden CA. Plaquetes 3H-imipramine uptake receptor density and serum serotonin level en pacientes with fibromyalgia/fibrosistis síndrome. *J Rheumatol*. 1992 Jan;19(1):104-9.

Russell IJ, Orr MD, Littman B, Vipraio GA, Alboukrek D, Michalek JE, Lopez Y, MacKillip F. Elevated cerebrospinal fluid levels of substance P in patients with the fibromyalgia syndrome. *Arthritis Rheum*. 1994 Nov;37(11):1593-601

Russell IJ, Simon L, Spaeth M, Williams D, Crofford L. Fibromyalgia syndrome. *J Rheumatol*. 2007 Jun;34(6):1415-25.

Russell IJ, Vaeroy H, Javors M, Nyberg F: Cerebrospinal fluid biogenic amine metabolites in fibromyalgia/fibrositis síndrome and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1992; 35:550-6

Russell IJ, Vodjami A, Michalek JE, Viprao GA, Lopez Y, MacKillip F. Circulating antibodies to serotonin in fibromyalgia síndrome, rheumatoid arthritis, osteoarthritis, and healthy controls (abstract). *J. Musculoskel Pain* 1995; 3:143.

Saito H, Hirayama A, Umemura T, Joshita S, Mukawa K, Suga T, Tanaka E, Ota M. Association between KIR-HLA combination and ulcerative colitis and Crohn's disease in a Japanese population *PLoS One*. 2018 Apr 12;13(4):e0195778

Sajad Ahmad Dar, Shafiul Haque, Raju Kumar Mandal, Taru Singh, Mohd Wahid, Arshad Jawed, show all. Interleukin-6-174G>C (rs1800795) polymorphism distribution and its association with rheumatoid arthritis: A case-control study and meta-analysis. *Autoimmunity* Volume 50, 2017 - Issue 3. Pages 158-169.

Salemi S, Rethage J, Wollina U, Michel BA, Gay RE, Gay S, Sprott H. Detection of interleukin 1beta (IL-1beta), IL-6, and tumor necrosis factor-alpha in skin of patients with fibromyalgia. *J Rheumatol.* 2003;30(1): 146-50

Saxena, V., et al., Dual roles of immunoregulatory cytokine TGF-beta in the pathogenesis of autoimmunity-mediated organ damage. *J Immunol*, 2008. 180(3): p. 1903-12.

Schott, K., Batra, A., Klein, R., Bartels, M., Koch, W., Berg, P.A.,. Antibodies against serotonin and gangliosides in schizophrenia and major depressive disorder. *European Psychiatry.* 1992; 7(5), 209-212.

Shaidi Tang MY, Wang J, Zhang Y, Yu R, Su J, Peng Z, et al. Associations of IFN- γ rs2430561 T/A, IL28B rs12 979860C/T and ER α rs2077647 T/C polymorphisms with outcomes of hepatitis B virus infection: a meta-analysis. *Journal of biomedical research.* 2014;28(6):484.

Shiina T., Inoko H., Kulski J. K. An update of the HLA genomic region, locus information and disease associations: 2004. *Tissue Antigens* 2004; 64:631-649.

Smita Kulkarni, The Ying and Yang of *HLA* and *KIR* in Human Disease *Semin Immunol.* 2008 Dec; 20(6): 343–352.

Moyano S, Kilstein JG, Alegre de Miguel C . New diagnostic criteria for fibromyalgia: Here to stay?. *Reumatol Clin.* 2015 Jul-Aug;11(4):210-4

Smythe HA, Moldofsky H. Two Contributions to Understanding of the “Fibrositis” Syndrome, *Bulletin on the Rheumatic Diseases*, 1977; 28(1):928-931

Soares, M.B. and R.R. Santos, Immunopathology of cardiomyopathy in the experimental Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 1999. 94 Suppl 1: p.257-62.

Sommer C, Häuser W, Alten R, Petzke F, Späth M, Tölle T, Uçeyler N, Winkelmann A, Winter E, Bär KJ;. Drug therapy of fibromyalgia syndrome. Systematic review, meta-analysis and guideline. *Schmerz* .2012; 26, 297–310.

Staud,R., Robinson,M.E. & Price,D.D. Temporal summation of second pain and its maintenance are useful for characterizing widespread central sensitization of fibromyalgia patients. *J.Pain*, 2007; 8, 893–901.

Sommer C, Häuser W, Burgmer M, Engelhardt R, Gerhold K, Petzke F, Schmidt-Wilcke T, Späth M, Tölle T, Uçeyler N, Wang H, Winkelmann A, Thieme K;. Etiology and pathophysiology of fibromyalgia syndrome. *Schmerz*. 2012; 26, 259–267.

Steindler, A. Differential Diagnosis of Pain Low in the Back. *JAMA*. 1938; 110(2):106-113.

Stockman, R. The causes, pathology and treatment of chronic rheumatism. *Edinburgh Medical Journal*, 1904; 107(16): 223-235.

Stratz T, Samborski W, Hrycaj P, PapT,Mackiewicz S, Mennet P, Muller W. Serotonin concentration in serum of patients with generalized tendomiopathy (fibromyalgia) and chronic polyarthritis . *Med Klin*. 1993; 88:458-462.

Suárez A, Castro P, Alonso R, Mozo L, Gutiérrez C. Interindividual variations in constitutive interleukin-10 messenger RNA and protein levels and their association with genetic polymorphisms. *Transplantation*. 2003 Mar 15;75(5):711-7.

Suárez A, López P, Mozo L, Gutiérrez C. Differential effect of IL-10 and TNF- genotypes on determining susceptibility to discoid and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2005; 64:1 605-10

Sun HS, Liu DX, Bai YY, Hu NW. Disease-association of different killer cell immunoglobulin-like receptors (KIR) and HLA-C gene combinations in reactive arthritis. *Mod Rheumatol*. 2019 May;29 (3):531-537.

Susan E. Hiby, Mary Carrington, Ashley Moffett. “Maternal activating KIRs protect against human reproductive failure mediated by fetal HLA-C2”. *J Clin Invest*. 2010;120 (11):4102-4110.

Su SY, Chen JJ, Lai CC, Chen CM, Tsai FJ. The association between fibromyalgia and polymorphism of monoamine oxidase A and interleukin-4. *Clin Rheumatol*. 2007 Jan;26(1):12-6.

Tajik N, Shahsavar F, Poormoghim H, Radjabzadeh MF, Mousavi T, Jalali A "KIR3DL1 + HLA-B Bw4 Ile80 and KIR2DS1+ HLA-C2 combinations are both associated with ankylosing spondylitis in the Iranian population". *International Journal of Immunogenetics*. 2011;38(5): 403–09.

Tegeder I, Costigan M, Griffin RS, et al. GTP cyclohydrolase and tetrahydro biopterin regulate pain sensitivity and persistence. *Nat Med*. 2006;12: 1269–1277.

T. Giesecke, D.A. Williams, R.E. Harris, T.R. Cupps, X. Tian, T.X. Tian, *et al*. Subgrouping of fibromyalgia patients on the basis of pressure- pain thresholds and psychological factors. *Arthritis Rheum*. 2003 Oct; 48(10):2916-22.

Theoharides TC, Alysandratos KD, Angelidou A, Delivanis DA, Sismanopoulos N, Zhang B, Asadi S, Vasiadi M, Weng Z, Miniati A, Kalogeromitros D. Mast cells and inflammation. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Jan;1822(1):21-33.

Theoharides TC, Valent P, and Akin C .Mastcells, mastocytosis and related diseases. *N Engl J Med*. 2015; 373:163–172.

Thielens A, Vivier E, Romagné F. "NK cells MHC class I specific receptors (KIR) from biology to clinical intervention". *Current Opinion Immunology*. 2012; 24(2): 239–45.

Travell JG, Simons DG. *Myofascial Pain and Dysfunction: The Trigger Point Manual*. Baltimore, MD: Williams & Wilkins; 1983. pp. 59–63.

Tolusso B, Pietrapertosa D, Morelli A, De SM, Gremese E, Farina G, et al. IL-1B and IL-1RN gene polymorphisms in rheumatoid arthritis: relationship with protein plasma levels and response to therapy. *Pharmacogenomics*. 2006;7 (5):683–695

Torresani C, Bellafiore S, and De Panfilis G . Chronic urticaria is usually associated with fibromyalgia syndrome. *Acta Derm Venereol*. 2009; 89:389–392.

- Torres E, Pedersen In, Pérez-Fernández Ji: Randomized Trial of a Group Music and Imagery Method (GrpMI) for Women with Fibromyalgia. *J Music Ther.* 2018; 55: 186-220.
- Üçeyler, N., Valenza, R., Stock, M., Schedel, R., Sprotte, G., &Sommer, C. Reduced levels of anti-inflammatory cytokines in patients with chronic widespread pain. *Arthritis&Rheumatism.* 2006, 54, 2656-2664.
- Üçeyler, N., Hauser, W. &Sommer, C. Systematic review with meta-analysis: cytokines in fibromyalgia syndrome. *BMC Musculoskelet Disord.* 2011 Oct 28;12: 245
- Üçeyler, N., Sommer,C., Walitt, B. &Häuser,W. Anticonvulsants for fibromyalgia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017 Oct 9;10: CD010782
- Valés-Gómez M, Reyburn HT, Mandelboim M, Strominger JL. "Kinetics of interaction of HLA-C ligands with natural killer cell inhibitory receptors". *Immunity.* 1998; 9(3): 337-44.
- Van Driel, I.R., et al., Immunopathogenesis, loss of T cell tolerance and genetics of autoimmune gastritis. *Autoimmun Rev,* 2002. 1(5): p. 290-7.
- Van Venrooij, W.J. and G.J. Pruijn, Citrullination: as small change for a protein with great consequences for rheumatoid arthritis. *Arthritis Res,* 2000. 2(4): p.245-51
- Varani, S. and M.P. Landini, Cytomegalovirus-induced immunopathology and its clinical consequences. *Herpesviridae.* 2011 Apr 7;2(1):6
- Vargas-Alarcon G, Alvarez-Leon E, Fragoso JM, Vargas A, Martinez A, Vallejo M, Martinez-Lavin M. A SCN9A gene-encoded dorsal root ganglia sodium channel polymorphism associate with severe fibromyalgia. *BMC Musculoskelet Disord.* 2012 Feb 20;13:23
- Vargas-Alarcón G, Fragoso JM, Cruz-Robles D, Vargas A, Vargas A, Lao-Villadóniga JI, García-Fructuoso F, Ramos-Kuri M, Hernández F, Springall R, Bojalil R, Vallejo M, Martínez-Lavín M. Catechol-O-methyltransferase gene haplotypes in Mexican and Spanish patients with fibromyalgia. *Arthritis Res Ther.* 2007;9(5):R110.

- Veale D, Kavanagh G, Fielding JF, Fitzgerald O. Primary fibromyalgia and the irritable bowel syndrome: different expressions of a common pathogenetic process. *Br J Rheumatol*. 1991; 30:220-22.
- Venstrom JM, Pittari G, Gooley TA, Chewning JH, Spellman S, Haagenson M, et al. "HLA-C-dependent prevention of leukemia relapse by donor activating KIR2DS1". *New England Journal of Medicine*. 2012; 367: 805–816.
- Vergne-Salle P, Dufauret-Lombard C, Bonnet C, Simon A, Trèves R, Bonnabau H, Bertin P. A randomised, double-blind, placebo-controlled trial of dolasetron, a5-hydroxytryptamine 3 receptor antagonist, in patients with fibromyalgia. *Eur J Pain*. 2011 May;15(5):509-14.
- Vilches C., Parham P. KIR: diverse rapidly evolving receptors of innate and adaptive immunity. *Annu Rev Immunol* 2002; 20:217-251.
- Vilches C., Pando M. C., Parham P. "Genes encoding human killer-cell Ig-like receptors with D1 and D0 extracellular domains all contain untranslated pseudoexons encoding a third Ig-like domain". *Immunogenetics*. 2000; 51: 639-646 (a).
- Vilches C. , Rajalingam R. , Uhrberg M. , Gardiner C. M. , Young N. T. , Parham P. "KIR2DL5, a novel Killer-Cell Receptor with a D0-D2 configuration of Ig-Like domains". *J Immunol*. 2000; 164: 5797-5804 (b)
- Vyse, T.J. and J.A. Todd, Genetic analysis of autoimmune disease. *Cell*, 1996. 85 (3): p. 311-8.
- Walitt B, Urrútia G, Nishishinya Mb, Cantrell Se, Häuser W: Selective serotonin reuptake inhibitors for fibromyalgia syndrome. *Cochrane database syst rev* 2015 Jun5; (6): CD011735.
- Wallace, D. J. Is there a role for cytokine based therapies in fibromyalgia. *Current Pharmaceutical Design*, 2006, 12, 17-22 .
- Wallace DJ, Linker-Israeli M, Hallegua D, Silverman S, Silver D, Weisman MH. Cytokines play an etiopathogenetic role in fibromyalgia: a hypothesis and pilot study. *Rheumatology (Oxford)*. 2001 Jul;40(7):743-9.

- Wallace DJ, Bowman RL, Wormsley SB, Peter JB. Cytokines and immunoregulation in patients with fibrositis. *Arthritis and Rheumatism*. 1989; 32:1334-335.
- Wang C, Schmid Ch, Fielding Ra et al.: Effect of tai-chi versus aerobic exercise for fibromyalgia: comparative effectiveness randomized controlled trial. *BMJ* 2018; 360: 851.
- Wang CY, Liang CY, Feng SC, Lin KH, Lee HN, Shen YC, Wei LC, Chang CJ, Hsu MY, Yang YY, Chiu CH, Wang CY. Analysis of the Interleukin-6 (-174) Locus Polymorphism and Serum IL-6 Levels with the Severity of Normal Tension Glaucoma *Ophthalmic Res*. 2017; 57(4):224-229.
- Wang D, Zhong X, Huang D, Chen R, Bai G, Li Q, et al. Functional polymorphisms of interferon gamma affect pneumonia-induced sepsis. *PloS one*. 2014;9(1): e8-049.
- Wan YN, Wang YJ, Yan JW, Li XP, Tao JH, Wang BX, Peng WJ, Wang J. The effect of TGF-1 polymorphism on systemic sclerosis: a systematic review and pooled analysis of available literature. *Rheumatol Int*. 2013 Nov;33(11):2859-65.
- Ware, M. A., Fitzcharles, M.-A., Joseph, L. & Shir, Y. The effects of nabilone on sleep in fibromyalgia: results of a randomized controlled trial. *Anesth. Analg*. 2010;110, 604–610.
- Welin M, Bragée B, Orelund L. Levels of antibodies against serotonin are lowered in fibromyalgia patients (abstract) *J. Musculoskel Pain* 1995; 3:82.
- Welsh, R. M., et al., Heterologous immunity between viruses, *Immunol Rev*, 2010. 235(1): p. 244-66.
- White KP, Speechley M, Harth M, Ostbye T. Comparing self-reported function and work disability in 100 community cases of fibromyalgia syndrome versus controls in London, Ontario. *Arthritis Rheum*. 1999 Jan;42(1):76-83.
- Wilson A, Symons J, McDowell T, McDevitt H, Duff G. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor-alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;94: 3195-9.

- Wilson TJ, Jobim M, Jobim LF, Portela P, Salim PH, Rosito MA, Damin DC, Flores C, Peres A, Machado MB, Chies JA, Schwartzmann G, Roesler R. Study of killer immunoglobulin-like receptor genes and human leukocyte antigens class I ligands in a Caucasian Brazilian population with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Hum Immunol*. 2010 Mar; 71(3):293-299.
- Häuser W, Ablin J, Fitzcharles MA, Littlejohn G, Luciano JV, Usui C, Walitt B. Fibromyalgia. *Nat Rev Dis Primers*. 2015 Aug 13;1:15022
- Wolfe BE, Metzger ED, Stollar C. The effector of dieting on plasma tryptophan concentration and food intake in healthy woman. *Physiol. Behav* 1997; 61:537-541
- Wolfe F, Anderson J, Harkness D, Bennett RM, Caro XJ, Goldenberg DL, Russell IJ, Yunus MB. Health status and disease severity in fibromyalgia. Results of a six-center longitudinal study. *Arthritis Rheum*. 1997 Sep;40(9):1571-9.
- Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, Bennett RM, Bombardier C, Goldenberg DL, et al. Criteria for the Classification of Fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee. *Arthritis Rheum*. 1990 Feb; 33(2):160-72.
- Wolfe F, Russell IJ, Vipraio G, Ross K, Anderson J. Serotonin Levels, Pain Threshold, and Fibromyalgia Symptoms in the General Populations, *J Rheumatol*. 1997 Mar;24(3):555-9.
- Wolfe F, Clauw DJ, Fitzcharles MA, Goldenberg DL, Katz RS, Mease P, Russell AS, Russell IJ, Winfield JB, Yunus MB. The American College of Rheumatology preliminary diagnostic criteria for fibromyalgia and measurement of symptom severity. *Arthritis Care Res (Hoboken)* .2010 May;62(5):600-10.
- Wolfe F. New American college of Reumatology Criteria. A twenty years journey. *Arthritis Care&Research*. 2010 May; 62(5):583-84 b
- Wolfe F, Clauw DJ, Fitzcharles MA, Goldenberg DL, Häuser W, Katz RL, Mease PJ, Russell AS, Russell IJ, Walitt B. 2016 Revisions to the 2010/2011 fibromyalgia diagnostic criteria. *Semin Arthritis Rheum*.2016 Dec;46(3):319-329.
- Wood PB, Holman AJ. An elephantamon gus: the role of dopamine in thepatho physiologyof fibromyalgia. *J Rheumatol*. 2009; 36(2): 221–22

Woolf, C. J. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain*. 2011; 152, S2–S15

Xing-yan Li, Chun-hua Liang, Virginia Parkman, Zheng-tao Lv. The association between TNF- 238A/G and 308A/G polymorphisms and juvenile idiopathic arthritis: An updated PRISMA-compliant meta-analysis *Medicine (Baltimore)* 2018 Oct; 97(43): e12883.

Yapıjakis C, Serefoglou Z, Vylliotis A, Nkenke E, Derka S, Vassiliou S, et al. Association of polymorphisms in tumor necrosis factor alpha and beta genes with increased risk for oral cancer. *Anticancer Res* 2009; 29:2379-86.

Yigit S, Inanir A, Tekcan A, Inanir S, Tural S, Ates O. Association between fibromyalgia syndrome and polymorphism of the IL-4 gene in a Turkish population. *Gene*. 2013 Sep 15; 527(1):62-4.

Yoon H-K, Kim Y-K. The T allele of the interferon-gamma +874A/T polymorphism is associated with bipolar disorder. *Nordic journal of psychiatry*. 2012; 66(1):14-

Younger, J. & Mackey, S. Fibromyalgia symptoms are reduced by low-dose naltrexone: a pilot study. *Pain Med*. 10, 663–672 (2009)

Yu-Huei Liu, Rong-Hsing Chen, Hsin-Hung et al. Association of Interleukin-1 (IL1) Polymorphisms with Graves' Ophthalmopathy in Taiwan Chinese Patients *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, December 2010, Vol. 51, No. 12

Yunus MB. Central sensitivity syndromes: a new paradigm and group nosology for fibromyalgia and overlapping conditions, and their late disease versus illness. *Semin Arthritis Rheum*. 2008; 37:339-52.

Yunus MB. Genetic factors in fibromyalgia syndrome. *Z Rheumatol*. 1998; 57 Suppl 2:61-2;

Yunus MB. Fibromyalgia and Overlapping Disorders: The Unifying Concept of Central Sensitivity Syndromes. *Semin Arthritis Rheum*. 2007 Jun; 36 (6): 339-356

Yusta A, Laguna P, Ballina J. Criterios diagnósticos y exploración. En: Muriel C (coord.). *Fibromialgia reunión de expertos*. Universidad de Salamanca. Fundación Grünenthal, 2001. p. 35-46.

Zhang L, Yan JW, Wang YX, Wan YN, Li JP, Liu P, Xu B, Wang BX, Peng WJ, Pan FM, Wang J. Association of TGF-1 +869C/T promoter polymorphism with susceptibility to autoimmune diseases: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2013 Aug;40(8):4811-4817

Zhang Z, Cherryholmes G, Mao A, Marek C, Longmate J, Kalos M, Amand RP, and Shively JE. High plasma levels of MCP-1 and eotaxin provide evidence for an immunological basis of fibromyalgia. *Exp Biol Med (Maywood).* 2008 Sep;233(9):1171-80

Zi-long Yao, Qing-rong Lin, Yan-jun Hu, Yi-long Hou, Yun-fei Ma, Bin Yu, and Nan Jiang. Interleukin-1 Beta Gene Polymorphism rs16944 May Associate with Increased Susceptibility to Extremity Chronic Osteomyelitis in Chinese Han Population. *BioMed Research International* Volume 2019, Article ID 7483537.

ANEXO 1**DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS DEL PACIENTE EN EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DENOMINADO: EVALUACIÓN INMUNOLÓGICA EN LA FIBROMIALGIA.**

La Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica, establece en su artículo 58 que la obtención de muestras biológicas con fines de investigación biomédica podrá realizarse únicamente cuando se haya obtenido previamente el consentimiento escrito del sujeto fuente y previa información de las consecuencias y los riesgos que pueda suponer tal obtención para su salud.

De conformidad a lo previsto en el artículo 59 de la citada Ley, se le informa de los siguientes extremos:

- a) La finalidad de la investigación es determinar el papel de los mecanismos autoinmunes (ACS anti-serotonina y anti-gangliósidos) y/o inflamatorios (citocinas pro- y anti-inflamatorias) en la fisiopatología de la fibromialgia (FM) e identificar si los genes de los receptores KIR presentan alguna asociación con la susceptibilidad o la evolución de la misma.
- b) Los beneficios esperados consistirían en contribuir al mejor conocimiento de la enfermedad y conocer si estos parámetros sirven como marcadores biológicos para el diagnóstico, pronóstico, valoración de la respuesta al tratamiento y/o el diseño de terapias específicas en la FM.
- c) El único inconveniente vinculado con la donación y obtención de las muestras es el riesgo asociado a la extracción de sangre, leve en la mayoría de los casos.
- d) Los responsables de la investigación son los Dres: García Alonso, Martínez León, Bermúdez Torrente, Lozano Pérez, Montoya Peris, Salgado Cecilia, Boix Giner, Martínez García, Legaz Pérez y se comprometen a asegurar la intimidad y confidencialidad de los datos de carácter personal de los sujetos incluidos en este estudio.
- e) El lugar de realización del análisis y destino de la muestra al término de la investigación será el laboratorio del Hospital Universitario "Virgen de la Arrixaca". Los pacientes incluidos en el estudio pertenecen al área I de salud de Murcia y de la asociación de pacientes de Fibromialgia y Fatiga Crónica de Murcia. Se seleccionarán pacientes y controles tras una entrevista para evaluar su estado de salud y verificar que cumplen con los criterios de inclusión. Al grupo de pacientes se les realizarán revisiones médicas con extracciones de sangre periférica cada seis meses y en las recaídas o exacerbación de la enfermedad, y a los individuos control se les realizará una única extracción. La duración del estudio es de 3 años.
- f) Se garantiza la total confidencialidad de la información obtenida, únicamente accediendo a la información obtenida los Dres. responsables de la Investigación.
- g) Existe la posibilidad de que se obtenga información relativa a su salud derivada de los análisis genéticos que se realicen sobre su muestra biológica.
- h) El presente proyecto de investigación ha obtenido con fecha 29/03/2011 informe favorable del Comité Ético de Investigación Clínica del "Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca".

He sido informado de que mi participación en este estudio es totalmente voluntaria y que el presente consentimiento puede ser revocado, totalmente o para determinados fines, en cualquier momento. Cuando la revocación se refiera a cualquier uso de la muestra, se procederá a su inmediata destrucción, sin perjuicio de la conservación de los datos resultantes de las investigaciones que se hubiesen realizado con carácter previo.

He leído y comprendido en su totalidad este documento y doy mi consentimiento expreso para que se obtengan las muestras biológicas referidas mediante la realización de los análisis y pruebas oportunas, así como también consiento en que estas muestras puedan ser almacenadas para futuros estudios clínicos.

Para que así conste firmo el presente documento en Murcia ade.....de 201...

Fdo:

D.N.I. del paciente: