**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LASALUD
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ

# NEUROPATÍA DE FIBRAS FINAS EN PACIENTES CON FIBROMIALGIA: RELACIÓN ENTRE BIOMICROSCOPIA CONFOCAL CORNEAL Y VARIABILIDAD DE LA FRECUENCIA CARDIACA

**TESIS**
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:
**LAURA ALINE MARTÍNEZ MARTÍNEZ**

TUTOR PRINCIPAL
MANUEL MARTÍNEZ-LAVÍN GARCÍA-LASCURAIN
DEPARTAMENTO DE REUMATOLOGÍA
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
CLAUDIA LERMA GONZALEZ
DEPARTAMENTO DE INSTRUMENTACION DEL
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ
GUILLERMO MANUEL CEBALLOS REYES
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN INTEGRAL CARDIOMETABÓLICA
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA DEL INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

CIUDAD DE MÉXICO. AGOSTO 2021

V. B.
Manuel Martínez Lavín GL 25-08-2021

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**
**Tesis Digitales**
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# I. DEDICATORIA

A mi madre, Rosi, por enseñarme con el ejemplo el significado la palabra fortaleza.
A mi padre, Julio, por darme siempre su ejemplo de trabajo constante.
A David mi hermano por el ejemplo de perseverancia y enseñarme a compartirlo todo.
A mis sobrinos Andrea y Emiliano por reír con alegría y toda bondad de niños.
Mi abuelito Juanito, mis abuelitas Lalita y Chonita, mis hermanos Herzain y Toño, Dra. Silvia Pierangeli y a todos que están con Dios y son ángeles que me cuidan desde el cielo.
A Sire, Machis, Miguel Ángel, Hugo, José, Gerardo, Israel, Anita, Ricardo, Jimmy, Tía Marce, Tía Sara, Tía Estela, Tía Galdina, Tío Miguel, Tío Quico, Paty, y a toda mi hermosa gran familia extendida.
A mis maestros Claudia Lerma, Manuel Martínez-Lavín, Guillermo Ceballos, María del Carmen Amigo, Luis H. Silveira, Carlos Pineda, María Elena Soto, Luis Amezcua, María Isabel Barrera, Manuel Ramírez, Nilda Espínola, Rolando Espinosa, Hortensia Gutiérrez y toda mi familia académica.
A Angélica Beltrán, Gaby Calvo, Isabel, Carlos, Paco Castillo, Gaby Meléndez, Karina Zamora, Enrique Berrios, Manuel Gaxiola, Dinora Cásares, Clara Olivares y la gran familia INC.
A Marisol, Bety, Fabiola, Víctor, Mauricio, Luis, Irak, Roberto, Miriam, Sofía, Consuelo, Alejandro, Iván, Gustavo Guevara, Alejandra, Oscar, Gustavo Cassano, Zurina, Elizabeth, Álvaro y los amigos de toda la vida.
A Evelyn, Felipe, Julio, Daniela, Nadia, Carlos, Larisa, Miguel, Blanquita, Tania, Daniel, Omar Eloy, Cándido, Maribel, Norman, Nicole, Marisol, Anita, Cristina, por el reto de seguir aprendiendo juntos.
A Socorro Barrera, Mónica Hernández y a todas las pacientes de quien he aprendido tanto.
Mi agradecimiento respetuoso al Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, al Hospital Dr. Sánchez Bulnes de la Asociación para Evitar la Ceguera en México, al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, al Instituto Nacional de Psiquiatría Dr. Ramón de la Fuente Muñiz, a University of Texas Medical Branch at Galveston, al Instituto Mexicano del Seguro Social, a la Universidad Nacional Autónoma de México, al Instituto Politécnico Nacional y a la Cadena de Ayuda contra la Fibromialgia.

Faltan nombres de grandes personas e instituciones a quiénes agradezco que hayan tocado mi vida y… a la vida misma…

*¡ G R A C I A S !*

“Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico: es también un niño colocado ante fenómenos naturales que le impresionan como un cuento de hadas”

*Marie Curie*

"A medida que cambian nuestros sentimientos, esta mezcla de péptidos viaja por su cuerpo y su cerebro. Y están literalmente cambiando la química de cada célula de su cuerpo"

*Pert, C. Molecules of emotion: The science behind mind-body medicine. New York: Scribner; 1997*

## II. RESUMEN

La fibromialgia es una enfermedad multisintomática caracterizada por dolor generalizado, fatiga y alteraciones del sueño. Se propone que el predominio simpático del sistema nervioso autónomo puede explicar sus múltiples síntomas. El sistema nervioso autónomo puede ser evaluado mediante el estudio de la variabilidad de la frecuencia cardiaca de manera funcional. Por otro lado, la neuropatía de fibras finas es una característica estructural que se asocia a fibromialgia de manera consistente. El objetivo primario de este estudio fue determinar la asociación de estas variables objetivas en pacientes con fibromialgia y de manera secundaria explorar su asociación con escalas clinimétricas de fibromialgia y neuropéptidos séricos.

Se invitaron a mujeres con fibromialgia primaria sin otras enfermedades concomitantes o causas potenciales de neuropatía de fibra fina, con edad entre 18 y 50 años. Se invitaron como controles a mujeres sanas emparejadas por edad e índice de masa corporal. Se calcularon los índices de la variabilidad de la frecuencia cardiaca del dominio del tiempo. El grosor de los nervios y la densidad del plexo nervioso anterior corneal se midieron con microscopía confocal corneal. Se determinaron los niveles séricos de 7 neuropeptidos con 7-Plex Human Neuropeptide Magnetic Kit Milliplex MAP.

No se observó asociación de la variabilidad de la frecuencia cardiaca con las mediciones de microscopia confocal corneal en pacientes con fibromialgia ($p$>0.05). En las pacientes sin síntomas de depresión y/o ansiedad graves se observó que la densidad del plexo nervioso anterior corneal tuvo correlación negativa con síntomas de neuropatía de fibra fina (Rho=-0.771, $p$=0.002) y con síntomas autonómicos (Rho=-0.648, $p$=0.017). Se observaron múltiples correlaciones entre las diversas herramientas que miden los síntomas de la fibromialgia ($p$<0.0001). La beta-endorfina ($p$=0.028) y neurotensina ($p$=0.016) tuvieron niveles mayores en las pacientes con fibromialgia que en las controles. Ambos neuropéptidos correlacionaron negativamente con la desviación estándar de intervalos NN durante la noche, la correlación con la beta-endorfina fue de Rho = -0.527 ($p$=0.025) y con la neurotensina de Rho = -0.648 ($p$<0.003).

Los síntomas de neuropatía de fibra fina tuvieron correlación con la densidad nerviosa corneal en pacientes sin depresión y/o ansiedad graves. La asociación de las alteraciones de neuropéptidos y de los parámetros de la variabilidad de la frecuencia cardiaca podría participar sinérgicamente en los mecanismos del dolor y la disautonomía de la fibromialgia.



Palabras clave: Fibromialgia, variabilidad de la frecuencia cardiaca, microscopia confocal corneal, neuropéptidos.

## III. ABSTRACT

Fibromyalgia is a multisymptomatic disease characterized by widespread pain, fatigue, and sleep disturbances. It is proposed that the predominance of the sympathetic nervous system may explain its multiple symptoms. The autonomic nervous system can be evaluated by studying heart rate variability in a functional way. On the other hand, fine fiber neuropathy is a structural feature that is consistently associated with fibromyalgia. The primary objective of this study was to determine the association of these objective variables in patients with fibromyalgia and secondarily to explore their association with the clinimetric fibromyalgia scales and serum neuropeptides.

Women with primary fibromyalgia with no other comorbidities or potential causes of fine fiber neuropathy aged 18 to 50 years were invited. Healthy self-referring women matched for age and body mass index were invited as controls. Time domains of heart rate variability were calculated. The thickness of the nerves and the density of the corneal anterior nerve plexus were measured with corneal confocal microscopy. The serum levels of 7 neuropeptides were determined with 7-Plex Human Neuropeptide Magnetic Kit Milliplex MAP.

They were not associated heart rate variability with corneal confocal microscopy measurements in patients with fibromyalgia ($p$>0.05). Corneal anterior nerve plexus density negatively correlated with symptoms of fine fiber neuropathy in patients without severe symptoms of depression and / or anxiety (Rho = -0.771, $p$=0.002) and with autonomic symptoms (Rho = -0.648, $p$=0.017). Multiple correlations were observed between the various clinimetric scales that measure fibromyalgia symptoms ($p$<0.0001). Beta-endorphin ($p$=0.028) and neurotensin ($p$=0.016) had higher levels in fibromyalgia patients than in controls. Both neuropeptides negatively correlated with the standard deviation of NN intervals during the night, correlation with beta-endorphin was Rho = -0.527 ($p$=0.025) and with neurotensin Rho = -0.648 ($p$<0.003). Symptoms of fine fiber neuropathy correlate with corneal nerve density in patients without severe depression and/or anxiety. Neuropeptide alterations and heart rate variability parameters in association could participate synergistically in the mechanisms of pain and dysautonomia in fibromyalgia.



Key words: Fibromyalgia, heart rate variability, corneal confocal microscopy, neuropeptide.

IV. ÍNDICE GENERAL


I. Dedicatoria…… 2
II. Resumen…… 3
III. Abstract…….. 4
IV. Índice general…… 5
V. Índice de Figuras……..... 7
VI. Índice de Tablas…… 9
VII. Índice de anexos…….. 11
1. Introducción……..…….. 12
2. Antecedentes……..…… 14
2.1. Fibromialgia…….…… 14
2.1.1. Etiopatogénia…….. 14
2.1.2. Manifestaciones clínicas……..…… 19
2.1.3. Criterios diagnósticos……..... 22
2.1.4. Diagnóstico clínico individualizado……. 27
2.1.5. Diagnóstico diferencial…… 30
2.1.6. Tratamiento…… 32
3. Planteamiento del problema…….. 34
3.1. Justificación……... 35
3.2 Pregunta de investigación…… 36
4. Objetivos……... 37
4.1. Objetivo primario…….. 37
4.2. Objetivos secundarios…… 38
5. Hipótesis…… 39
6. Metodología…….. 40
6.1. Diseño del estudio…… 40
6.2. Descripción de la población…… 40
6.2.1. Grupo de estudio……... 40
6.2.2. Grupo control…… 41
6.3. Variabilidad de la frecuencia cardiaca…….. 42
6.4. Microscopia confocal corneal..... 46

6.5. Neuropéptidos séricos..... 48
6.6. Tamaño muestral…….. 49
6.7. Variables…… 50
6.7.1. Independiente…… 50
6.7.2. Dependientes……. 50
6.7.3. Confusoras…… 53
6.8. Plan de análisis estadístico……. 53
6.9. Estrategias de reclutamiento y operación……. 54
6.10. Formatos para recolección de datos clínicos y síntomas específicos… 55
7. Aspectos éticos y regulatorios……... 59
8. Resultados……. 60
8.1. Participantes incluidas…….. 60
8.2. Resultados de objetivo primario 1……... 64
8.3. Resultados de objetivos secundarios……. 75
8.3.1 Resultados de objetivo secundario 2a……. 76
8.3.2. Resultados de objetivo secundario 2b…… 81
8.3.3. Resultados de objetivo secundario 3…….. 84
9. Discusión……... 88
10. Conclusiones…….. 96
11. Publicaciones…… 97
12. Difusión de resultados en congresos…… 99
13. Declaración de conflicto de interés…… 100
14. Patrocinadores…… 101
15. Bibliografía……... 104
16. Anexos…….. 116

V. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Imágenes representativas de microscopia confocal corneal…… 16

Figura 2. Mecanismos etiopatogénicos teóricos de la fibromialgia…….. 17

Figura 3. Localización anatómica de los puntos dolorosos de fibromialgia……. 22

Figura 4. Localización anatómica de las regiones del índice de dolor generalizado.. 23

Figura 5. Escala de gravedad de los síntomas: fatiga, sueño no reparador y trastorno cognitivo…… 24

Figura 6. Síntomas somáticos que contribuyen a la escala de gravedad de los síntomas…….. 25

Figura 7. Algoritmo de calificación de los nuevos criterios de fibromialgia……. 26

Figura 8. Fundamentos básicos de las mediciones del dominio de tiempo de la variabilidad de la frecuencia cardiaca…… 43

Figura 9. Esquema guía para la colocación de electrodos de holter……. 44

Figura 10. Grabadora de Holter DMS-307 y Software CardiosCan Premier 11……. 45

Figura 11. Esquema de la anatomía de la córnea…….. 46

Figura 12. Examen oftalmológico de la córnea con equipo CONFOSCAN 4……. 47

Figura 13. Ensayo Multiplex…… 48

Figura 14. Secuencia operativa de procedimientos…… 54

Figura 15. Flujograma de pacientes…….. 62

Figura 16. Histograma de mediciones de grosor de nervios estromales corneales.. 67

Figura 17. Histograma de mediciones del índice de lisura de nervios estromales corneales……. 68

Figura 18. Histograma de mediciones de la densidad del plexo nervioso corneal anterior……. 68

Figura 19. Actividad física de 46 participantes con fibromialgia y 32 controles sanas. 71

Figura 20. Distribución de los diferentes grados de depresión y ansiedad entre pacientes con fibromialgia y controles sanas de acuerdo con los puntajes de PHQ9 y GAD7…… 72

Figura 21. Esquema de correlaciones de objetivo principal, y objetivos secundarios. 75

Figura 22. Distribución de síntomas de neuropatía de fibra fina y densidad de plexo nervioso corneal anterior de acuerdo a la presencia o no de síntomas graves de depresión o ansiedad…….. 78

Figura 23. Correlaciones entre densidad corneal y síntomas de fibromialgia de acuerdo a la presencia o no de impacto psicológico grave (IPG) por síntomas graves de ansiedad y/o depresión…….. 80

Figura 24. Ejemplos representativos de correlaciones bivariadas entre la encuesta de síntomas de neuropatía de fibras finas y síntomas de fibromialgia, síntomas de disautonomia y calidad de vida……. 83

Figura 25. Diagramas de dispersión de correlaciones representativas de algunos neuropéptidos…….. 87

Figura 26. Costo aproximado de procedimientos……. 102

VI. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variable independiente……. 50

Tabla 2. Variables dependientes……. 50

Tabla 3. Variables de confusión…….. 53

Tabla 4. Resultados de correlaciones entre el grosor del nervio estromal corneal y dominios de tiempo de la variabilidad de la frecuencia cardiaca en pacientes con fibromialgia…….. 64

Tabla 5. Resultados de correlaciones entre la densidad del plexo nervioso anterior corneal y dominios de tiempo de la variabilidad de la frecuencia cardiaca en pacientes con fibromialgia……. 65

Tabla 6. Mediciones de microscopia confocal corneal de las pacientes con fibromialgia……. 66

Tabla 7. Características demográficas de 46 pacientes con fibromialgia y 32 controles sanas……. 69

Tabla 8. Características clinimétricas de 46 pacientes con fibromialgia y 32 controles sanas……. 70

Tabla 9. Principales características demográficas y clínicas de 18 participantes incluidas en el análisis de correlación entre variabilidad de la frecuencia cardiaca y microscopia confocal corneal comparadas con las otras 28 pacientes no incluidas en este sub-análisis……. 73

Tabla 10. Mediciones de microscopia confocal corneal y parámetros de la variabilidad de la frecuencia cardiaca de 18 participantes incluidas en el análisis de correlación entre variabilidad de la frecuencia cardiaca y microscopia confocal corneal comparadas con las otras 28 pacientes no incluidas en este sub-análisis……. 74

Tabla 11. Características clínicas y mediciones de los nervios corneales en 28 mujeres con fibromialgia…….. 77

Tabla 12. Correlaciones entre densidad corneal y principales síntomas de fibromialgia…… 79

Tabla 13. Correlaciones bivariadas entre los síntomas de neuropatía de fibras finas y síntomas de fibromialgia, disautonomia, ansiedad, depresión y calidad de vida en 46 pacientes con fibromialgia…… 82

Tabla 14. Características clínicas de 23 pacientes con fibromialgia y 15 controles sanas incluidas en el análisis de neuropéptidos……. 85

Tabla 15. Niveles de neuropéptidos en fibromialgia y controles sanas…….. 85

Tabla 16. Correlaciones entre neuropéptidos y parámetros del dominio del tiempo de la variabilidad de la frecuencia cardiaca……. 86

Tabla 17. Correlaciones entre neuropéptidos y escalas de síntomas en pacientes con fibromialgia…… 86

# VII. ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Instrucciones del proveedor del kit de para medición de neuropéptidos…. 117

Anexo 2. Formatos operativos y formas de reporte de caso…….. 137

Anexo 3. Documentos regulatorios y formatos de consentimiento informado……. 161

Anexo 4. Medicamentos que requirieron periodo de lavado…….. 176

Anexo 5. Cálculos del poder estadístico de correlaciones seleccionadas……... 177

Anexo 6. Cartas de aceptación de presentaciones en congresos científicos…….. 182

# 1. INTRODUCCIÓN

La fibromialgia es un padecimiento multisintomático caracterizado por dolor generalizado, fatiga y alteraciones del sueño. Tiene un importante impacto en la calidad de vida de las personas que la padecen y sólo hasta hace pocos años se le está dando la importancia como entidad nosológica crónica (1), a pesar de que ya se ha propuesto la participación de mecanismos de disautonomía y de dolor neuropático que validan sus múltiples síntomas (2)(3)(4). Previamente, se asignaba un carácter psicosomático o psicológico a esta enfermedad pero recientemente ha habido avances importantes en su etiopatogenia (5). También es reciente la actualización de los criterios diagnósticos, que si bien son herramientas dirigidas a la investigación, son criterios útiles en el ejercicio clínico cotidiano (6). Los criterios diagnósticos son auxiliares para el juicio clínico del médico en la práctica diaria para el diagnóstico individualizado y diferencial de cada caso. La importancia de la participación de la paciente en el tratamiento holístico es la clave del éxito en el enfoque multidisciplinario.

Los mecanismos etiopatológicos de este padecimiento no ha sido esclarecidos, sin embargo, se encuentran en la literatura cada vez más elementos objetivos del mismo (7)(8). Estudios de biopsias de piel y biomicroscopia confocal corneal han puesto de manifiesto de manera consistente la disminución de la densidad de fibras finas en fibromialgia, así como, la disminución del grosor de los nervios estromales corneales. El sistema nervioso autónomo es el principal sistema encargado de adaptarnos al medio ambiente cuyas respuestas pueden estudiarse con el análisis de la variación del tiempo entre latido y latido que constituye una forma de valorar la actividad del sistema nervioso autónomo. La predominancia del sistema nervioso simpático que se encuentra permanentemente activado ante los estímulos crónicos de un medioambiente hostil en el contexto de susceptibilidad propia del individuo se ha propuesto como la génesis del dolor asociado a fibromialgia (9). El dolor tiene un componente de autopercepción aparentemente asociado al estado anímico. La fibromialgia se asocia a depresión y/o ansiedad por lo que en décadas previas se descalificaba su naturaleza como entidad nosológica y se atribuía a aspectos puramente psicológicos, y así, sus síntomas se consideraban subjetivos. La búsqueda de datos objetivos biológicos de este padecimiento es motivo de múltiples investigaciones de nuestro Instituto mediante el estudio de la variabilidad

de la frecuencia cardiaca. En este trabajo de investigación exploramos la asociación de la principal alteración estructural anatomopatológica reportada que es la disminución del grosor y de la densidad de las fibras finas corneales con la disminución de la variabilidad de la frecuencia cardiaca que es la alteración funcional más consistente de la fibromialgia.

# 2. ANTECEDENTES

## 2.1. FIBROMIALGIA

La fibromialgia es un padecimiento multisintomático caracterizado por dolor generalizado, fatiga, mala calidad de sueño, alodinia y parestesias. Se presenta predominantemente en mujeres (10). Pueden observarse hasta en 13 mujeres por cada hombre, sin embargo, esta proporción mujer a hombre puede variar dependiendo de los criterios utilizados para su diagnóstico. Se pueden observar entre 4 y 2 mujeres por cada hombre con los criterios de diagnóstico más recientes. La prevalencia general es del 2%, pero también puede variar por los criterios del 1.7% al 5.4% (11). En México se ha estimado una prevalencia en general de 0.7%, pero se registró 2.2% en población de origen Maya y 0.3% en población Raramury (12)(13). Suele presentarse entre la 4ª y 5ª décadas de la vida, pero también existe en los extremos de la vida (14), en México se ha reportado 1.2% en población pediátrica de edad escolar (15).

La fibromialgia es un padecimiento que origina un importante desgaste socioeconómico, ya sea directamente por la enfermedad o por la disminución de la productividad. Los costos directos anuales de los pacientes con fibromialgia suelen ser 3 veces mayores que los pacientes que no la tienen. Recientemente, en Quebec, Canadá, se ha estimado que 3.19 semanas de manera anual se pierden debido a la fibromialgia. Los costos totales ascienden a $3804 dólares canadienses anuales en 2009 (16). Además, la fibromialgia, junto con otras enfermedades complejas multisintomáticas como intestino irritable, cistitis intersticial, por ejemplo, consumen recursos importantes de los sistemas de salud (17).

### 2.1.1 Etiopatogenia

El origen de este padecimiento no está completamente dilucidado, pero ha habido avances importantes en el conocimiento de los mecanismos responsables del dolor y de los otros múltiples síntomas que refuerzan la propuesta de su origen multifactorial.

De manera intrínseca existe **predisposición genética** que hace susceptibles a mayor dolor a ciertos individuos, especialmente, en aquellos con mecanismos de respuesta al dolor o al estrés alterados. Los genes que codifican para los canales de sodio dependientes de voltaje, catecol-o-metiltransferasa, receptores opioides tipo mu, entre otros, son candidatos ideales para explicar el dolor en fibromialgia. Los estudios de agregación familiar sugieren que los familiares de pacientes con fibromialgia parecen tener mayor sensibilidad al dolor que la población general (18). Existen estudios que apoyan la presencia de algunos polimorfismos del transportador y receptor de serotonina como alteraciones responsables del sistema serotoninérgico. Sin embargo, la aportación más consistente ha sido la alteración de los mecanismos de la depuración de neurotransmisores como dopamina, epinefrina y norepinefrina. La catecol-o-metil transferasa es la principal enzima que inactiva estos neurotransmisores y se sugiere que algunos de sus polimorfismos confieren susceptibilidad no sólo al desarrollo de fibromialgia, sino también, a la gravedad de sus síntomas (19). Se sugiere también que la función del receptor de dopamina se encuentra alterada en pacientes con fibromialgia. La dopamina es un neurotransmisor clave que interviene en la modulación de la percepción del dolor y la analgesia natural por lo que tiene un papel importante en la inhibición del dolor. Polimorfismos del gen SCN9A se han reportado también asociados a la gravedad de los síntomas de fibromialgia (20). Incluso en el modelo animal, el microRNA miR-30b se asociado a la función de canal de sodio dependiente de voltaje Nav 1.7 que se encuentra en el gen SCN9A y se ha asociado con la presencia de dolor neuropático (21).

La **neuropatía de fibras finas** es un hallazgo relativamente reciente y recurrente en los estudios de biopsias de piel de pacientes con fibromialgia. La neuropatía de fibras finas afecta las fibras simpático-nociceptivas más distales y se manifiesta por dolor, parestesias y disfunción autonómica; desde el punto de vista clínico la neuropatía de fibras finas no se puede detectar en estudios de velocidad de conducción nerviosa convencional, se requiere de biopsia de piel, o bien, pruebas cuantitativas sensoriales y/o autonómicas (22). Este cuadro clínico es compatible con la fibromialgia y un hallazgo consistente también en biopsias de piel (23)(24). La parte más inervada con fibras finas nerviosas del organismo es la córnea, también en este sitio anatómico ha sido confirmada la disminución de la densidad del plexo nervioso anterior de la córnea y adelgazamiento de los nervios estromales en comparación con gente sana. El primer estudio que mostró estas diferencias en cornea (Figura 1) fue una aportación de nuestro grupo de investigación (25). Estas pacientes no tenían deficiencia visual, síntomas oculares ni

antecedentes de cirugía de córnea. El porcentaje de la disminución de densidad de fibras finas en fibromialgia incluso es mayor en córnea que en piel, los estudios de microscopía confocal corneal reportan 59% y los estudios de biopsia de piel 45% (26).

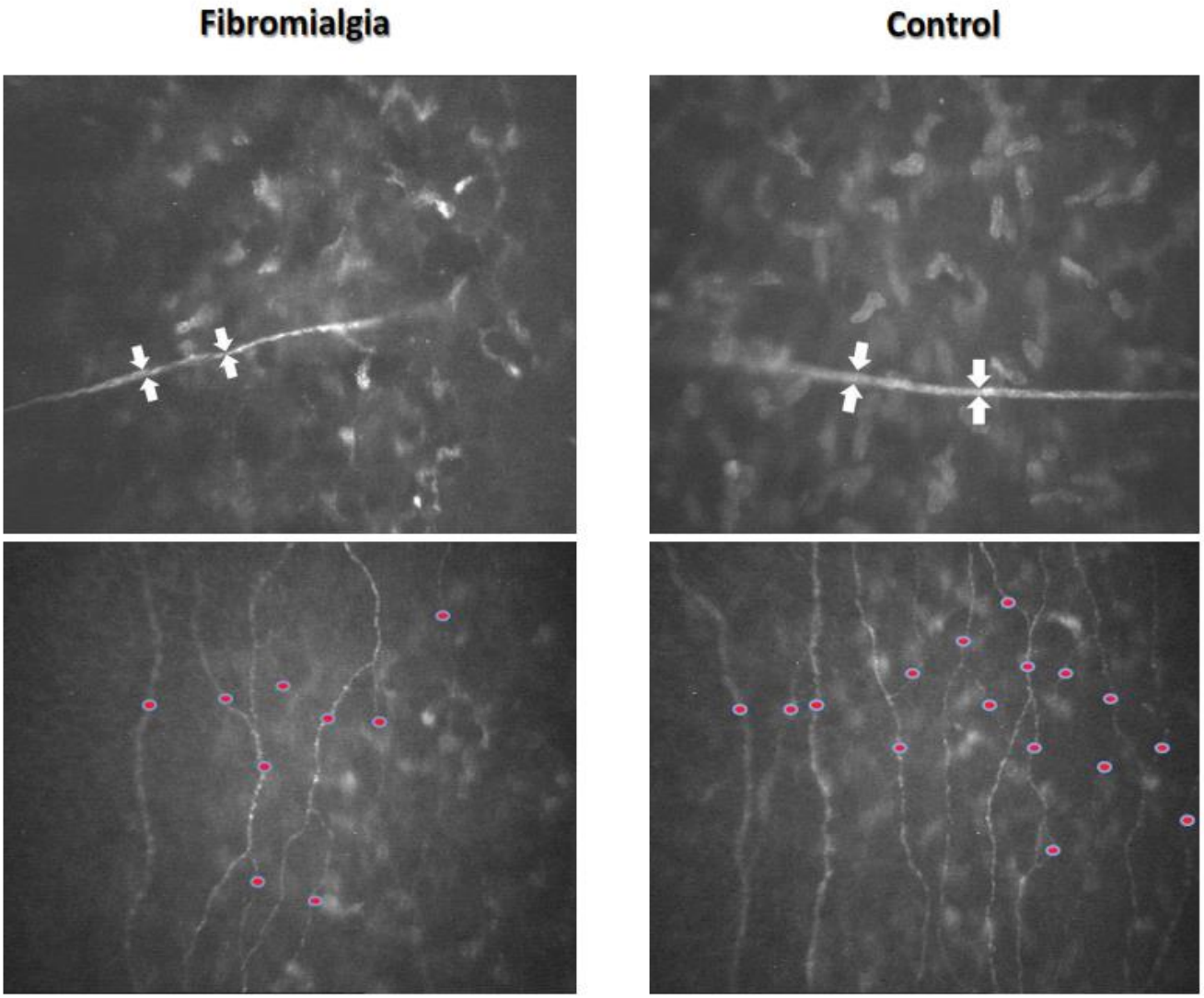



Figura 1. Imágenes representativas de microscopia confocal corneal. Se observa diminución del grosor del nervio estromal corneal en las imágenes superiores en fibromialgia en comparación con el control. En fibromialgia también se aprecia menor cantidad de fibras nerviosas en el plexo nervioso anterior en las imágenes inferiores identificados con círculos rojos.

Las alteraciones del sistema nervioso autónomo han sido motivo de amplia investigación en fibromialgia. El sistema nervioso autónomo es el principal sistema de respuesta ante el estrés y se propone que la activación simpática persistente es responsable del mantenimiento del dolor crónico de la fibromialgia. En los estudios de la **variabilidad de la frecuencia cardiaca**

de pacientes con fibromialgia se observa hiperactividad simpática en registros de 24 horas con predominio durante las horas de sueño (27), y en los estudios con prueba de inclinación se registró hiporreactividad simpática (2). Esto puede condicionar la saturación de los mecanismos de adaptación al reto ortostático y de adaptación global de tal manera que se presenta un “fenómeno de techo”, en el cual, el estado de hiperactividad simpática máxima explica que el individuo es incapaz de responder a un estímulo adicional. Otro ejemplo se observa cuando se aplica una inyección de pequeñas cantidades de norepinefrina subcutánea que desencadena dolor en pacientes con fibromialgia, pero no en pacientes con otro dolor crónico como artritis reumatoide ni gente sana (28). Es interesante que los cuestionarios que miden síntomas disautonómicos correlacionan con los cuestionarios que miden la gravedad de los síntomas de fibromialgia, incluso la versión más reciente de la escala compuesta de síntomas autonómicos (COMPASS-31 por Composite Autonomic Symptom Scale) se ha validado como herramienta inicial de escrutinio para neuropatía de fibras finas (29). Las alteraciones del sistema nervioso autónomo, además de explicar el dolor de la fibromialgia, la alodinia, parestesias, pueden también explicar los otros múltiples síntomas que presentan estas pacientes como sensación de boca seca y ojo seco, insomnio, ansiedad, intestino irritable, entre otras (Figura 2) (30).

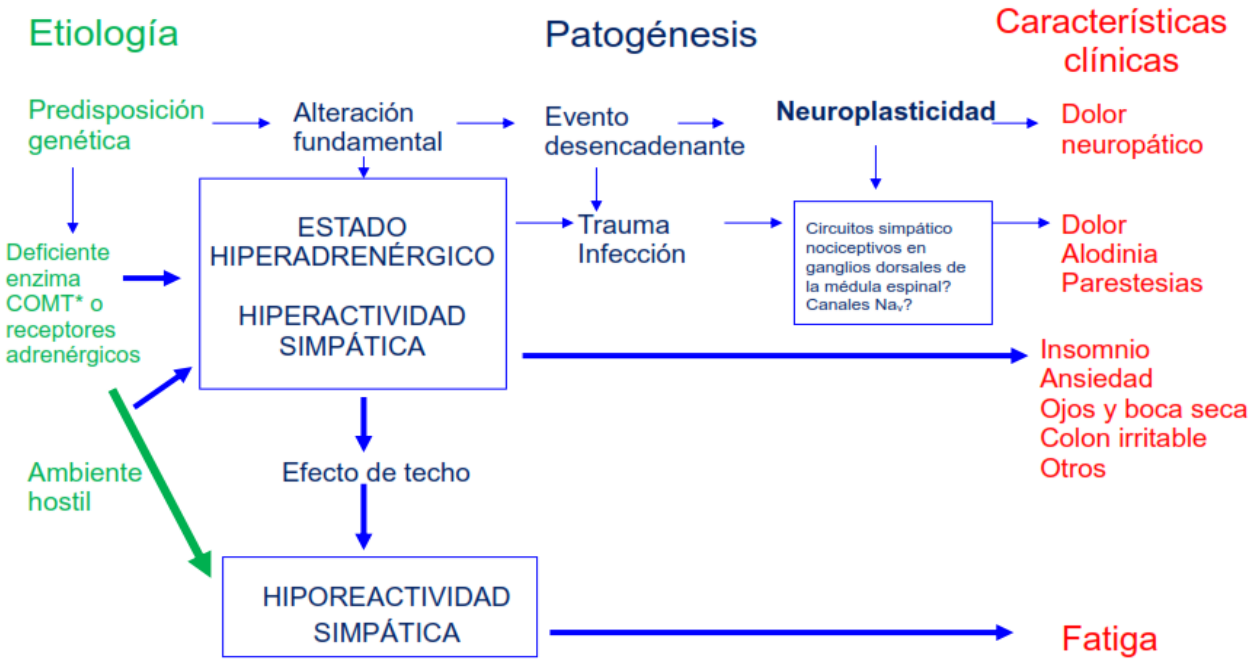



Figura 2. Mecanismos etiopatogénicos teóricos de la fibromialgia. *COMT, catecol-O-metil transferasa. $Na_v$, canales de sodio dependientes de voltaje

Los factores ambientales que favorecen la fibromialgia son una mala alimentación, obesidad, tabaquismo, sedentarismo, accidentes automovilísticos con esguince cervical, traumatismos emocionales como acoso laboral, abuso sexual, la pérdida de un ser querido por muerte o divorcio y estrés post-traumático por conflicto bélico. Estos factores ambientales podrían asociase tanto al desarrollo como o su gravedad de acuerdo a la capacidad de mediar la respuesta al estrés (31).

El estrés en general es, por tanto, un factor ambiental que puede ser físico o emocional, pero puede también ser conceptualizado como el ritmo de vida actual y moderna, en el cual los ciclos de sueño y vigilia se ven alterados. El estrés es cualquier estímulo que altera la homeostasis y la capacidad fallida para adaptarse a esa situación puede entenderse como "distrés". El esfuerzo que hace el organismo para adaptarse al estrés se conoce como alostasia y el precio que se paga por adaptarse a ese esfuerzo es conocido como carga alostática (32). Estos conceptos son importantes debido a que, si bien, el evento estresante ambiental no es modificable en la mayoría de los casos, se puede modificar la forma en que las pacientes lo manejan con técnicas de la terapia cognitivo conductual fundamentada en estos conceptos.

En el proceso de dolor de la fibromialgia existe un fenómeno de resonancia a los estímulos dolorosos, llamado fenómeno de "wind-up", que pone de manifiesto la sensibilización del sistema somatosensorial. Se ha observado con métodos de imagenología funcional tales como resonancia magnética funcional, tomografía con emisión de positrones, que existen alteraciones del flujo sanguíneo o uso de metabolitos marcados en los centros de procesamiento del dolor como el núcleo caudado y tálamo (33). Incluso algunos estudios muestran disminución en el volumen de la materia gris de mujeres con fibromialgia en amígdala, hipocampo, corteza frontal medial, ínsula izquierda y corteza anterior de la circunvolución del cíngulo, aunque no está totalmente esclarecido que preceden a la aparición del dolor (14). Nuevas técnicas de imagen cerebrales no invasivas como la magnetoencefalografía proporcionarán más adelante información relevante de los mecanismos de dolor en pacientes con fibromialgia (33).

Los **neuropéptidos** son pequeñas sustancias de naturaleza proteica, producidos y liberados por neuronas. Si bien, se denominan neuropétidos por su origen de neuronas a diferencia de otros péptidos considerados hormonas, sus efectos no necesariamente se llevan a cabo exclusivamente en el sistema nervioso central. En la periferia, los neuropéptidos pueden

funcionar de manera similar a las hormonas peptídicas y modular casi todas las funciones corporales. La modulación de funciones por neuropétidos en células diana tanto en la periferia como a nivel cerebral podría sugerir la alteración la percepción sensorial (34). Es posible que otros neuropéptidos vinculados a procesos de dolor se encuentren involucrados en los múltiples síntomas de la fibromialgia.

Otros mecanismos de dolor propuestos están relacionados con el aumento de sustancia P en líquido cefalorraquídeo (35)(36) y factor de crecimiento neural. A este último se le atribuye el proceso de gemación anormal de las fibras simpáticas en los ganglios de las raíces dorsales en los modelos animales. También se han propuesto alteraciones del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal que proponen aumento de niveles de la hormona liberadora de corticopropina pero con una respuesta al cortisol disminuida. Además, en un subgrupo de pacientes, el factor de crecimiento insulinoide 1 se encuentra disminuido. También se han identificado alteraciones del estrés oxidativo y disfunción mitocondrial que sugiere daño de nervios periféricos. En este sentido es novedosa y atractiva, pero aún no concluyente, la utilidad de la terapia con oxígeno hiperbárico (8)(10).

Por último, hay eventos de tipo infeccioso que desencadenan síntomas dolorosos en pacientes que han tenido tal infección inclusive cumpliendo criterios para fibromialgia. Agentes infecciosos como el virus de la inmunodeficiencia humana (37), virus de hepatitis C (38), o bien, síndrome posterior a enfermedad de Lyme (39), y aún de manera controversial, la vacunación contra virus de papiloma humano en algunos casos pueden asociarse al desarrollo de fibromialgia (40)(41). Recientemente, materia de estudio son los datos de encefalomielitis miálgica y dolor crónico posteriores a la infección por SARS Cov 2 que se han observado durante esta pandemia (42).

### 2.1.2. Manifestaciones clínicas

El cuadro clínico de fibromialgia se expresa con dolor generalizado como manifestación cardinal, pero también, fatiga, alteraciones del sueño, alodinia y parestesias son parte del perfil clínico característico de este padecimiento (14).

El dolor generalizado suele presentarse por arriba y debajo de la cintura, en un lado y a otro de la línea media. Algunas pacientes refieren dolor más intenso en un lado del cuerpo y también puede presentarse con localización axial. El dolor generalizado bebe tener al menos 3 meses de evolución, pero puede presentarse por varios años. En este caso la probabilidad de que el dolor generalizado sea por fibromialgia primaria es alta. En casos de relativamente reciente inicio se debe tener en cuenta formas secundarias asociadas a enfermedades autoinmunes sistémicas que se encuentren debutando. En algunos casos las pacientes refieren mialgias y no pueden definir con precisión la localización del dolor, de manera coloquial dicen que les “duele entre el hueso y el músculo”, o bien, les “duele desde el pelo hasta las uñas de los pies”. Además, el dolor es sordo y ardoroso. La fatiga suele ser intensa y por lo regular no mejora con un adecuado periodo de descanso, de hecho, algunas pacientes refieren que se despiertan “como si las hubieran apaleado”. Esto traduce una mala calidad de sueño a pesar de conciliarlo. En otros casos se presenta insomnio y somnolencia diurna que afectan la calidad de vida. La alodinia se manifiesta por referir dolor a estímulos que normalmente no son dolorosos, como un fuerte saludo, abrazo o incluso la presión de la ropa. También puede presentarse hiperestesia cuando se aplican estímulos dolorosos y posteriormente se desencadena hiperpatía, que es la persistencia de la sensación dolorosa aún después de retirar el estímulo doloroso. Las parestesias o disestesias son frecuentemente manifestadas como entumecimientos u hormigueos (14).

Además de este perfil clínico, las pacientes pueden tener otros síntomas asociados como trastornos cognitivos, síndrome de colon irritable, sensación de debilidad muscular, dolor o calambres en el abdomen, mareos, constipación, depresión, nausea, nerviosismo, dolor precordial atípico, diarrea, xerostomía, xeroftalmia, prurito, zumbido en los oídos, pérdida o cambio del gusto, vómitos, acidez estomacal, pérdida del apetito, sensibilidad excesiva a la luz brillante o sonidos, micción frecuente o dolorosa que se refieren en los criterios preliminares del Colegio Americano de Reumatología (American College of Rheumatology, ACR) que más adelante se detallan (43).

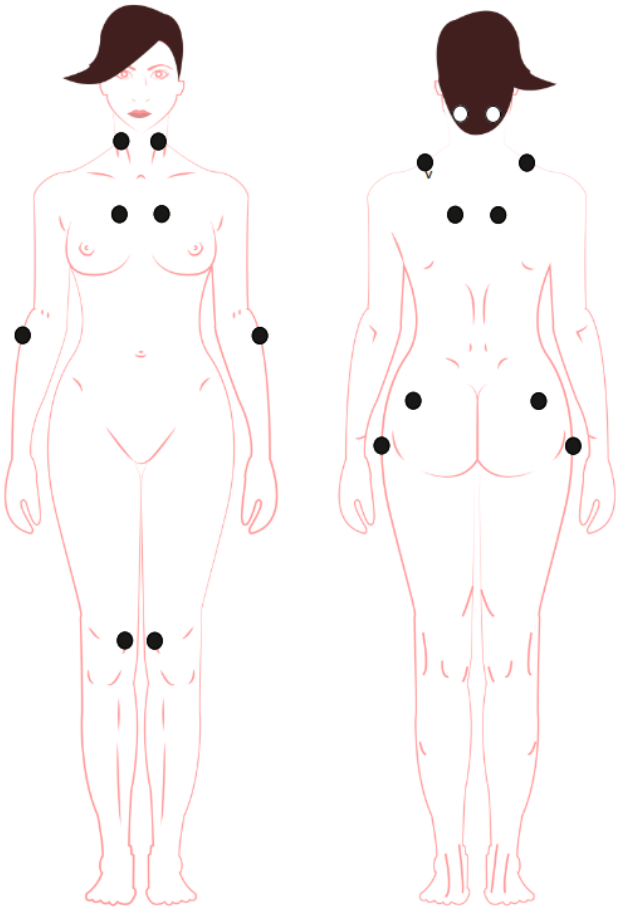
Algunos otros síntomas como visión borrosa, cefalea, fiebre, fenómeno de Raynaud, sibilancias, úlceras orales, convulsiones, disnea, erupción cutánea, tendencia a formar moretones o pérdida de cabello que también se contemplan en los criterios de preliminares del ACR requieren un acucioso juicio clínico y mayor semiología de acuerdo con el caso ya que

pueden presentarse también en enfermedades autoinmunes. Por ejemplo, el Fenomeno de Raynaud al que se hace alusión en los criterios diagnósticos más bien corresponde a un “pseudofenómeno de Raynaud”, donde las pacientes con fibromialgia refieren manos y pies fríos o acrocianosis pero sin presentar la fase isquémica que orienta hacia un verdadero compromiso vascular del fenómeno de Raynaud como el de la esclerodermia, lúpus o síndrome de Sjögren. Las úlceras orales y erupción cutánea deben ser evaluadas con adecuado juicio clínico para descartar lesiones que podrían confundirse con lupus, por citar algunos ejemplos (44).

El interrogatorio completo y bien dirigido es la clave para el diagnóstico ya que en fibromialgia no existe ningún signo clínico específico o patognomónico a la exploración física y los múltiples síntomas referidos por las pacientes suelen considerarse manifestaciones clínicas “subjetivas”. Sin embargo, en la exploración física 4 situaciones son auxiliares como datos “objetivos”: la presencia de livedo reticularis, hipermovilidad articular, dolor referido mientras se realiza la medición de la presión arterial y puntos de fibromialgia dolorosos. Las pacientes con fibromialgia pueden tener livedo reticularis durante la exposición a frío o a estrés. Es importante diferenciar entre livedo reticularis y livedo rascemosa. El primero implica una situación funcional y transitoria, y el segundo implica cambios vasculares orgánicos de las enfermedades autoinmunes (45). Hasta el 42% de las pacientes con fibromialgia primaria pueden presentar livedo reticularis muy sutil de predominio en extremidades, pero no presentan livedo racemosa (46). La hipermovilidad articular es una condición benigna. El 23.7% de las pacientes con fibromialgia tienen hipermovilidad articular comparadas con el 11.4% de la mujeres controles (47). Por último, las pacientes también pueden referir dolor en el brazo durante la insuflación del manguito del baumanómetro para medir la presión arterial. El 69% de las pacientes con fibromialgia tienen dolor producido por esfingomanometría mientras que el 10% de las pacientes con osteoartritis, el 5% de las pacientes con artritis reumatoide y sólo el 2% de gente sana lo refieren. La presión a la cual las pacientes con fibromialgia refieren dolor es 143 ± 40mmHg, mientras que en los otros grupos de pacientes y controles fue de 176 ± 11 mmHg o mayor (48).

### 2.1.3. Criterios diagnósticos

A pesar de que se acuñó el término de fibrositis desde 1904 para describir este padecimiento y se nombró fibromialgia como tal desde mediados de los años setentas (49), no fue hasta 1990 que se desarrollaron los primeros criterios de clasificación por el American College of Rheumatology (ACR) (50). De acuerdo a estos criterios, para que un o una paciente sea clasificado con fibromialgia, se requiere dolor generalizado por más de 3 meses de evolución y dolor a la palpación con 4 kg de presión en al menos 11 de los 18 puntos de fibromialgia con el perfil clínico de este padecimiento (Figura 3). Desde su publicación, esta herramienta permitió homogenizar las poblaciones estudiadas de fibromialgia y también trascendió su uso a la práctica clínica cotidiana.



| Punto doloroso | Localización |
|---|---|
| Occipucio | Inserción de los músculo suboccipitales |
| Cervical bajo | Aspectos anteriores de los espacios intertrasnversos de los espacios C5 a C7 |
| Trapecio | Punto medio del borde superior |
| Supraespinoso | En el origen por arriba de la espina escapular cerca del borde medial |
| Segunda costilla | En las uniones costocondrales de la segunda costilla, justo lateral a las uniones sobre su |
| Epicóndilo lateral | Distal a 2 centímetros de los epicóndilos |
| Glúteo | En el cuadrante superior externo de cada nalga |
| Trocánter mayor | Posterior a la prominencia trocantérica |
| Rodilla | Almohadilla de grasa medial proximal a la línea articular |

Figura 3. Localización anatómica de los puntos dolorosos de fibromialgia.

Recientemente, en 2010 el ACR emitió los nuevos criterios diagnósticos preliminares de fibromialgia (43), consta de 2 elementos principales: el índice de dolor generalizado (WPI siglas en inglés de Widespread Pain Index) y la escala de gravedad de los síntomas (SSS siglas en inglés de Symptom Severity Score). El WPI evalúa el dolor en 19 regiones (Figura 4).

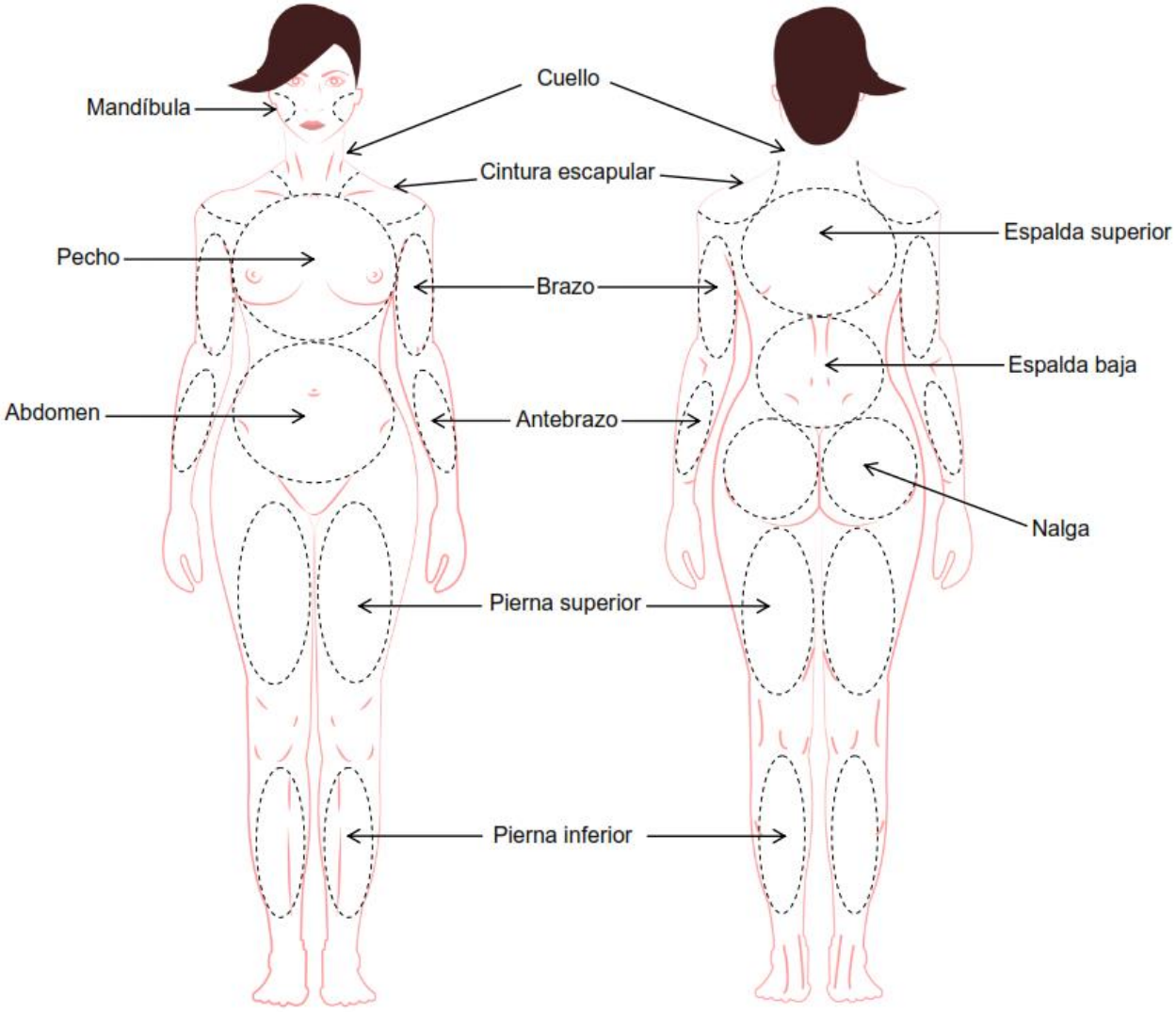



Figura 4. Localización anatómica de las regiones del índice de dolor generalizado.

El SSS evalúa la gravedad de la fatiga, las alteraciones del sueño, las alteraciones cognitivas principalmente (Figura 5) y pondera la presencia de otros 41 síntomas durante la última semana (Figura 6A). El algoritmo de calificación es relativamente sencillo (Figura 6A y 7A) y se puede determinar la presencia de fibromialgia tipo I si la paciente tiene una calificación WPI mayor o igual a 7 de WPI y SSS mayor o igual a 5. La fibromialgia tipo II se diagnostica si el

WPI se encuentra entre 3 y 6 y el SSS es mayor o igual a 9. En el 2011 se publicó una versión modificada de estos criterios (51), en la cual, en lugar de considerar la presencia de 41 síntomas somáticos en la última semana consideran sólo 3 síntomas pero durante los últimos 6 meses (Figura 6B).

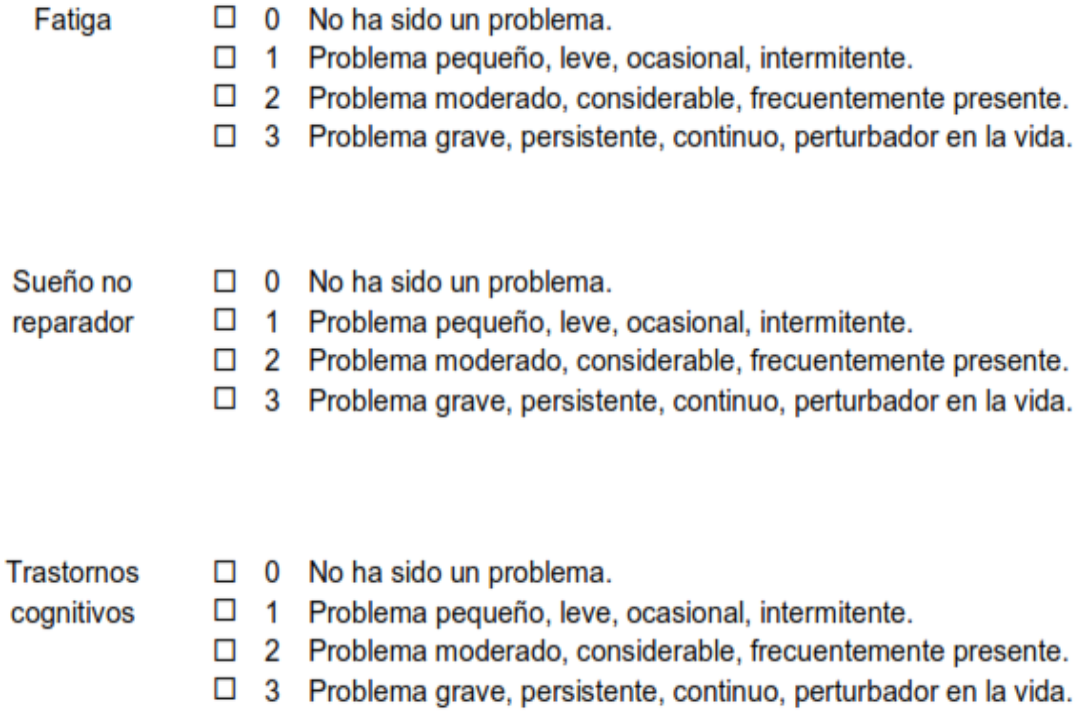



Figura 5. Escala de gravedad de los síntomas. Para cada uno de esto tres síntomas la paciente debe indicar el nivel de gravedad de durante la última semana.

La regla de calificación para los criterios modificados es la misma que para los criterios preliminares. A finales del 2016 se ha publicado una revisión de los criterios 2010/2011 (52). En los criterios 2016, la regla de clasificación para fibromialgia tipo II cambia, el rango de WPI debe ser de 4 a 6 en vez de 3 a 6 (Figura 7B). Además, se especifica que el dolor debe considerarse como generalizado cuando hay dolor en áreas anatómicas de por lo menos 4 de 5 regiones y se aclara que el dolor en mandíbulas, tórax o dolor abdominal no debe ser evaluado como parte de la propia definición de dolor generalizado pero si se toma en cuenta para la sumatoria total. También, se establece que los síntomas deben estar presentes generalmente al menos por 3 meses. Se elimina la exclusión respecto a enfermedades que

podrían explicar el dolor y permite que un diagnóstico de fibromialgia sea válido independientemente de otros diagnósticos, ya que, un diagnóstico de fibromialgia no excluye la presencia de otras enfermedades clínicamente importantes.

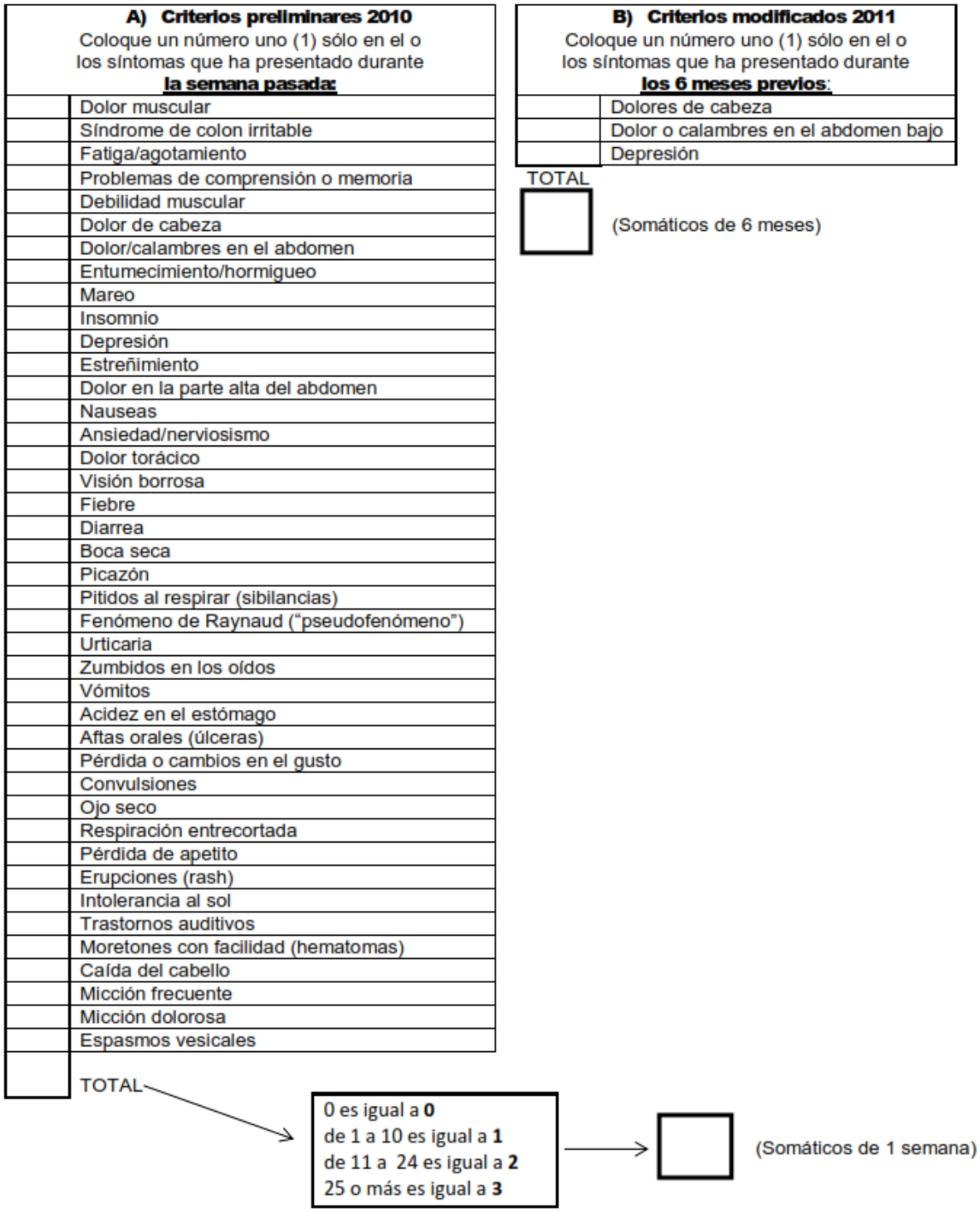



Figura 6. Síntomas somáticos que contribuyen a la escala de gravedad de los síntomas.

Un hecho interesante, es que los criterios de 1990 establecen de manera dicotómica la presencia o no de fibromialgia y con los criterios a partir de 2010, además, se permite evaluar la intensidad de ésta. El valor de WPI y el valor de SSS se suman para constituir la Escala de Distrés Polisintomático (PSD siglas en inglés de Polysymptomatic Distress Scale). Al PSD también se le ha llamado en algunos artículos como Escala de Gravedad de Fibromialgia (FS, siglas en inglés de Fibromyalgia Severity scale). El FS se considera como un componente importante en los criterios de 2016 (Figura 7C). De acuerdo con las reglas de calificación, el mínimo valor de PSD para cumplir los criterios es de 12 (13 para fibromialgia tipo II con criterios 2016), sin embargo, ya establecido el diagnóstico se pueden considerar las siguientes categorías de gravedad: de 0 a < 4 ninguna, de 4 a < 8 leve, de 8 a < 12 moderada, de 12 a < 20 grave y muy grave de 20 a 31.

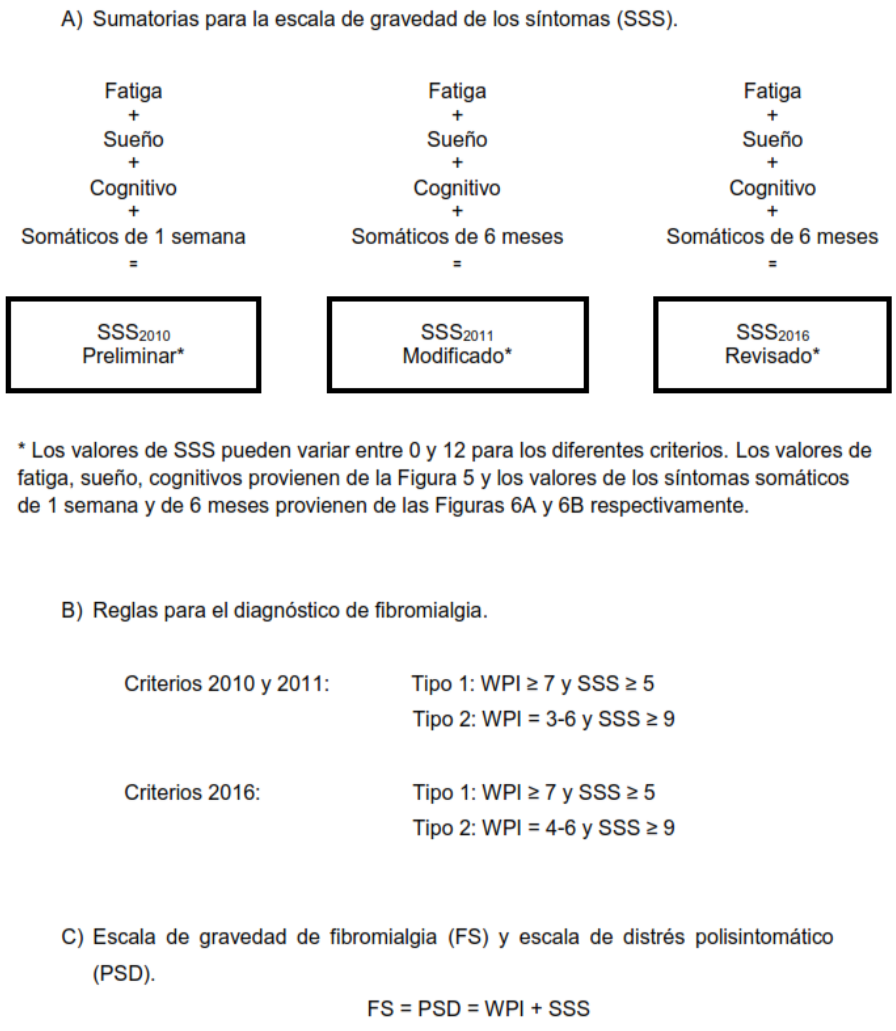



Figura 7. Algoritmo de calificación de los nuevos criterios de fibromialgia.

Previo al desarrollo del PSD, la principal herramienta validada para calificar la gravedad de la fibromialgia fue el cuestionario de impacto de la fibromialgia (FIQ por sus siglas en ingles Fibromialgia Impact Questionnaire) publicada inicialmente en 1991 y modificada en 1997, 2002, 2005 y 2009. La versión más reciente se conoce como FIQR (Revised FIQ) (53). Esta herramienta consta de 21 preguntas individuales (escala de 0-10 cada una) divididas en 3 dominios que evalúan la función (9 preguntas), el impacto general (2 preguntas) y los síntomas (10 preguntas), estos dominios representan el 30%, 20% y 50% respectivamente de la calificación total. El rango de valores final es 0 a 100 y entre más alto es, más grave es el padecimiento. Una calificación de FIQR por arriba de 50 puntos ya califica como un caso de fibromialgia grave de acuerdo con sus síntomas. El deterioro cognitivo suele manifestarse frecuentemente como alteraciones leves de la memoria reciente o disminución de la capacidad intelectual previa.

### 2.1.4 Diagnóstico clínico individualizado

Los criterios de 1990 son útiles para la clasificación de pacientes, mientras que los de 2010, 2011 y 2016 fueron diseñados como diagnósticos para uso principalmente en investigación en grandes poblaciones. Los criterios de auto reporte 2011 y 2016 se recomiendan para uso en investigación y los criterios basados en entrevista médica 1990 y 2010 son recomendados para el diagnóstico individual de un paciente, pero cualquier criterio puede ser usado en la práctica clínica diaria ya que el ejercicio del juicio clínico es el elemento más importante para establecer el diagnóstico en un paciente.

De hecho, una manera muy útil de utilizar los criterios diagnósticos 2010, 2011 y 2016 en el ejercicio clínico cotidiano es aplicarlos en aquellos pacientes con dolor generalizado mayor de 3 meses con fatiga y sueño no reparador. Se recomienda en esos pacientes profundizar en la semiología del dolor, del deterioro cognitivo, depresión, ansiedad, dolor regional, antecedentes familiares de fibromialgia al interrogatorio dirigido y observar de manera objetiva los síntomas de la paciente con algún diagrama corporal de dolor, la escala clinimétrica FIQR y/o WPI con SSS y PSD/FS. El procedimiento hasta aquí descrito, es aparentemente es sencillo, sin

embargo, un interrogatorio cuidadoso para excluir otras enfermedades es fundamental, así como un minucioso examen físico dirigido y exámenes de laboratorio orientados a determinar la probabilidad alta o no de fibromialgia (54).

En el examen físico se debe buscar la presencia de alodinia referida de manera espontánea por la paciente al tomar la presión arterial, confirmar la presencia de livedo reticularis y/o hipermovilidad articular y el número de puntos dolorosos de fibromialgia. Se debe tener mayor acuciosidad para realizar una exploración articular completa (55). Se debe descartar la presencia de sinovitis y evaluar los rangos de movimiento, las pacientes con fibromialgia conservan los rangos de movimiento activos a pesar de referir dolor y se pone así de manifiesto la presencia de artralgias pero la ausencia de artritis. Las pacientes con fibromialgia pueden referir debilidad muscular subjetiva, pero tienen conservada la fuerza 5/5 durante las maniobras de exploración de grupos de fuerza muscular. Se deben buscar lesiones en mucosas, piel y anexos, revisión de pulsos centrales y periféricos, así como, exploración de sistema cardiovascular, pulmonar, abdominal y neurológico. Intencionadamente se recomienda buscar alteraciones neurológicas de acuerdo con los síntomas neurológicos referidos por cada paciente. La exploración física debe ser lo más completa posible dirigida de acuerdo con los síntomas de la paciente para descartar otras comorbilidades de origen autoinmune sistémico o neurológico que puedan simular fibromialgia. Es muy importante hacer una exploración física completa con el método clínico ordenado, aunque es preferible la palpación de los puntos de fibromialgia como último procedimiento a que en algunas pacientes la palpación de estos puntos es intensamente dolorosa que incluso puede provocar llanto. Ese estado emocional dificulta continuar la exploración física, y además, es también práctico al final preguntar y observar si precisamente la palpación de los puntos de fibromialgia es la maniobra más dolorosa de toda la exploración física.

De manera razonable estudios como biometría hemática completa, química sanguínea dirigida a grupo etario y sexo, función tiroidea, velocidad de sedimentación y/o proteína C reactiva son suficientes como escrutinio inicial. Los estudios con antigüedad de 6 o hasta 12 meses pueden ser útiles, siempre y cuando sean de acuerdo con el tiempo de evolución del cuadro clínico de la paciente, o bien, de la exacerbación de los síntomas. Cabe señalar que no existe a la fecha ningún examen de laboratorio o gabinete que sea “estándar de oro”. Así, para el diagnóstico

de la fibromialgia son sólo auxiliares en la evaluación médica pero el diagnóstico es clínico (54).

Integrando los procesos anteriores, es altamente probable el diagnóstico de fibromialgia en una paciente que tenga el perfil clínico de fibromialgia con 11 o más puntos dolorosos, escalas WPI y SSS compatibles con fibromialgia, exploración física normal y resultados iniciales de escrutinio normales. Si se tiene el perfil de fibromialgia con hallazgos anormales en la exploración física o en los exámenes de laboratorio es todavía probable que se pueda tener fibromialgia, pero se tienen que ponderar las anormalidades focales predominantes y dar seguimiento por otra comorbilidad si se sospecha. En el caso de que la paciente no alcance a tener 11 puntos dolorosos, no cumpla los criterios diagnósticos de WPI y SSS, y cuente con hallazgos anormales en la exploración física y exámenes de laboratorio, es sumamente importante revalorar a la paciente en búsqueda de signos sutiles de inflamación articular, fiebre, exantema, úlceras, alopecia, o uso de medicamentos responsables de debilidad o neuropatía, mareos, etc., ya que hay baja probabilidad de que el diagnóstico sea fibromialgia. Por ejemplo, en algunos casos con alta sospecha o evidencia de disminución objetiva de fuerza muscular la creatina fosfocinasa puede orientar a miopatías. Se pueden solicitar también examen general de orina, pruebas de función hepática, creatinina, calcio y fósforo de acuerdo con el contexto clínico de cada caso. Otros estudios, como niveles de vitamina B12, vitamina D, ferritina, capacidad de fijación de hierro y porcentaje de saturación raramente están indicados en fibromialgia pero pueden solicitarse si la sospecha clínica de otra enfermedad es muy alta. Se debe ser cauteloso en la solicitud de estudios de laboratorio de tipo inmunológico, recordemos que el 5% de gente sana puede tener factor reumatoide positivo (56) y el 13% de donadores sanos tienen positividad para anticuerpos antinucleares a títulos bajos 1:80 y del 3.2% con títulos de 1:160 (57). Los anticuerpos antinucleares incluso pueden encontrarse títulos más elevados en niños y adultos mayores, o bien, pueden ser epifenómenos transitorios (58).

La referencia al especialista reumatólogo o neurólogo es útil en los casos en que no se cumplen los criterios de fibromialgia y/o se sospecha de una enfermedad reumática o neurológica concomitante evidente. Frecuentemente, las pacientes tienen síntomas leves a moderados de depresión o ansiedad, en estos casos el acompañamiento con un grupo de apoyo o psicólogo pueden ser de utilidad. Sin embargo, en casos de síntomas graves de ansiedad o depresión,

de largo tiempo de evolución o que ponen en peligro la vida, se recomienda referir a la paciente al psiquiatra para una adecuada evaluación diagnóstica de la enfermedad mental subyacente y tratamiento especializado. En este sentido, la recomendación de ampliar el soporte para la paciente es útil, en particular los grupos de apoyo y la red familiar son buenas opciones (59).

### 2.1.5. Diagnóstico diferencial

Los múltiples síntomas de la fibromialgia pueden simular otros padecimientos, pero existen diferencias muy puntuales con otras enfermedades con las cuales se hace diagnóstico diferencial principalmente.

El hipotiroidismo comparte un perfil similar a la fibromialgia pues pueden presentarse mialgias, parestesias, fatiga, y depresión asociada, sin embargo, orientan a este diagnóstico la ganancia de peso, intolerancia al frío y la confirmación de la elevación de la hormona estimulante de la tiroides. En la osteoartritis, sobre todo en casos en donde hay afectación de varias articulaciones pudiera confundirse por la presencia de artralgias. Sin embargo, el carácter del dolor en la osteoartritis es de tipo mecánico, es decir, mejora con el reposo y empeora con las actividades físicas ya sea referido a una o varias articulaciones específicamente. También la rigidez articular, crepitación y limitación de los rangos de movimiento sin el marcado compromiso de dolor muscular generalizado ayudan a su diferenciación. La confirmación anatómica de estas alteraciones articulares por osteoartritis puede ser radiográfica, pero hay que tener en cuenta que existe una prevalencia alta de alteraciones degenerativas en estudios radiográficos en población asintomática. El síndrome miofacial se diferencia fácilmente de la fibromialgia porque carece del dolor generalizado, por el contrario, el estímulo de un punto gatillo produce dolor muscular localizado, aunque se acompaña de trastornos del sueño y rigidez muscular. El síndrome doloroso regional complejo comparte algunas características como el antecedente traumático de la extremidad afectada y alteraciones neurovegetativas cutáneas, dolor y distrofia, pero estas manifestaciones son evidentemente regionales. Las manifestaciones de espondiloartritis en mujeres pueden llegar a simular fibromialgia debido a que la mayoría de los puntos dolorosos se localizan próximos o corresponden a sitios de entesis, además hay afección axial y periférica, sin embargo, en estos casos la presencia de

artritis evidente sobre todo en extremidades inferiores, dactilitis, limitación de movilidad axial, elevación de reactantes de fase aguda, o la presencia de HLA-B27 pueden orientar al diagnóstico. La polimialgia reumática se presenta como dolor, debilidad y rigidez de la cintura escapular en mujeres mayores de 50 años, pero estas pacientes tienen elevación de la velocidad de sedimentación globular o proteína C reactiva y respuesta excelente a dosis bajas de glucocorticoides, que no sucede en fibromialgia. Etapas muy tempranas de artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, lupus o miositis inflamatorias podrían simular fibromialgia, pero por lo general estas enfermedades reumáticas debutan con datos clínicos muy específicos que orientan al diagnóstico. La artritis reumatoide presenta rigidez matutina mayor a una hora, evidente artritis con aumento de volumen y dolor a la palpación, bloqueo del rango de movimiento, con elevación de reactantes de fase aguda, factor reumatoide y/o anticuerpos antipéptido cicliclo citrulinado, y datos radiológicos, o bien, ultrasonográficos si es alta la sospecha de un caso muy temprano. El síndrome de Sjögren presenta xeroftalmia y xerostomía, así como, artralgias, mialgias, incluso datos de disautonomía, pero la presencia de manifestaciones extraglandulares y anticuerpos anti-Ro/SSA y anti-La/SSa pueden orientar al diagnóstico. El lupus eritematoso sistémico tiene manifestaciones mucocutáneas, fiebre, fotosensibilidad y afección hematólogica, renal, cardiopulmonar, entre otras, las cuales son más evidente con la presencia de anticuerpos antinucleares o especificidades anti-DNA de doble cadena, anti Sm, entre otros anticuerpos que orientan al diagnóstico. La debilidad muscular proximal y mialgias orientan a miositis de tipo inflamatorio y en esto casos de manera inicial la creatina fosfocinasa y electromiografía son de utilidad. En etapas tempranas de la esclerosis múltiple la fatiga y parestesias pueden simular fibromialgia, sin embargo, la presencia de datos neurológicos focales, la progresión motora de la enfermedad y lesiones desmielinizantes del sistema nervioso central por resonancia magnética ayudan a diferenciar este diagnóstico. Dado que por frecuencia es más rara la presentación de fibromialgia en hombres, se recomienda ser más acuciosos en estos casos, pues por lo regular corresponde a espondiloartritis u otras enfermedades con presentación de cuadros clínicos muy sutiles o tempranos (54)(14).

Un evento estresante de la vida puede ser cáncer y su propio tratamiento. Si bien, estas pacientes cursan con dolor crónico y pueden satisfacer los criterios de ACR en porcentaje discretamente mayor que en la población general, no hay evidencia de que la fibromialgia se asocie con el desarrollo futuro de cáncer. Se ha reportado que la frecuencia de fibromialgia en

cáncer de mama puede ser del 9% (60) pero el riesgo de desarrollar cáncer de mama en mujeres con fibromialgia confirmada o inclusive sólo con sospecha de la misma no es mayor que el de la población general (61). El escrutinio de cáncer en estas pacientes más bien está indicado por sexo, edad y otros factores de riesgo independientemente de la presencia de fibromialgia. El reto en el diagnóstico diferencial es establecer si se trata de fibromialgia primaria o bien asociada a otra enfermedad con manifestaciones similares ya que dilucidar esta disyuntiva o situación concomitante tendrá implicaciones importantes en el tratamiento (62).

### 2.1.6. Tratamiento

El tratamiento de la fibromialgia requiere de un enfoque holístico y de la participación activa de la paciente para que sea efectivo. Se debe actuar en todas las áreas al mismo tiempo, progresivamente y de manera sostenida a largo plazo para mayor beneficio de las pacientes. Se recomienda un cambio en el estilo de vida que implica hábitos alimenticios (63), de ejercicio dirigido (64) y de sueño saludables (65), pero sobre todo cambio en la forma de pensamiento rígido y/o catastrofista que suelen tener estas pacientes. Para este fin, la terapia cognitiva conductual es la herramienta más útil (66). Se deben evitar estimulantes, como café, refrescos de cola, tabaco, e irritantes, así como, alcohol etílico o drogas ilegales (67). Medidas sencillas como el ejercicio aeróbico graduado, evitar productos simpaticomiméticos (nicotina, cafeína), ejercicios de biorretroalimentación, ingesta abundante de agua mineral y medias ajustadas puede ser medidas no farmacológicas útiles en el manejo de la disautonomia de la fibromialgia (65).

A la fecha no se dispone de un “target to treat” (68) y actualmente, sólo hay 3 medicamentos formalmente autorizados por la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (FDA, siglas en inglés de Food Drug Administration) para el tratamiento de la fibromialgia (69): pregabalina (pregabalina bloquea la subunidad $\alpha_2\delta$ del canal de calcio dependiente de voltaje) (70), duloxetina (un inhibidor dual de la recaptura de la serotonina y adrenalina) (71) y milnacipran (72). Amitriptilina, ciclobenzaprina, gabapentina, tramadol, o paracetamol, citalopram, fluoxetina, paroxetina, entre otros, pueden ser útiles en casos

selectos valorando beneficio sobre riesgo (64)(69). La polifarmacia se debe evitar ya que las pacientes con fibromialgia tienen mayor efecto placebo (73) y mayor efecto nocebo (74). Algunas presentaciones comerciales de *Valeriana officinalis* o *Melissa officinalis* puede ser útiles para mejorar la calidad del sueño (75)(76)(77). A la fecha no se dispone de ningún ensayo clínico controlado de buena calidad metodológica que demuestre la efectividad contundente del uso medicinal de preparaciones herbales de *Cannabis* para fibromialgia (78)(79), ni tampoco se recomienda en ninguna guía o consenso de manejo médico. La Asociación Canadiense de Reumatología señala que el cannabis medicinal no es una alternativa al tratamiento estándar para cualquier enfermedad reumática, no debe utilizarse en pacientes menores de 25 años, con antecedentes de enfermedad psicótica, trastorno por abuso de sustancias, intentos de suicidio previos, o ideación suicida entre otras condiciones. Sí consideramos que hasta el 71% de las pacientes con fibromialgia han tenido depresión alguna vez en la vida (80), el 46% ansiedad (81), el 24% trastorno mixto de ansiedad y depresión (82), y el riesgo de suicidio es del 81% (83), el uso de preparaciones de Cannabis es controversial.

# 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La fibromialgia es una enfermedad multisintomática caracterizada por dolor generalizado, fatiga, mala calidad de sueño, parestesias y artralgias que afecta predominantemente a mujeres. La prevalencia en población general es del 5% aproximadamente (84). Se ha propuesto que el dolor de este padecimiento puede ser mantenido por hiperactividad del sistema nervioso simpático y que la disautonomía puede explicar los múltiples síntomas de la fibromialgia. La variabilidad de los ritmos cardiacos es una herramienta que puede evaluar la función del sistema nervioso autónomo, el cuál es el principal sistema de adaptación al medio ambiente y de respuesta al estrés (85).

La neuropatía de fibras finas es una enfermedad del sistema nervioso periférico que principalmente afecta fibras sensoriales pequeñas y fibras simpáticas que se manifiesta por dolor, parestesias y disfunción autonómica (86). El diagnóstico se realiza por pruebas funcionales de sensibilidad cuantitativa y/o pruebas de reflejos autonómicos que muestran alteraciones sensoriales o de la respuesta autonómica con cambios en la biopsia de piel consistentes con disminución de la densidad de las fibras nerviosas pequeñas (24)(23).

La microscopia confocal corneal es un nuevo método no invasivo para estudiar las pequeñas fibras de la córnea que, por cierto, es la estructura más inervada el organismo. Recientemente, se confirmó por nuestro grupo de investigación que existe disminución en el grosor de las fibras finas corneales y en la densidad del plexo nervioso anterior de la córnea en pacientes con fibromialgia (25). Estas alteraciones se asocian con la presencia de fibromialgia, sin embargo, aún se desconoce su relación con parámetros de la variabilidad de la frecuencia cardiaca.

## 3.1. JUSTIFICACIÓN

La fibromialgia, debido a su espectro multisintomático, satura los servicios de salud, constituye entre otros diagnósticos el 16% de la atención médica de segundo nivel y tiene un costo anual adicional por paciente aproximado entre $50,000.00 y $75,000.00 (17)(87). Contribuir al conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos ayudará al entendimiento y el diagnóstico temprano de la enfermedad, así como al desarrollo de nuevos medicamentos para disminuir costos a nuestras instituciones.

## 3.2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la correlación entre los parámetros de la microscopia confocal y la variabilidad de la frecuencia cardiaca en pacientes con fibromialgia?

# 4. OBJETIVOS

## 4.1 OBJETIVO PRIMARIO

1. Determinar la correlación entre la morfología de los nervios corneales y los parámetros de variabilidad de la frecuencia cardiaca en las pacientes con fibromialgia

## 4.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

2a. Determinar las correlaciones de los parámetros de la microscopia confocal corneal con los síntomas de neuropatía de fibra fina y gravedad de otros múltiples síntomas de fibromialgia

2b. Determinar si existe asociación entre los puntajes de la encuesta de síntomas de neuropatía de fibra fina y las principales escalas clinimétricas que recopilan los múltiples síntomas de fibromialgia

3. Determinar los niveles circulantes de neuropéptidos en mujeres con fibromialgia, compararlos con los de controles sanas y correlacionarlos con parámetros de variabilidad de la frecuencia cardiaca y gravedad del padecimiento

# 5. HIPÓTESIS

Hipótesis nula:

No hay correlación entre los parámetros de la microscopia confocal y la variabilidad de la frecuencia cardiaca en pacientes con fibromialgia.

Hipótesis alterna:

Existe correlación positiva entre los parámetros de la microscopia confocal y la variabilidad de la frecuencia cardiaca en pacientes con fibromialgia.

# 6. METODOLOGÍA

## 6.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio transversal comparativo analítico.

## 6.2. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

El objetivo principal del estudio requiere sólo pacientes con fibromialgia para buscar la asociación de mediciones de microscopia confocal corneal y parámetros de la variabilidad de la frecuencia cardiaca intragrupo, sin embargo, se requiere un grupo de referencia para establecer si hay diferencias en las mediciones basales de neuropéptidos. Por lo anterior, propusimos un grupo de estudio y un grupo control negativo.

### 6.2.1. Grupo de estudio

Población objetivo:

Mujeres con fibromialgia.

Población elegible:

Mujeres con fibromialgia que acuden a valoración al Departamento de Reumatología del Instituto nacional de Cardiología Ignacio Chávez.

Criterios de inclusión:

Mujeres de 18 a 50 años con diagnóstico de fibromialgia primaria de acuerdo con los criterios de 1990, 2010, 2011 y 2016, con al menos 2 años de diagnóstico y/o preferentemente más de 5 años de evolución de los síntomas, escala de dolor análoga al menos de 4/10, que tuvieran la capacidad de firmar su consentimiento informado por escrito.

Criterios de exclusión:

Enfermedad autoinmune concomitante, diabetes mellitus u otra causa conocida de neuropatía, proceso infeccioso en los últimos 30 días, periodo menstrual al momento del registro de holter,

medicamentos concomitantes que potencialmente pueden influir en el sistema nervioso autónomo como betabloqueadores, otros antihipertensivos, diuréticos, preparaciones de cannabis, entre otros. Así como, resistencia a la insulina conocida, condiciones cardiovasculares que afectan la variabilidad de la frecuencia cardiaca como la cardiopatía isquemia o cualquier causa de insuficiencia cardiaca e inclusive trabajadores en activo con horario laboral en turno nocturno fueron criterios de exclusión. Se excluyeron cirugía de córnea previa.

Criterios de eliminación:
Pérdida de más de 10% de datos útiles del Holter, consumo de medicamentos prohibidos durante la realización de holter de 24 hrs y/o muestra biológica para medición de neuropéptidos séricos insuficiente o no procesable.

6.2.2. Grupo control

Criterios de inclusión:
Mujeres que se autodefinen sanas de 18 a 50 años pareadas por más o menos 2 años de edad y por más o menos 2 unidades de índice de masa corporal con consentimiento informado por escrito.

Criterios de exclusión:
Mujeres que durante la entrevista y valoración clínica se encuentren datos sospechosos de alguna enfermedad autoinmune concomitante, diabetes mellitus, hipertensión, insuficiencia cardiaca u otra causa conocida de neuropatía o proceso infeccioso en los últimos 30 días, se consideraron todos los mismos criterios de exclusión que al grupo de pacientes con fibromialgia inclusive excluyendo también a aquellas mujeres sanas que desearon participar pero fueron familiares de participantes en el grupo de fibromialgia.

Criterios de eliminación:
Pérdida de más de 10% de datos útiles del Holter y/o muestra biológica para medición de neuropéptidos séricos insuficiente o no procesable.

## 6.3. VARIABILIDAD DE LA FRECUENCIA CARDIACA: DOMINIOS DE TIEMPO

El sistema nervioso autónomo es el principal sistema adaptativo al medio ambiente de manera inmediata, refleja e involuntaria. También es el principal vínculo entre emociones o pensamientos aparentemente intangibles y respuestas biológicas absolutamente visibles u observables. Existen dos grandes tipos de sistemas de respuestas que permiten mantener el equilibrio, el sistema simpático y el sistema parasimpático. Los cuerpos de las neuronas que lo componen se encuentran ampliamente distribuidos de manera paravertebral inervando prácticamente todo el organismo con ambos sistemas. Así, el sistema simpático y parasimpático tiene, entre otras, una acción paradójica o antagónica pero complementaria en un órgano específico. Uno de los órganos más estudiado por el acceso al registro de su actividad eléctrica es el corazón. El tiempo que trascurre entre latido y latido varía de acuerdo con los requerimientos de la vida diaria, actividad que se realiza con mayor influjo de sistema simpático o parasimpático, por ejemplo, una aceleración de la frecuencia cardiaca con menor intervalo de tiempo entre latido a latido supone una mayor actividad del simpático sobre el parasimpático y viceversa. Así, el estudio de la variabilidad de la frecuencia cardiaca es una ventana accesible al estudio de las respuestas del sistema nervioso autónomo en corazón. Dentro de los métodos matemáticos para el análisis de la frecuencia cardiaca se dispone de métodos del dominio de tiempo (medidas estadísticas), métodos espectrales para análisis las frecuencias (88) y métodos no lineales con que previamente se ha estudiado a las pacientes con fibromialgia (89)(90).

Las mediciones estadísticas que comprende el dominio de tiempo parten del hecho de que el tiempo entre latido y latido no es exactamente el mismo (Figura 8 panel A) de tal manera que se pueden tener medidas de dispersión como descriptores de la variabilidad de la frecuencia cardiaca. Por lo tanto a partir del tiempo trascurrido entre latido y latido (intervalo RR o NN) se pueden medir los intervalos de duración de estos en milisegundos (Figura 8 panel B) y generar un gráfico con la representación del valor de los intervalos RR consecutivos de manera secuencial (Figura 8 panel C) y así a partir de la medición de cada intervalo RR (Figura 8 panel D) aplicando mediciones estadísticas de dispersión (Figura 8 panel E) se puede evaluar que tan variable es el tiempo de los intervalos RR y por lo tanto de la variabilidad de la frecuencia cardiaca.

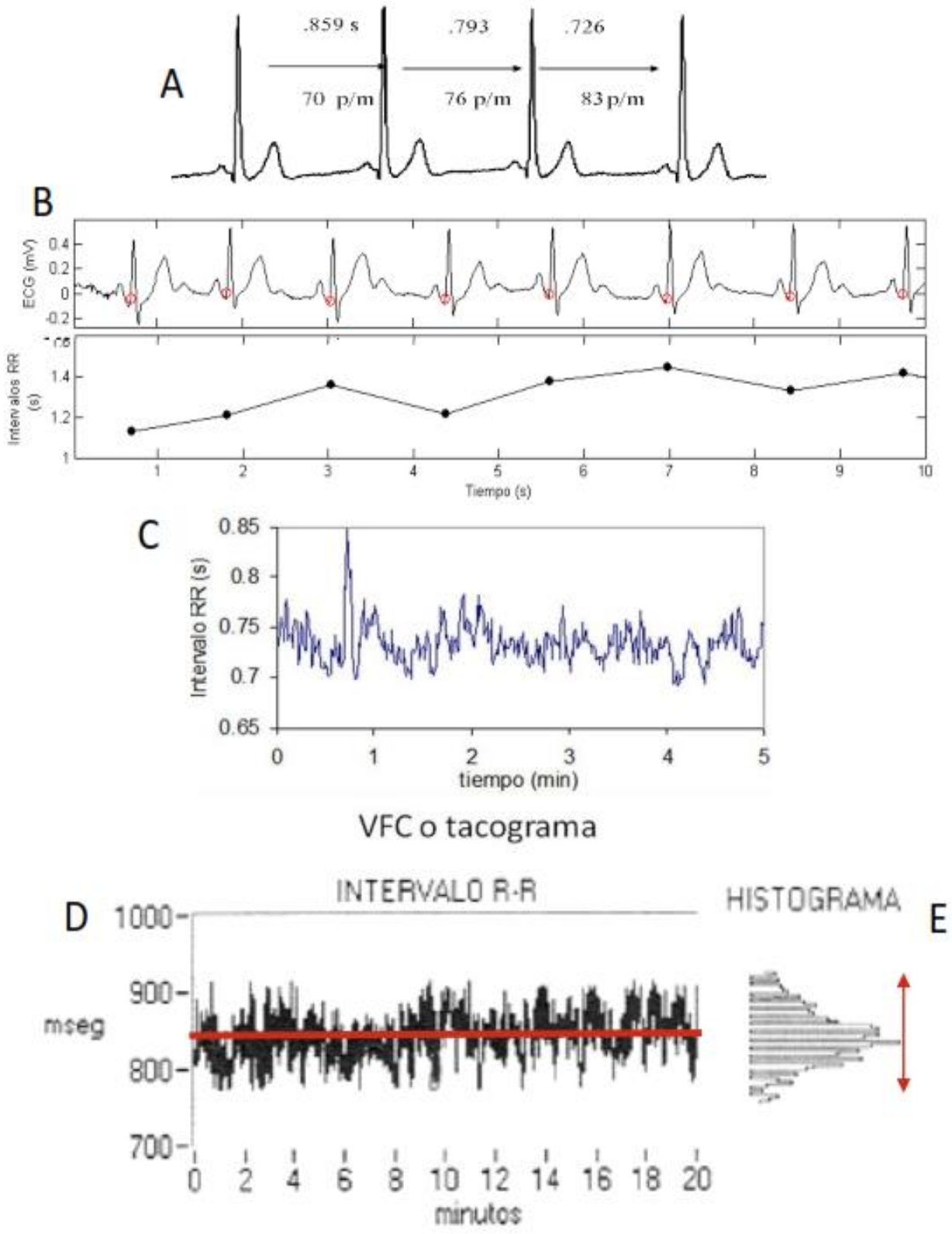
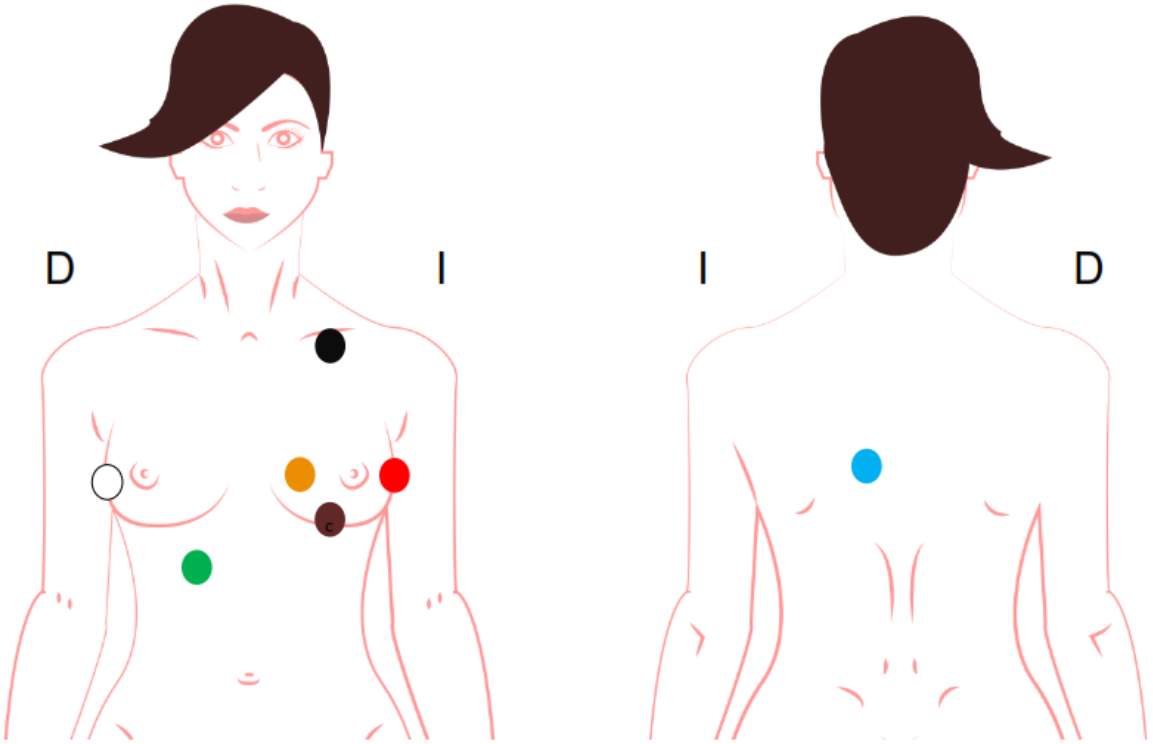



Figura 8. Fundamentos básicos de las mediciones del dominio de tiempo de la variabilidad de la frecuencia cardiaca.

Técnicamente, se requiere un holter para evaluar en un registro de 24 horas que puede dividirse posteriormente en segmentos de interés, por ejemplo, la noche o un periodo común de descanso en donde suele disminuir la predominancia del sistema nervioso simpático que nos pone en alerta y vigilia. En este estudio decidimos analizar el registro completo en 24 horas y una región de interés nocturna común a todos los registros de las 00:00 a las 6:00 am como periodo durante la noche. A todas las pacientes se les instruyó y entregó una bitácora de eventos para registrar la hora en que se acostaron y se despertaron y síntomas asociados durante su registro, se colocaron los electrodos cuidando la cómoda posición y retiro de ropa interior para procurar un descanso lo más habitual posible de acuerdo a cada participante (Figura 9).




| Electrodo | Localización de los electrodos X, Y, Z. |
|---|---|
| $Rojo_{X+}$ | En el 5° espacio intercostal e la línea media de la axila izquierda |
| $Blanco_{X-}$ | En el 5° espacio intercostal en la línea media de la axila derecha |
| $Verde_{Referencia/neutro}$ | En el borde costal en el lado derecho del abdomen |
| $Café_{Y+}$ | A 45° entre la línea media frontal y la línea media de la axila izquierda |
| $Negro_{Y-}$ | En la línea media clavicular en clavícula izquierda |
| $Naranja_{Z+}$ | En el 5° espacio intercostal en el borde izquierdo del esternón |
| $Azul_{Z-}$ | En posición simétrica contraria al naranja |

Figura 9. Esquema guía para la colocación de electrodos de holter.

Se utilizó un equipo de holter modelo DMS-307, DMS Inc. (Figura 10). La identificación y clasificación de cada latido se realizó con el software automatizado diseñado para estos registradores Holter (Premier 11, Meigaoyi Inc.). Los intervalos de tiempo de los latidos ectópicos se detectaron y sustituyeron por valores interpolados de intervalos RR normales utilizando un método de filtrado adaptativo (91). Las series de tiempo latido a latido se analizaron con un software producido y validado en el Departamento de Instrumentación del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez (92). Las lecturas fueron realizadas por un experto en análisis de la variabilidad de la frecuencia cardiaca que no conocía el estado clínico del participante.

Figura 10. Grabadora de Holter DMS-307 y Software CardiosCan Premier 11.

Se calcularon los siguientes parámetros del dominio de tiempo para cada paciente tanto para registros de 24 horas como para registros de la noche considerando el periodo de 00:00 a 6:00 horas:

1. Promedio NN: Promedio de la duración de los intervalos NN
2. SDNN: Desviación estándar de todos los intervalos NN
3. SDANN: Desviación estándar de los promedios de intervalos NN en todos los segmentos de 5 minutos del registro completo
4. SDSD: Desviación estándar de las diferencias entre intervalos NN sucesivos
5. RMSSD: Raíz cuadrada del promedio de la sumatoria de las diferencias sucesivas
6. pNN50: Porcentaje de latidos con diferencias entre intervalos NN sucesivos mayores a 50 ms

## 6.4. MICROSCOPIA CONFOCAL CORNEAL

La microscopia confocal corneal es una técnica relativamente reciente no invasiva que permite la visualización de las estructuras celulares de la córnea *in vivo*. De hecho, la córnea es el lugar del organismo con mayor densidad de fibras finas (Figura 11) por lo que es un sitio ideal para el estudio (93).

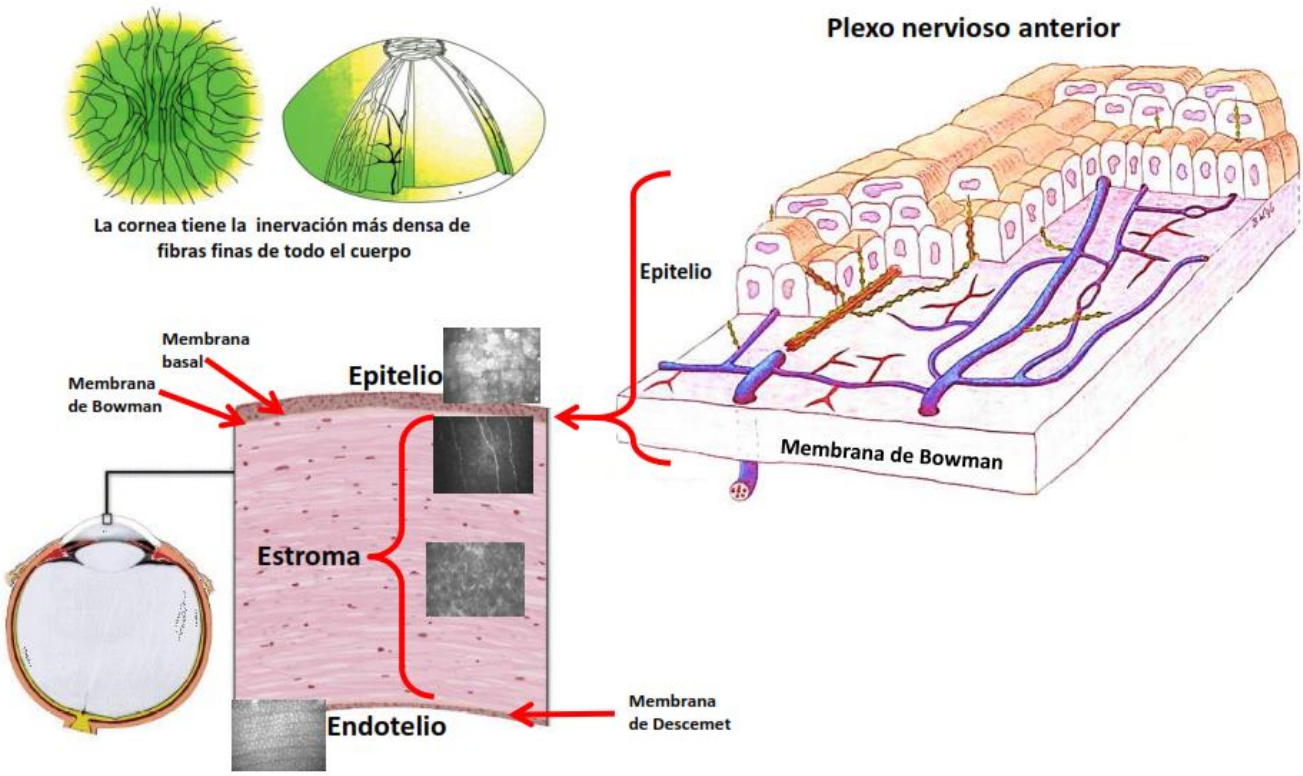



Figura 11. Esquema de la anatomía de la córnea.

El equipo más moderno de microscopia confocal corneal en el país es el CONFOCAN 4 (NidekTechnologies, Artigianato, Italia) al momento del presente estudio, se encuentra en el Servicio de Córnea del Hospital Dr Sánchez Bulnes de la Asociación para Evitar la Ceguera en México (Figura 12). Este equipo se utlizó para medir el grosor de los nervios corneales estromales y la densidad de los nervios corneales del plexo nervioso anterior de la córnea mediante microscopia confocal corneal. Con el CONFOSCAN4 con adaptador de anillo en Z (ConfoScan, FortuneTechnologies, Italia) se obtuvieron imágenes centrales escaneadas de cada córnea de cada ojo sin movimiento ocular con rastreo antero-posterior. El lente-objetivo

del microscopio se desinfectó con alcohol isopropílico al 70% antes y después de cada estudio. Una gota de gel (Viscotears, CibavisionLtd., SA) se colocó en el ojo del paciente para proporcionar un líquido de inmersión dentro del cual la lente puede moverse hacia adelante y hacia atrás. Cada estudio corneal consistió en 4 secuencias completas del espesor en 350 imágenes, que fueron digitalizadas utilizando el software NAVIS V.3.1.2. (Nidek, Multi-Instrument Diagnostic, Japón).

Figura 12. Examen oftalmológico de la córnea con equipo CONFOSCAN 4.

Cada imagen representa una sección coronal de aproximadamente 340 a 255 mm. Las imágenes escaneadas se almacenaron en la memoria de la computadora y se procesaron por un investigador cegado las condiciones clínicas de las participantes. El grosor se definió como el promedio entre la porción más estrecha y más ancha del nervio analizado. La lisura se define como la diferencia entre la porción más amplia y la porción más estrecha de nervio analizado. En el corte de imagen que corresponde a la membrana de Bowman se puede observar la red de nervios que forman el plexo nervioso corneal anterior. La densidad del plexo nervioso anterior se expresó en número de nervios por milímetro cuadrado ($mm^2$). Los puntos de corte que discriminar pacientes con fibromialgia de controles definidos en nuestro trabajo previo (25) fueron de 5.6 micras para grosor y de 87.1 nervios/$mm^2$ para densidad del plexo nervioso anterior corneal.

## 6.5. NEUROPÉTIDOS SÉRICOS

Los siguientes 7 de neuropéptidos se midieron en suero utilizando el kit magnético de neuropéptidos humanos 7-PlexMilliplex MAP: hormona estimulante de melanocitos alfa (alfa-MSH), beta-endorfina, cortisol, neurotensina, orexina, oxitocina y sustancia P. El ensayo multiplex se llevó a cabo en una placa de 96 pocillos y analizados en un dispositivo MagPix (Figura 13). Adquisición y cuantificación: las muestras de plasma se incubaron con perlas magnéticas fluorescentes conjugadas con un anticuerpo específico para cada analito. Las perlas se lavaron e incubaron con un cóctel de anticuerpos fluorescentes solubles contra cada analito (microesferas MagPlex-C) y se cargaron en el instrumento, donde se inmovilizaron para su cuantificación. Posteriormente, se iluminan secuencialmente con dos diodos emisores de luz (LED). Al detectar la fluorescencia usando un detector fotográfico de dispositivo de carga acoplada (CCD), las perlas pueden identificarse y cuantificarse los analitos (Figura 13) (Millilex Map, Luminex Corporation. Austin, Texas, EE. UU.). Las instrucciones del fabricante se encuentran en el Anexo 1.

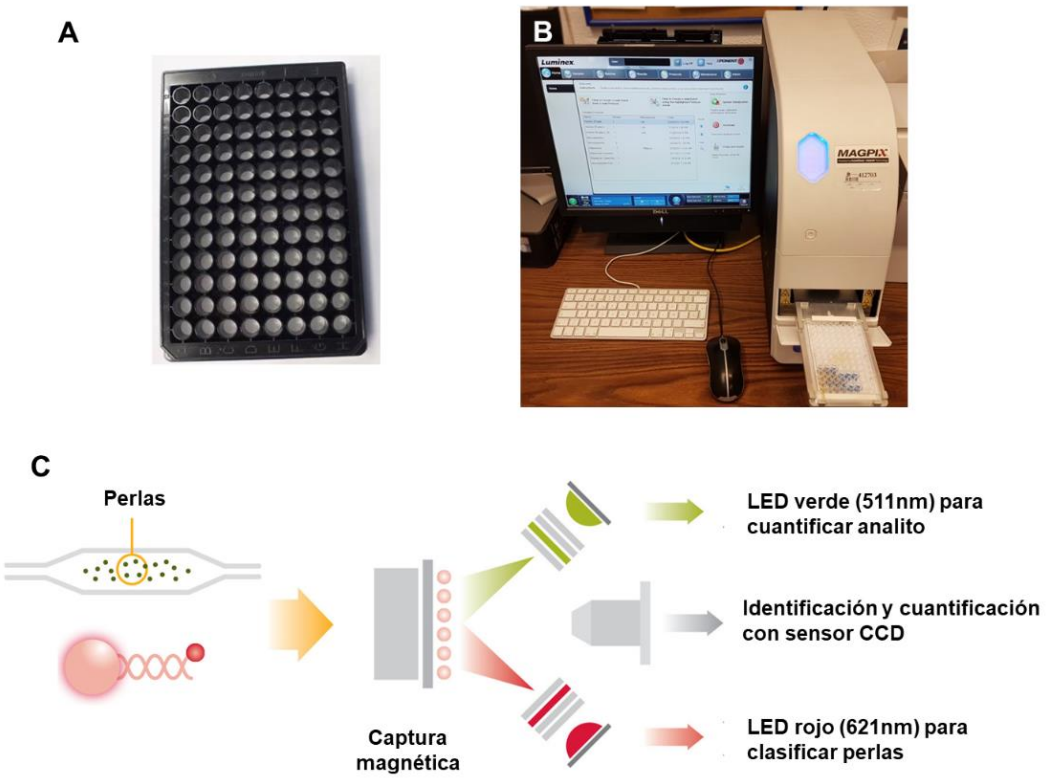



Figura 13. Ensayo Multiplex. El ensayo se llevó a cabo en una placa de 96 pozos (A), se analizó en un equipo MagPix (B) con la microesferas MagPlex-C para adquisición y cuantificación (C).

## 6.6. TAMAÑO MUESTRAL

Tomando en cuenta los estudios previos de variabilidad de la frecuencia cardiaca en nuestra institución (27) en el cual la diferencia entre el promedio de la desviación estándar entre los intervalos R-R calculada por 5 minutos (SDANN) fue de 26ms, la desviación estándar de SDANN del grupo de fibromialgia fue de 37ms, y en el grupo control de 31ms, considerando un error alfa de 0.05 ($Z_\alpha$=1.96), un error beta de 0.2 ($Z_\beta$=0.842) con un poder estadístico del 80% bilateral, el número de sujetos por grupo es de 22 utilizando la fórmula para comparación de dos medias (94).

Tomando en cuenta los estudios previos de microscopia confocal (25) en la cual la diferencia en el grosor entre los nervios de controles y pacientes con fibromialgia es de 1.1 micras, la desviación estándar del grosor de los nervios del grupo de fibromialgia fue de 1 micra, considerando un error alfa de 0.01 ($Z_\alpha$=2.576), un error beta de 0.1 ($Z_\beta$=1.282) con un poder estadístico del 90% bilateral, el número de sujetos por grupo es de 24.6 utilizando la fórmula para comparación de dos medias.

Para el caso de la densidad del plexo nervioso anterior corneal la diferencia en el número de nervios por $mm^2$ es de 22 entre pacientes y controles, la desviación estándar del grupo de fibromialgia es de 29 nervios por mm2 y tomando en cuenta un error alfa de 0.01 ($Z_\alpha$=2.576), un error beta de 0.2 ($Z_\beta$=0.842) con un poder estadístico del 80% bilateral, el número de sujetos por grupo es de 40.5 utilizando la fórmula para comparación de dos medias.

Considerando la fórmula para cálculo de tamaño de muestra para estimar correlaciones, con un error alfa de 0.05 ($Z_\alpha$=1.96) y error beta de 0.20 ($Z_\beta$=0.842) con un poder del 80% se necesitan 46 pacientes para detectar al menos correlaciones de Pearson de 0.40.

## 6.7. VARIABLES

### 6.7.1. Variable independiente:

Tabla 1. Variable independiente

| Variable | Tipo | | Definición operativa | Unidades/Valores |
|---|---|---|---|---|
| Grupo | Cualitativa | Nominal | Grupo al que pertenece cada paciente | 1. FM = Fibromialgia<br>2. C = Control sana |

### 6.7.2. Variables dependientes:

Tabla 2. Variables dependientes.

| Variable | Tipo | | Definición operativa | Unidades/Valores |
|---|---|---|---|---|
| Edad | Cuantitativa | Escala | Edad del sujeto en años cumplidos | Años |
| Peso | Cuantitativa | Escala | Peso ponderal del sujeto | Kilogramos |
| Talla | Cuantitativa | Escala | Estatura del sujeto | Metros |
| Antecedente de FM | Cuantitativa | Nominal categórica | Antecedente heredofamiliar de fibromialgia | 1. Si<br>2. No |
| Fecha de Inicio de los síntomas | Cuantitativa | Escala | Fecha en que la paciente identifica que los síntomas iniciaron (Sólo aplica FM) | Fecha (dd.MMM.aaaa) ó al menos el año de fecha |
| Fecha de Diagnóstico | Cuantitativa | Escala | Fecha en que se realizó el diagnóstico formal (Sólo aplica FM) | Fecha (dd.MMM.aaaa) ó al menos el año de fecha |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Dolor generalizado | Cuantitativa | Nominal categórica | Dolor generalizado de acuerdo a criterios ACR | 1. Si<br>2. No |
| Intensidad del dolor generalizado | Cuantitativa | Escala | Evaluación global de la intensidad de dolor por el paciente en escala visual análoga | 0 -10 |
| Puntos dolorosos | Cuantitativa | Escala | Puntos dolorosos de fibromialgia a la exploración física con fuerza de 4kg | 0 -18 |
| WPI | Cuantitativa | Escala | Índice de dolor generalizado de acuerdo a los criterios ACR | 0 -19 |
| SSS | Cuantitativa | Escala | Escala de gravedad de los síntomas de acuerdo a los criterios ACR | 0 – 12 |
| PSD | Cuantitativa | Escala | Escala de distrés polisintomático de los criterios ACR | 0 – 31 |
| FIQR | Cuantitativa | Escala | Cuestionario Revisado de Impacto de la Fibromialgia | 0 – 100 |
| COMPASS-31 | Cuantitativa | Escala | Puntuación compuesta de síntomas autónomos de 31 preguntas (COMPosite Autonomic Symptom Score-31) | 0 – 100 |
| S-LANSS | Cuantitativa | Escala | Escala de dolor neuropático (Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs pain scale) | 0 – 24 |
| SFSS | Cuantitativa | Escala | One page Small-fiber Symptom Survey | 0 – 88 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Promedio NN | Cuantitativa | Escala | Promedio de la duración de los intervalos NN (R-R de cada latido) | |
| SDNN | Cuantitativa | Escala | Desviación estándar de todos los intervalos NN | Milisegundos |
| SDANN | Cuantitativa | Escala | Desviación estándar de los promedios de intervalos NN en todos los segmentos de 5 minutos del registro completo | Milisegundos |
| SDSD | Cuantitativa | Escala | Desviación estándar de las diferencias entre intervalos NN sucesivos | Milisegundos |
| RMSSD | Cuantitativa | Escala | Raíz cuadrada del promedio de la sumatoria de las diferencias sucesivas | Milisegundos |
| pNN50 | Cuantitativa | Escala | Porcentaje de latidos con diferencias entre intervalos NN sucesivos mayores a 50 ms | Milisegundos |
| Grosor de nervio corneal | Cuantitativa | Escala | Promedio de ambos ojos de la medición individual de entre 3 y 17 nervios corneales medidos en cada ojo. Para calcularlo de manera individual de cada nervio, se calcula como la suma del grosor de la región más estrecha y la región más gruesa de cada nervio entre dos. | Micrómetros |
| Densidad de plexo nervioso corneal | Cuantitativa | Escala | Cantidad de nervios por unidad de superficie analizada | Número de nervios por $mm^2$ de superficie |
| Neuropétidos séricos | Cuantitativa | Escala | Niveles séricos detectados por Milliplex:<br>1. Hormona estimulante de melanocitos alfa<br>2. Beta-endorfina<br>3. Cortisol<br>4. Neurotensina<br>5. Orexina<br>6. Oxitocina<br>7. Sustancia P | Picolitros |

### 6.7.3. VARIABLES DE CONFUSIÓN

Tabla 3. Variables de confusión

| Variable | Tipo | | Definición operativa y estrategia de control | Unidades/Valores |
|---|---|---|---|---|
| Trastorno psiquiátrico grave | Cualitativa | Nominal | Calificaciones superiores a 15 puntos de ansiedad y/o depresión de HADS (Hospital Anxiety and Depression Scale). Calificaciones superiores a 20 en PQH-9 (Patient Health Questionnaire-9) y superiores a 15 en GAD-7 (Generalized Anxiety Disorder-7) | 0. Ausente<br>1. Leve<br>2. Moderada<br>3.Grave |
| Estado hormonal no apto para holter | Cualitativa | Nominal | Periodo menstrual concomitante en la prueba de holter para registro de variabilidad de la frecuencia cardiaca. Se reprogramará la cita 7 días después de la fecha de ultima menstruación o bien 7 días antes de la fecha próxima proyectada. | 1. Presente<br>2. Ausente |
| Actividad física | Cualitativa | Nominal | Actividad física documentada con IPAQ (International Physical Activity Questionnaire). Sólo para descripción de esta característica entre los participantes | 1. Baja<br>2. Moderada<br>3. Alta |

### 6.8. PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se expresan en medias y desviaciones estándar para variables cuantitativas y proporciones para variables cualitativas. El análisis de normalidad se realizó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov con corrección de Lilliefors o Shapiro-Wilks. Las comparaciones de variables numéricas con distribución normal se realizaron con la prueba T de Student o en caso diferente con la prueba U de Mann-Whitney. Las comparaciones de proporciones entre grupos se realizaron con la prueba de Chi-cuadrada, o bien, exacta de Fisher. Para las correlaciones se utilizó el método de Pearson o Spearman de acuerdo a la distribución de los datos. Se consideró un valor de *p* menor a 0.05 como estadísticamente significativo. Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 23.0 (StatSoft, Inc) para el análisis estadístico y el programa G*Power versión 3.1.9.2 para calcular pos hoc el poder estadístico de correlaciones seleccionadas.

## 6.9. ESTRATEGIAS DE RECLUTAMIENTO Y OPERACIÓN DEL ESTUDIO

Se decidió invitar a una fase de escrutinio a todas las pacientes que acudieran a valoración al Departamento de Reumatología del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, se dio preferencia a pacientes con diagnóstico de fibromialgia realizado por médicos internistas y reumatólogos en caso de especialistas diferentes, a las pacientes se les ofrecía una cita de cortesía para confirmar su diagnóstico y establecer un perfil clínico de alta probabilidad de fibromialgia (54). La secuencia de procedimientos se ilustra en la Figura 14. Se diseñaron formatos para envío al Servicio de Cornea del Hospital Dr. Sánchez Bulnes de la Asociación para evitar la Ceguera en México y para Holter en nuestro Instituto. Estos formatos se encuentran en el Anexo 2.

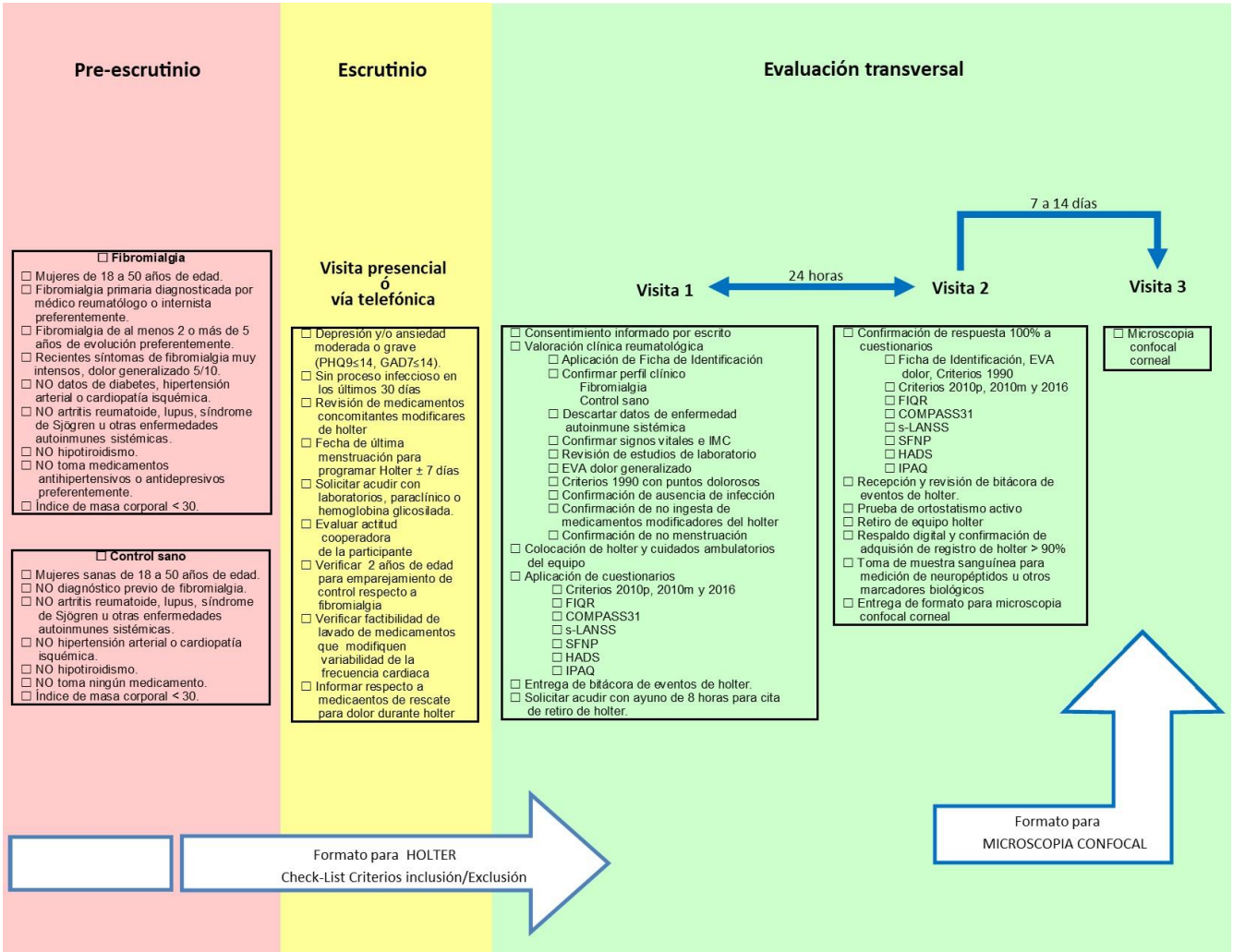



Figura 14. Secuencia operativa de procedimientos.

## 6.10. FORMATOS PARA RECOLECCIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y SÍNTOMAS.

Los siguientes formatos fueron desarrollados para la recolección de información como documentos fuente durante la operación de este protocolo, la mayoría de ellos cuentas con versiones validadas. Estos y otros formatos de utilidad operativa se encuentran el anexo 2.

*Ficha de identificación datos clínicos y procedimientos*

Contiene los campos para información sistematizada de los participantes respecto a número de folio de inclusión en el estudio, generales del participante, y datos clínicos de interés en fibromialgia, este formato sólo estaba disponible para el evaluador reumatólogo clínico en el departamento de reumatología y los participantes se enviaron de manera cegada respecto al estado clínico del grupo al que pertenecían para los procedimientos de holter y microscopia confocal corneal.

*Criterios de clasificación de fibromialgia de 1990*

Los criterios de clasificación de fibromialgia de 1990 son respaldados por el Colegio Americano de Reumatologia (ACR siglas en inglés de American College of Rheumatology). Estos criterios requieren la presencia de dolor en 11 de 18 puntos de fibromialgia y la presencia de dolor generalizado (50).

*Criterios preliminares de diagnóstico de fibromialgia de 2010*

En 2010 se publicaron los criterios preliminares de fibromialgia del ACR. A partir de aquí ya no son necesarios los puntos dolorosos y se desarrolla el índice de dolor generalizado (WPI siglas en inglés de Widespread Pain Index) que consta de 19 regiones en el cuerpo que el paciente puede identificar y de la Escala de gravedad de los síntomas (SSS siglas en inglés de Symptom Severity Scale) en donde se asigna valor de 0 a 3 de acuerdo a la gravedad de los síntomas de fatiga, calidad de sueño y alteraciones cognitivas y también se consideran otros 40 síntomas que de acuerdo al número de ellos presentes en la última semana se adicionan a la fatiga, calidad de sueño y alteraciones cognitivas para conformar la escala de gravedad de los síntomas. El puntaje máximo es de 12. De acuerdo al índice de dolor generalizado y la escala de gravedad de los síntomas mediante 2 reglas de calificación se establece si se cumple de dos formas los criterios, el valor mínimo del índice de dolor generalizado es de 3 (43).

*Criterios modificados de diagnóstico de fibromialgia de 2011*

En el 2011 se publica una versión modificada de los criterios de 2010, estos criterios publicados en 2011 en lugar de evaluar 40 síntomas en la última semana sólo evalúan 3 síntomas cefalea, dolor abdominal y depresión pero durante los últimos 6 meses (51).

*Criterios de diagnóstico de fibromialgia de 2016*

En 2016 se publica una nueva versión de estos criterios en donde cambia la regla de clasificación en donde el valor mínimo del índice de dolor generalizado es  y se especifica que hay 5 regiones que incluyen las 19 partes del cuerpo previamente descritas, pero para ser generalizado deben de señalarse algunas de esas 19 partes en al menos 3 de esas 5 regiones (52). Si se suman el índice de dolor generalizado y la escala de gravedad de los síntomas se obtiene la Escala de Distrés Polisintomático (PDS siglas en inglés de Polysymptomatic Distress Scale), a esta sumatoria también se le llama escala de síntomas de fibromialgia (FS siglas en inglés Symptom scale).

*Cuestionario Revisado de Impacto de la Fibromialgia (FIQR)*

Es la versión más reciente tiene valores de 0 a 100 que indican el impacto de los síntomas de fibromialgia, esta herramienta clinimétrica consta de 3 dominios, el primero corresponde a funcionalidad y tiene el 30% de peso de la calificación total, el segundo es  el estado general que pondera el 20% de la calificación y el último evalúa 10 síntomas de fibromialgia (dolor, energía, rigidez, calidad del sueño, depresión, problemas de memoria, ansiedad, dolor al tacto, problemas de equilibrio y grado de sensibilidad al ruido intenso, la luz brillante, los olores y frío) que corresponde al 50% restante de la calificación total (53).

*Composite Autonomic Symptom Score de 31 preguntas (COMPASS-31)*

Este cuestionario evalúa síntomas de disautonomia con 31 preguntas y una escala de 0 a 100, repartidos en 5 dominios: intolerancia ortostática, vasomotor, secretor, gastrointestinal, vejiga y pupilar. En general requiere un grupo control para determinar su alteración respecto a una población de grupo control, el algoritmo de calificación en mucho más sencillo (95) que su versión antecesora de 169 preguntas (96).

*Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs pain scale (S-LANSS)*

Esta escala describe la intensidad de los síntomas de dolor neuropático con valores de 0 a 24 en 7 preguntas de autoreporte y un esquema corporal de dolor. Valores superiores a 12 indican presencia de dolor con características de dolor tipo neuropático (97).

*One page Small-fiber Symptom Survey (SFSS)*

La biopsia de piel para determinar neuropatía de fibras finas no se realiza en nuestro país debido a que se requieren tinciones muy estandarizadas para tipificar a la población considerada estándar de referencia control sano, y por lo tanto los puntos de corte de alteración. El envío de biopsias de piel a sitios extranjeros para su procesamiento no fue económica ni operativamente factible. Por ello, no se realizaron biopsias de piel en este estudio. Sin embargo, se utilizó como exploración la aplicación de una encuesta de síntomas de neuropatía de fibras finas que ha desarrollado y validado el grupo líder en el estudio de la biopsia para neuropatía de fibras finas. La versión preliminar consta de 32 preguntas y una escala de Liker de dolor como última pregunta número 33, la versión final contiene 22 preguntas y la escala de Liker. Ambas versiones de 22 y 32 reactivos que se califican en una escala de Liker de 0 a 4 de acuerdo a qué tan afectado se refiere el participante en la última semana: 0 es nada, 1 es un poco, 2 es más o menos, 3 es mucho y 4 demasiado. La última pregunta corresponde a una la escala de dolor de 0 a 10. Algunas preguntas se agrupan en 5 dominios: gastrointestinal, somatomotor, sitomatología miscelánea, microvascular y urológico. En la mayoría de los estudios se utiliza grupo control para evaluar la comparación de su magnitud respecto al grupo de estudio. Esta herramienta clinimétrica ha sido validada con biopsia de piel por el grupo de estudio internacional (98) y es capaz de discriminar con la presencia de parestesias a los pacientes con fibromialgia con neuropatía de fibra fina demostrada por biopsia de piel (99).

*Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9)*

El PHQ-9 es una herramienta que de manera breve evalúa la presencia de depresión, que tiene valores de 0 a 27. Cada pregunta tiene valores de 0 a 3 de acuerdo a la frecuencia con que se han presentado en las últimas 2 semanas: nunca, varios días, más de la mitad de los

días y casi todos los días. Los puntajes PHQ-9 de 5, 10, 15 y 20 representan depresión leve, moderada, moderadamente grave y grave, respectivamente (100).

*Generalized Anxiety Disorder-7 (GAD-7)*

El GAD-7 es un instrumento para medir los síntomas de ansiedad con valores de 0 a 21 puntos totales. La asignación de valores a las preguntas es similar al PHQ9 de 0 a 3 de acuerdo a la frecuencia de presentación en las últimas 2 semanas. Los puntajes de 5, 10 y 15 corresponden a ansiedad leve, moderada y grave, respectivamente (101).

*Escala de ansiedad y depresión hospitalaria (HADS)*

La escala de ansiedad y depresión hospitalaria consta de 14 preguntas de opción múltiple que alterna síntomas de ansiedad y depresión, 7 corresponden a depresión y 7 a ansiedad. Los puntajes de 8 a 10 corresponden a casos dudosos pero calificaciones superiores a 11 sugieren la condición de caso que amerita evaluación psicológica (102)(103).

*Cuestionario de actividad física internacional (IPAQ)*

Es cuestionario internacional de actividad física pondera la intensidad de actividades y el tiempo que se realizan para indicar si corresponde a actividad leve, moderada o alta en población adulta (104)(105).

*Cuestionario de calidad de vida EuroQol EQ-5D*

El EuroQol EQ-5D es una encuesta de calidad de vida ampliamente utilizada y validada en múltiples idiomas. Este instrumento evalúa la calidad de vida al momento de su aplicación. Consta de 5 preguntas respecto a la capacidad de movilidad, actividades de autocuidado, actividades usuales, dolor y ansiedad o depresión en una estructura sencilla, así como, un termómetro vertical de salud. Se puede reportar de acuerdo al factor de calificación de cada respuesta en cada pregunta, en porcentajes de cada pregunta, o bien, de acuerdo al termómetro de salud (106)(107).

*Otros formatos*

Se realizaron múltiples formatos de reporte de caso de acuerdo al procedimiento como aquellos para recolección de información, o bien, para envío interinstitucional (anexo 2).

# 7. ASPECTOS ÉTICOS Y REGULATORIOS

Los lentes frontales del microscopio confocal se desinfectan con alcohol isopropílico al 70% antes y después de su uso. Se utiliza una gota de gel (Viscotears, Cibavision Ltd. SA.) en cada ojo para proveer un medio de inmersión. Estas maniobras oftalmológicas y la venopunción periférica para obtener sangre total constituyen un riesgo mínimo.

La colocación del Holter para registro de la variabilidad de la frecuencia cardiaca en 24 horas es un procedimiento con riesgo menor al mínimo.

El proyecto fue aprobado por el Comité de Investigación y el Comité de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez el 28 de marzo y 4 de abril de 2017, respectivamente. Notificaciones posteriores se hicieron al comité de ética debido a ajustes en los objetivos secundarios del estudio no incluidos en la presente tesis, debido a actualizaciones de las versiones de los formatos de documento fuente, debido a una nueva versión del formato de consentimiento informado que hace hincapié en que se requiere un periodo de lavado de ciertos medicamentos que podrían afectar la función del sistema nervioso autónomo e influir en los resultados del holter, debido a que no debe haber medicamentos de rescate para dolor durante el holter de 24 horas y debido a que se informa que la recolección de muestra de sangre que puede ser donada para medir otros marcadores séricos asociados a dolor. Los documentos regulatorios se encuentran en el anexo 3.

Todas las participantes firmaron su consentimiento informado por escrito previo a cualquier maniobra, se firmaron después de dar lectura al documento y despejar cualquier duda, en presencia de dos testigos imparciales, sin ningún tipo de coerción, por duplicado y se entregó un original a la paciente para su archivo personal.

Los datos personales fueron tratados de acuerdo con la Ley de datos personales vigente y con confidencialidad del expediente clínico por la normatividad local.

# 8. RESULTADOS

## 8.1. Participantes incluidas

Una vez aprobado el protocolo con carta de aceptación del 17 de abril de 2017, a partir del 31 de mayo de 2017 al se realizaron paulatinamente más de 502 invitaciones telefónicas para realizar pre-escrutinio de potenciales sujetos de estudio ya que sólo se incluyeron pacientes con fibromialgia primaria con dolor moderado a grave, en un rango de edad de 18 a 50 años de edad, sin enfermedades autoinmunes concomitantes, sin toxicomanías, no cirugía de córnea, así como, se evitaron específicamente condiciones que podrían alterar la variabilidad de la frecuencia cardiaca. En este grupo de pacientes con fibromialgia se consideraron también criterios de exclusión obesidad, diabetes mellitus, hipertensión arterial, cardiopatía isquémica, arritmias cardiacas, uso de medicamentos que podrían influir en la variabilidad de la frecuencia cardiaca, y variaciones hormonales, entre otros.

Dos estrategias se implementaron para controlar este tipo de medicamentos y el estado hormonal de las pacientes. La primera consistió realizar un periodo de lavado de medicamentos con una duración de 5 vidas medias de los medicamentos, siempre y cuando la paciente otorgara su consentimiento informado por escrito y estuviera estable el estado clínico de la enfermedad. Los medicamentos lavados generalmente fueron indicados para dolor crónico, ansiedad y/o depresión leve a moderada, y en algunos casos, la interrupción temporal del tratamiento lo autorizaba su médico psiquiatra correspondiente. Medicamentos como antihipertensivos, beta bloqueadores, anti-arrítmicos o cardiotónicos, cuyo riesgo de daño al retirarse es muy alto se consideraron como criterios de exclusión. Específicamente, en el caso de venlafaxina, medicamento común en fibromialgia, se consideró también como criterio de exclusión para no comprometer la seguridad de este tipo de pacientes en el estudio dado que su retiro debe ser gradual y paulatino. La lista de medicamentos y el tiempo de lavado que ha sido necesario al momento se encuentra en el anexo 4. Para controlar la influencia de la variación de los ciclos menstruales en las participantes, se realizó la colocación de Holter 7 días antes o después de su periodo menstrual.

Se recurrió a dos fuentes de pacientes como estrategia inicial de reclutamiento. La primera estrategia fue la invitación de pacientes durante las sesiones informativas del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, y la segunda, en la asociación de pacientes llamada Cadena de Ayuda Contra la Fibromialgia S.C. En ambos casos también se aplicó el formato de pre-escrutinio para revisar las características de las pacientes (anexo2).

De las 502 participantes en pre-escrutinio, 403 (80.3%) fueron candidatas potenciales al grupo de fibromialgia y 99 (19.7%) al grupo control. Así, de las 403 pacientes en escrutinio, incluyeron 46. Se excluyeron 357 pacientes del grupo de fibromialgia por múltiples criterios de exclusión (Figura 15). Se excluyeron casos con ansiedad y depresión grave al momento de la inclusión con diagnóstico y tratamiento ya conocido que podría potencialmente influir en la variabilidad de la frecuencia cardiaca y el suspender medicamentos podría comprometer la seguridad de la paciente. De las 46 participantes con fibromialgia, sólo 22 pacientes de las incluidas tuvieron lectura de holter completamente valido (sin pérdida de más del 10% de los datos o de interferencia), 28 pacientes con fibromialgia tuvieron mediciones validadas en el estudio de microscopia confocal corneal y 23 fueron seleccionadas para la medición de neuropéptidos con el fin de tener la posibilidad de incluir controles sanos de referencia en este último análisis. La tasa de reclutamiento alcanzada fue de 1 a 2 participantes por semana, mucho menor a lo proyectado nuestras condiciones operativas (4 a 6 pacientes por semana). El 5 de diciembre de 2019 se incluyó a la última participante, pero se continuó el proceso de pre-escrutinio con corte de información y reclutamiento al 13 de diciembre de 2019.

Un hallazgo interesante al estudiar la correlación de síntomas de neuropatía de fibra fina con la densidad de nervios del plexo corneal anterior, teniendo en cuenta la presencia o no de síntomas de depresión o ansiedad grave se describe como un resultado del objetivo secundario más adelante. En este sub-análisis se incluyeron 28 pacientes de las cuales 15 cumplían con ansiedad y/o depresión graves de acuerdo al puntaje del cuestionario de depresión PHQ9, cuestionario de ansiedad GAD7 y/o la escala hospitalaria de depresión y ansiedad HADS (108). Después de esa fecha las condiciones operativas posteriores no permitieron continuar con el reclutamiento de pacientes y después durante la pandemia de Covid-19 mucho menos fue factible la realización de estudios de holter o microscopia confocal corneal. Más adelante durante julio y agosto de 2021 se realizó seguimiento telefónico de los pacientes incluidos inclusos desde la fase de pre-escrutinio. El análisis de las escalas

clinimétricas antes y después del confinamiento por Covid19 contribuyó a una publicación de los hallazgos incidentales de dicho seguimiento de síntomas (109).

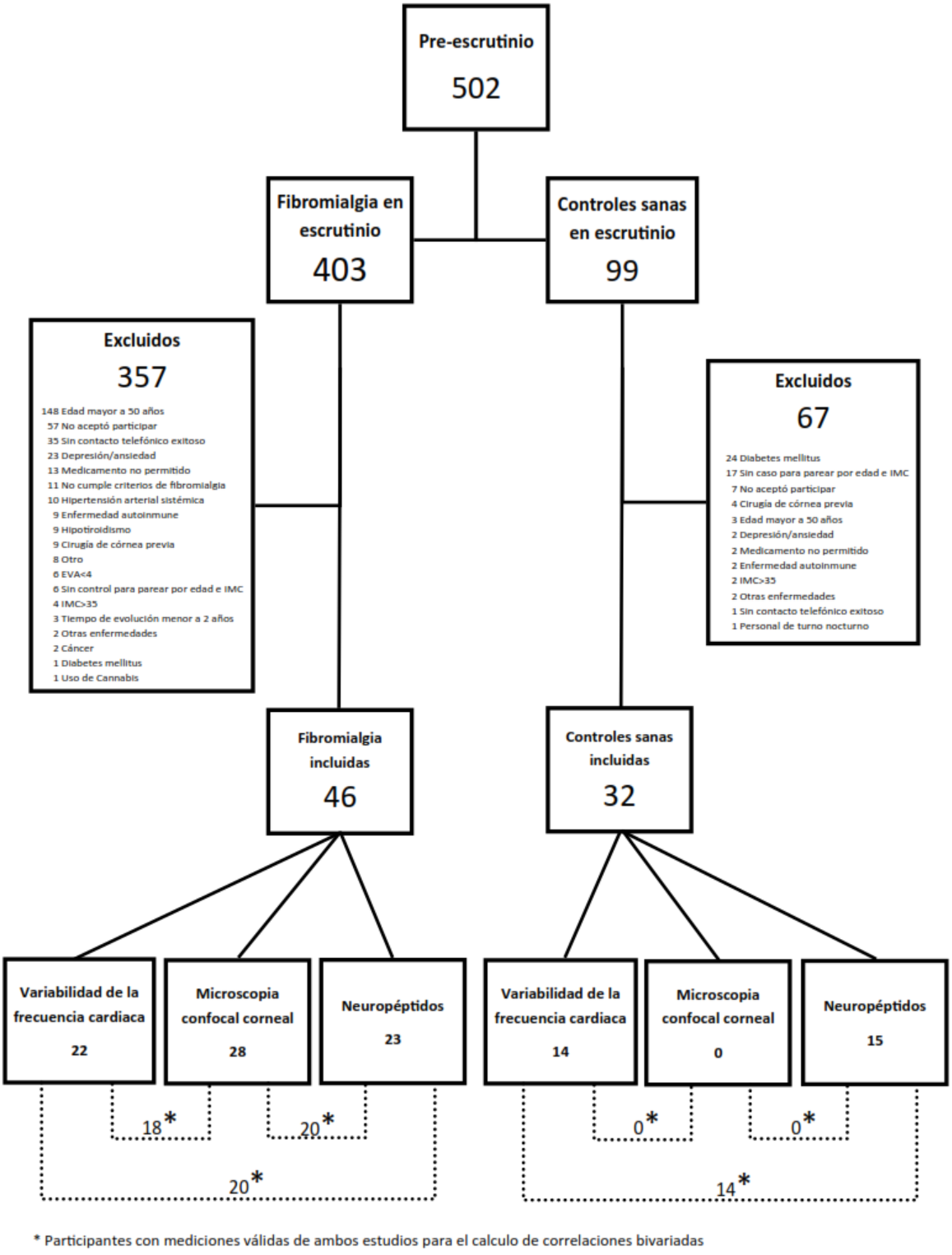



Figura 15. Flujograma de pacientes.

Las participantes del grupo control fueron pareadas por edad ± 2 años de edad y por ± 2 unidades de índice de masa corporal, por supuesto, no familiares de pacientes de grupo con fibromialgia. Esta última condición de antecedente familiar fue la principal limitante para llegar a la meta de reclutamiento del grupo control. Se evaluaron a 99 mujeres sanas candidatas potenciales para el grupo control. Se incluyeron a 32 mujeres sanas con condiciones de edad e índice de masa corporal para cumplir el emparejamiento con las participantes del grupo con fibromialgia. Otras 17 participantes controles quedaron en lista de espera de participante con fibromialgia por parear. De las 32 participantes control, 14 tenían un estudio de Holter completo valido. Las 32 participantes control tenían disponible muestra de sangre para medición de neuropétidos, pero se seleccionaron sólo 15 participantes controles conservando el emparejamiento con las del grupo de 23 mujeres con fibromialgia dado que el presupuesto asignado para la medición de neuropéptidos contempló sólo una placa de 96 pocillos. Para conservar la medición por duplicado de cada participante sólo pudieron incluir 15 controles, 23 pacientes con fibromialgia y los reactivos estándares de referencia. Operativamente no fue recuperable ninguna medición de microscopia confocal corneal del grupo control.

## 8.2. RESULTADOS DEL OBJETIVO PRIMARIO

*Determinar la correlación entre la morfología de los nervios corneales y los parámetros de variabilidad de la frecuencia cardiaca en las pacientes con fibromialgia*

Para la establecer la asociación entre los parámetros de la variabilidad de la frecuencia cardiaca y la morfología de los nervios corneales se estimó una correlación bivariada intra-grupo en las participantes con fibromialgia. En este grupo a pesar de tener 22 participantes con mediciones de la variabilidad de la frecuencia cardiaca del dominio de tiempo y 28 con mediciones de grosor de nervios y densidad de plexo nervioso en la microscopia confocal corneal, sólo 18 tuvieron de manera concomitante ambas mediciones. Las correlaciones con el método de Spearman se muestran en la Tabla 4 y Tabla 5.

Tabla 4. Resultados de correlaciones entre el grosor del nervio estromal corneal y dominios de tiempo de la variabilidad de la frecuencia cardiaca en pacientes con fibromialgia (n=18)

| | **Variabilidad de la frecuencia cardiaca** | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Microscopía confocal corneal** | **Ventana de tiempo** | **Dominios de tiempo** | **Rho de Spearman** | ***P*** |
| Grosor | 24 horas | Promedio NN | 0.285 | 0.252 |
| Grosor | | SDNN | 0.140 | 0.578 |
| Grosor | | SDANN | 0.091 | 0.720 |
| Grosor | | SDSD | 0.070 | 0.782 |
| Grosor | | pNN50 | 0.118 | 0.642 |
| Grosor | | RMSSD | 0.070 | 0.782 |
| Grosor | Noche | Promedio NN | 0.269 | 0.297 |
| Grosor | | SDNN | 0.155 | 0.554 |
| Grosor | | SDANN | 0.044 | 0.866 |
| Grosor | | SDSD | 0.139 | 0.596 |
| Grosor | | pNN50 | 0.132 | 0.612 |
| Grosor | | RMSSD | 0.139 | 0.596 |

Tabla 5. Resultados de correlaciones entre la densidad del plexo nervioso anterior corneal y los dominios de tiempo de la variabilidad de la frecuencia cardiaca en pacientes con fibromialgia (n=18)

| Microscopía confocal corneal | Variabilidad de la frecuencia cardiaca | | Rho de Spearman | *P* |
|---|---|---|---|---|
| | Ventana de tiempo | Dominios de tiempo | | |
| Densidad | 24 horas | Promedio NN | 0.077 | 0.760 |
| Densidad | | SDNN | 0.249 | 0.320 |
| Densidad | | SDANN | 0.240 | 0.336 |
| Densidad | | SDSD | 0.018 | 0.945 |
| Densidad | | pNN50 | -0.013 | 0.958 |
| Densidad | | RMSSD | 0.018 | 0.945 |
| Densidad | Noche | Promedio NN | 0.123 | 0.639 |
| Densidad | | SDNN | -0.034 | 0.896 |
| Densidad | | SDANN | -0.108 | 0.680 |
| Densidad | | SDSD | -0.029 | 0.911 |
| Densidad | | pNN50 | -0.037 | 0.889 |
| Densidad | | RMSSD | -0.029 | 0.911 |

Ninguna de las correlaciones calculadas para este fin fue significativa. De acuerdo con la estimación del poder estadístico pos hoc específico para este análisis de las correlaciones que se pueden detectar con nuestros 18 datos, deberían ser mayores a 0.525 para al menos ser detectadas de acuerdo a G*Power (anexo 5). Así, es posible que no se hayan detectado correlaciones verdaderas de menor magnitud por la falta de potencia por la n.

El 15 de octubre de 2018 el evaluador experto del Servicio de Córnea del Hospital Sánchez Bulnes realizó la medición valida de grosor de nervios corneales, su lisura y densidad de plexo nervioso corneal anterior de 28 pacientes con fibromialgia. En este estudio no fue posible realizar el cálculo de estas correlaciones para las participantes control ya que no tuvieron mediciones validadas de la microscopia confocal corneal. Sin embargo, nuestro grupo de trabajo ya había publicado previamente valores de referencia iniciales aunque en un grupo pequeño de comparación, 17 pacientes con fibromialgia vs 17 mujeres sanas controles, proponiendo así, puntos de corte de grosor de nervio corneal estromal y densidad de plexo

nervioso anterior corneal que permite discriminar entre controles y pacientes con fibromialgia (25).

Tabla 6. Mediciones de microscopia confocal corneal de las pacientes con fibromialgia (n=28).

| Número consecutivo | Folio | Grosor de nervio corneal (micras) | Índice de lisura de nervio corneal | Densidad del plexo nervioso anterior corneal (nervios/mm2) | Grosor de nervio corneal (punto de corte 5.6 micras) | Densidad del plexo nervioso anterior (punto de corte 87.1nervios/mm2) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | LHR 001 | 4.28 | 2.65 | 83.10 | Delgado | disminuida |
| 2 | MGM 003 | 4.93 | 3.55 | 39.70 | Delgado | disminuida |
| 3 | RLO 004 | 4.58 | 3.15 | 48.45 | Delgado | disminuida |
| 4 | VSN 006 | 3.90 | 2.10 | 75.55 | Delgado | disminuida |
| 5 | CJY 007 | 5.88 | 2.85 | 59.05 | Normal | disminuida |
| 6 | HVM 008 | 3.03 | 2.65 | 86.05 | Delgado | disminuida |
| 7 | LSM 009 | 5.50 | 2.70 | 78.00 | Delgado | disminuida |
| 8 | LCL 010 | 11.25 | 5.10 | 52.65 | Normal | disminuida |
| 9 | ZIM 011 | 3.95 | 2.40 | 72.40 | Delgado | disminuida |
| 10 | SOA 012 | 4.13 | 2.35 | 82.95 | Delgado | disminuida |
| 11 | ZMG 017 | 6.25 | 3.90 | 77.90 | Normal | disminuida |
| 12 | MCJ 018 | 4.93 | 2.65 | 77.75 | Delgado | disminuida |
| 13 | MPV 019 | 6.83 | 2.25 | 49.30 | Normal | disminuida |
| 14 | HGL 020 | 4.28 | 3.65 | 46.00 | Delgado | disminuida |
| 15 | FDR 022 | 5.68 | 3.75 | 52.90 | Normal | disminuida |
| 16 | LSA 023 | 3.35 | 1.50 | 83.10 | Delgado | disminuida |
| 17 | CGE 024 | 3.15 | 1.00 | 79.85 | Delgado | disminuida |
| 18 | ADM 025 | 3.15 | 2.00 | 73.60 | Delgado | disminuida |
| 19 | SML 026 | 5.70 | 2.50 | 70.40 | Normal | disminuida |
| 20 | MSM 027 | 4.70 | 3.60 | 55.85 | Delgado | disminuida |
| 21 | RCM 029 | 6.15 | 3.60 | 52.80 | Normal | disminuida |
| 22 | BRA 030 | 4.70 | 3.10 | 109.10 | delgado | normal |
| 23 | ESM 031 | 6.53 | 3.55 | 61.30 | normal | disminuida |
| 24 | MRM 036 | 5.90 | 2.20 | 56.35 | normal | disminuida |
| 25 | RMM 040 | 3.73 | 1.45 | 52.85 | delgado | disminuida |
| 26 | RCB 047 | 3.95 | 2.10 | 93.00 | delgado | normal |
| 27 | VMV 050 | 5.20 | 3.70 | 66.50 | delgado | disminuida |
| 28 | RMY 051 | 4.45 | 1.90 | 81.90 | delgado | disminuida |

El análisis de normalidad de nuestras participantes en este estudio mostró una distribución normal (p=0.200) para el grosor (Figura 16), lisura (Figura 17) y densidad (Figura 18). El grosor de nervio cornales para este grupo de pacientes con fibromialgia (n=28) es de 5.0 ± 1.6 micras, el índice de lisura 2.7 ± 0.9, y la densidad del plexo nervioso anterior es de 68 ± 16 nervios/mm$^2$. Considerando el punto de corte de 5.6 micras y el punto de corte para densidad 87.1 nervios/mm$^2$ reportados previamente por nuestro grupo de investigación (25), el 68% (19 pacientes) de las participantes con evaluaciones medidas al momento tienen nervios delgados, y el 93% (26 pacientes) de ellas tienen densidad del plexo nervioso anterior corneal disminuida. Las mediciones puntuales de cada paciente se encuentran en la Tabla 6.

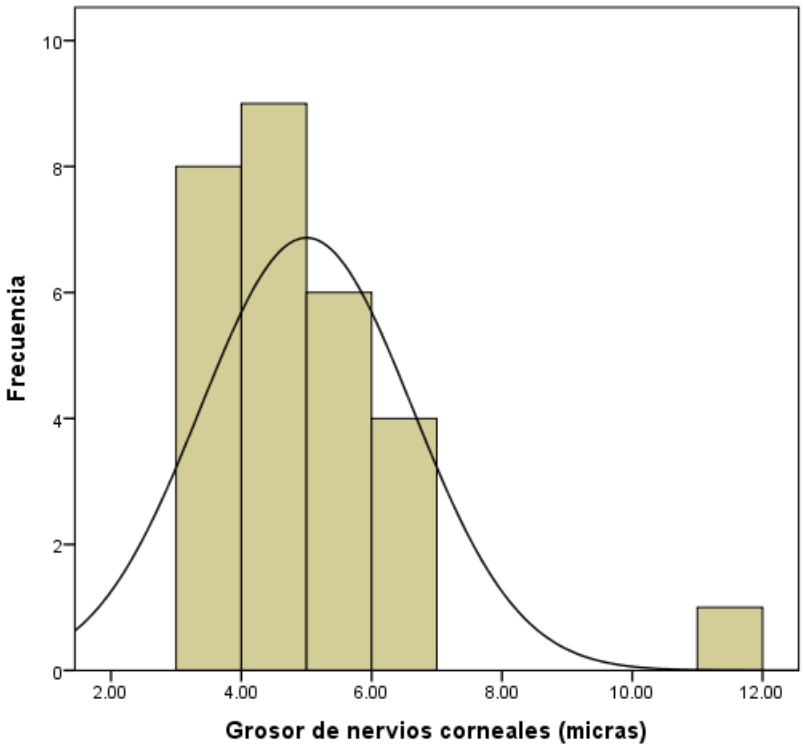



Figura 16. Histograma de mediciones de grosor de nervios estromales corneales.

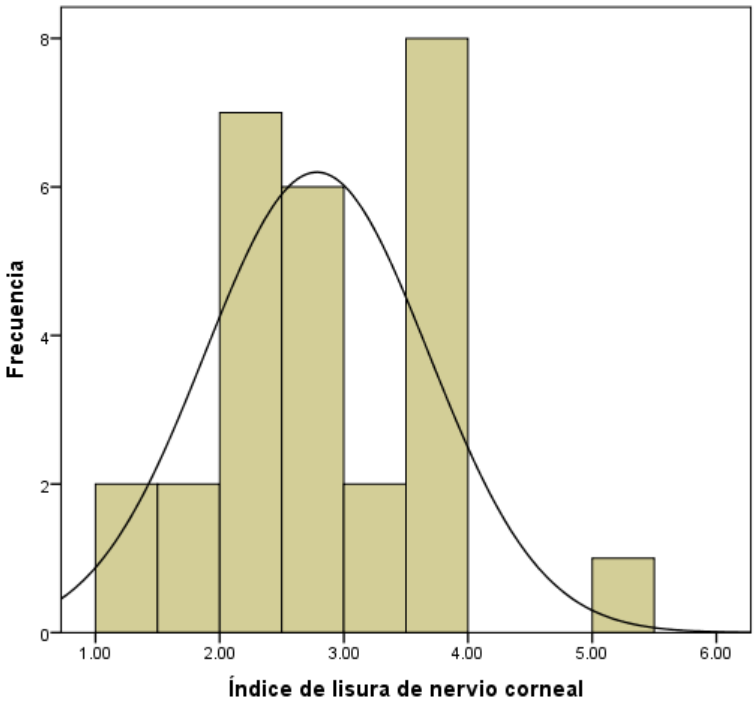



Figura 17. Histograma de mediciones del índice de lisura de nervios estromales corneales.

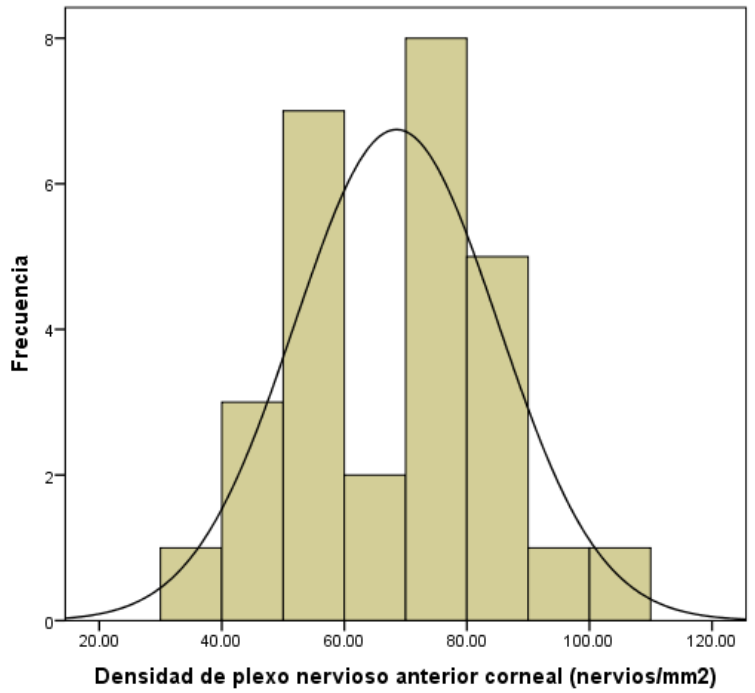



Figura 18. Histograma de mediciones de la densidad del plexo nervioso corneal anterior.

Las principales características demográficas y clinimétricas de todas las participantes se muestran a continuación en la Tabla 7 y 8.

Las pacientes con fibromialgia reportaron un tiempo de evolución de los síntomas con una mediana de 8 años (IQR, 5-12) con un tiempo de diagnóstico de 4 (1-7) y retraso en el diagnóstico de 4 (1-7). Como era de esperarse las pacientes con fibromialgia y las mujeres sanas son grupos similares en peso e índice de masa corporal. En el análisis descriptivo de las herramientas clinimétricas observamos que todas las puntuaciones de las escalas de síntomas fueron diferentes entre pacientes con fibromialgia y controles ($p<0.01$), como se muestra en la Tabla 8, en los síntomas correspondientes a fibromialgia, disautonomía, depresión o ansiedad y calidad de vida.

La actividad física considerada como variable de confusión fue similar en ambos grupos (Figura 19).

Tabla 7. Características demográficas de las participantes.

| | | **Fibromialgia n=46** | **Controles n=32** | ***P*** |
|---|---|---|---|---|
| Edad (años) | | 44 (38-48) | 41 (30-47) | 0.202 |
| Índice de masa corporal | | 24.6 (23.1-28.4) | 24.3 (22.8-26.9) | 0.539 |
| Peso (Kg) | | 59 (56-70) | 60.8 (56-67) | 0.792 |
| Talla (m) | | 1.56 ± 0.07 | 1.58 ± 0 .06 | 0.215 |
| Escolaridad | Primaria | 0 | 0 | |
| | Secundaria | 12 (26%) | 4 (13%) | |
| | Bachillerato | 8 (17%) | 3 (9%) | |
| | Carrera técnica | 8 (17%) | 4 (12%) | 0.258 |
| | Licenciatura | 16 (35%) | 17 (53%) | |
| | Maestría | 2 (43%) | 3 (9%) | |
| | Doctorado | 0 | 1 (3%) | |
| Trabajo remunerado | | 29 (63%) | 26 (81%) | 0.068 |

Tabla 8. Características clinimétricas de 46 pacientes con fibromialgia y 32 controles sanas.

| | **Fibromialgia n=46** | **Controles n=32** | ***P*** |
|---|---|---|---|
| Número de puntos dolorosos | 15 (14-18) | 3 (1-4) | <0.0001 |
| EVA dolor generalizado | 76 (62-89) | 4 (0-12) | <0.0001 |
| WPI | 14 (10-17) | 2 (1-3) | <0.0001 |
| SSS | 9 (7-10) | 2 (1-4) | <0.0001 |
| PDS | 22 (17-26) | 4 (3-7) | <0.0001 |
| FIQR | 57 (35-70) | 5 (2.5-9.4) | <0.0001 |
| Dominio de funcionalidad | 14 (7-20) | 0 (0-0.9) | <0.0001 |
| Dominio de estado general | 12 (4-16) | 0.0 | <0.0001 |
| Dominio de síntomas | 33 (20-36) | 4.3 (1.8-9) | <0.0001 |
| EVA Dolor | 7 (4-9) | 0 (0-1) | <0.0001 |
| EVA Energía | 7 (5-9) | 1 (0-2) | <0.0001 |
| EVA Rigidez | 6 (2-8) | 0 | <0.0001 |
| EVA Sueño | 9 (7-10) | 1 (0-4) | <0.0001 |
| EVA Depresión | 5 (1-7) | 0 (0-1) | <0.0001 |
| EVA Memoria | 7 (4-8) | 1 (0-3) | <0.0001 |
| EVA Ansiedad | 6 (3-8) | 1 (0-2) | <0.0001 |
| EVA Tacto | 7 (3-8) | 0 | <0.0001 |
| EVA Equilibrio | 5 (0-7) | 0 (0-1) | 0.002 |
| EVA Sensibilidad | 8 (3-9) | 1 (0-2) | <0.0001 |
| COMPASS31 | 41 (29-54) | 12 (8-21) | <0.0001 |
| Intolerancia ortostática | 20 (12-24) | 4 (0-8) | <0.0001 |
| Vasomotor | 1.6 (0-2.5) | 0 | <0.0001 |
| Secretor | 6.4 (2.1-8.5) | 0 (0-2.1) | 0.001 |
| Gastrointestinal | 9.3 (8-14) | 4.4 (2.6-5.8) | <0.0001 |
| Vejiga | 1.1 (0-3-3) | 0 (0-1.1) | 0.002 |
| Pupilar | 3 (2.3-4) | 1.6 (0.85-2.1) | <0.0001 |
| SFSS de 22 preguntas | 34 (25-49) | 6 (3-9) | <0.0001 |
| SFSS de 32 preguntas | 53 (36-68) | 8 (4-14) | <0.0001 |
| Gastrointestinal | 8 (6-11) | 2 (1-3) | <0.0001 |
| Somatomotor | 7 (4-11) | 0 (0-1) | <0.0001 |
| Misceláneos | 10 (9-13) | 3 (1-4) | <0.0001 |
| Microvascular | 7 (4-11) | 1 (0-2) | <0.0001 |
| Urológico | 1 (0-4) | 0 | 0.001 |
| EVA dolor | 8 (7-9) | 1 (0-3) | <0.0001 |
| PHQ9 depresión | 13 (8-17) | 2 (1-5) | <0.0001 |
| GAD7 ansiedad | 9 (6-14) | 2 (1-5) | <0.0001 |
| HADS ansiedad | 8 (5-12) | 4 (2-5) | <0.0001 |
| HADS depresión | 8 (4-9) | 1 (1-2) | <0.0001 |
| LANSS | 19 (14-22) | 0 (0-1) | <0.0001 |
| EuroQol EVA termómetro de salud | 57 (40-70) | 90 (82-95) | <0.0001 |

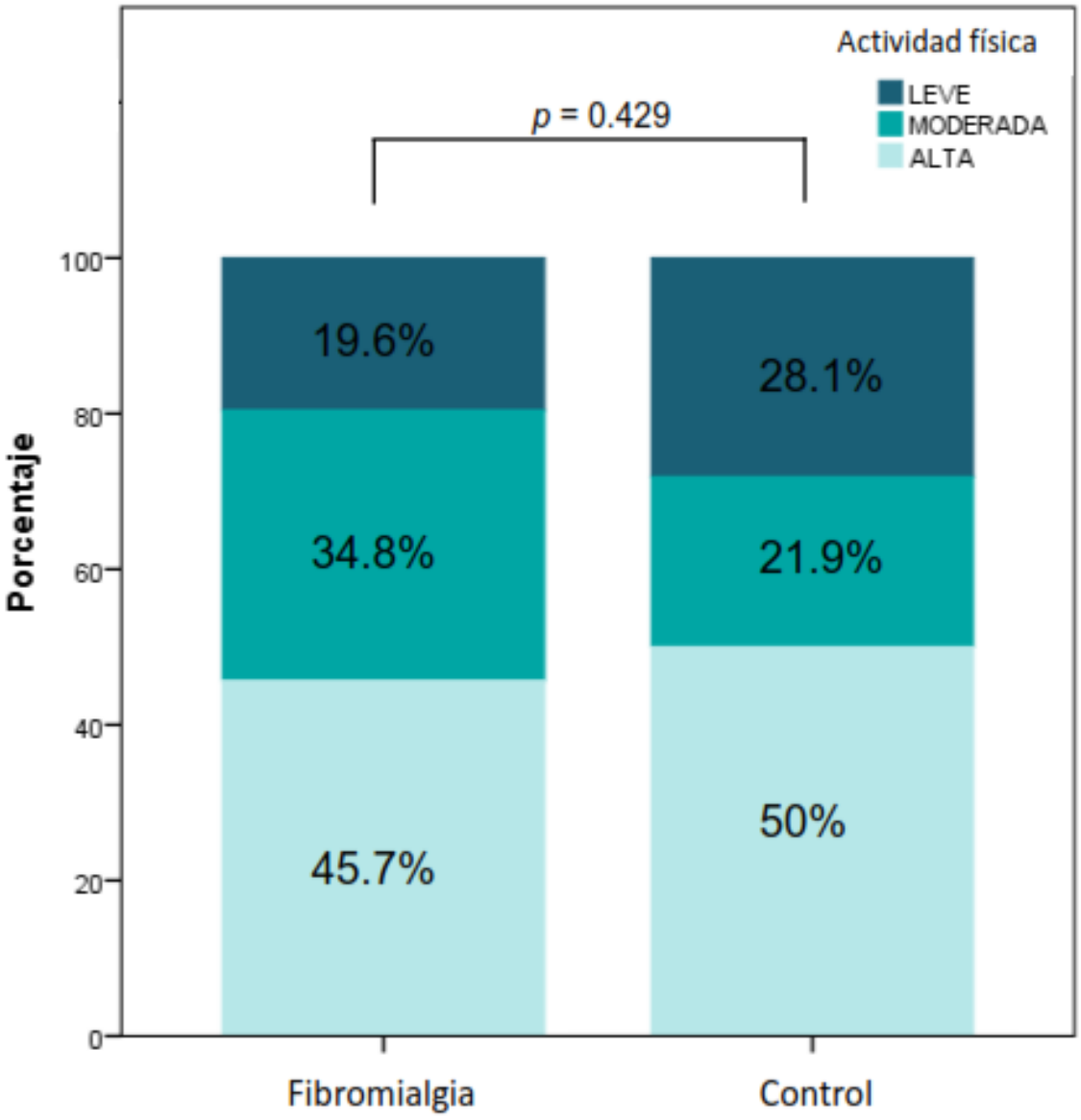



Figura 19. Actividad física de 46 participantes con fibromialgia y 32 controles sanas.

La proporción de síntomas de depresión o ansiedad evaluadas por los cuestionarios PHQ9 y GAD7 fue diferente entre pacientes con fibromialgia y controles sanas (Figura 20). Se considera síntomas depresivos mínimos o normales con una calificación de 0-4, leve de 5 a 9, moderada de 10 a 14, moderadamente grave de 15 a 19 y grave de 20 a 27. En el caso de síntomas de ansiedad, si el puntaje de GAD-7 es de 0 a 5 se consideran mínimos o normales, leves de 5 a 9, moderados de 10 a 14 y graves cuando son 15 o más puntos.

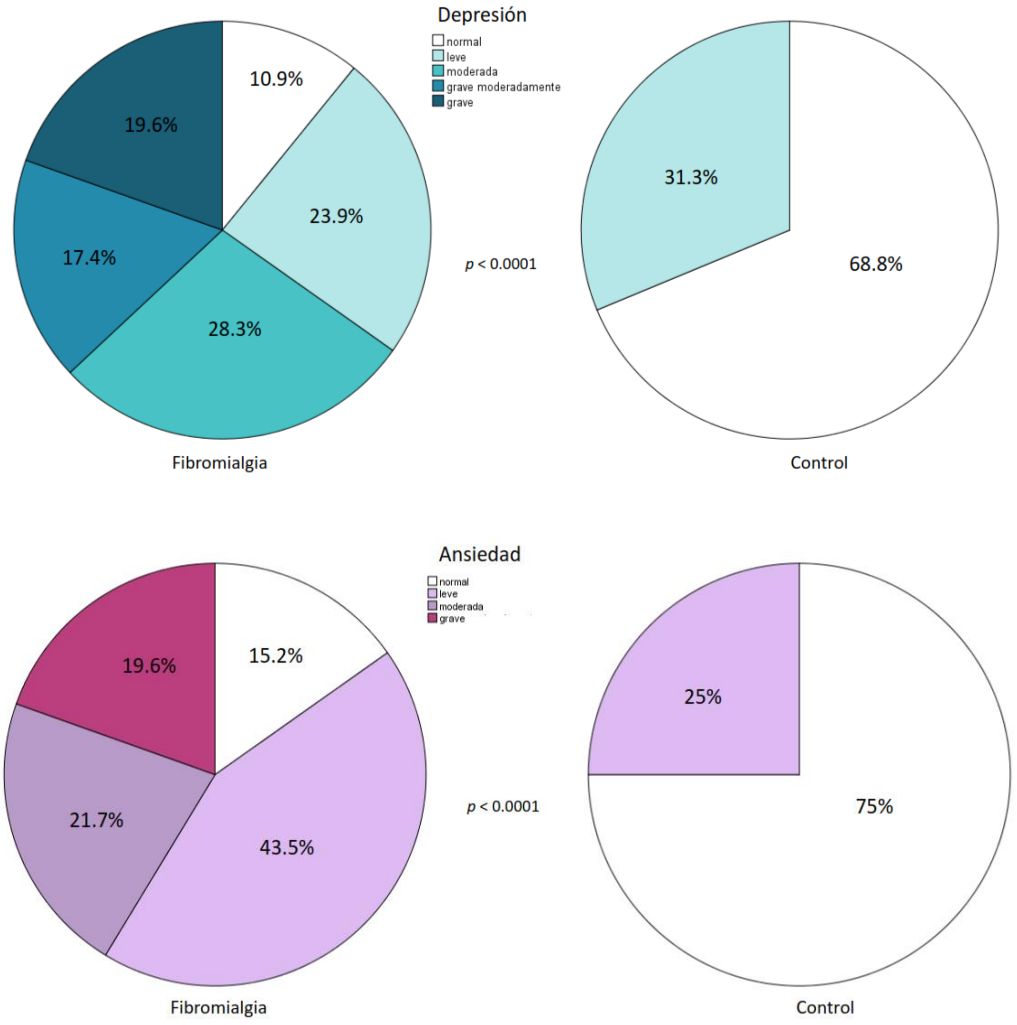



Figura 20. Distribución de los diferentes grados de depresión y ansiedad entre pacientes con fibromialgia (n=46) y controles sanas (n=32) de acuerdo a los puntajes de PHQ9 y GAD7.

Sólo se pudo realizar la correlación entre parámetros de la variabilidad de la frecuencia cardiaca y las mediciones de la microscopia confocal corneal cuando se tenían las mediciones validadas simultáneamente en el mismo participante (n=18). Al comparar estas 18 participantes y el resto de pacientes con fibromialgia incluidas con la prueba de la mediana para muestras independientes no hubo diferencias en ninguna escala clinimétrica, en los dominios correspondientes (Tabla 9), en las mediciones de microscopia confocal corneal, ni en los parámetros de la variabilidad de la frecuencia cardiaca (Tabla 10).

Tabla 9. Principales características demográficas y clínicas de 18 participantes incluidas en el análisis de correlación entre variabilidad de la frecuencia cardiaca y microscopia confocal corneal comparadas con las otras 28 pacientes no incluidas en este sub-análisis.

| | | **FM incluidas en correlación de objetivo primario n=18** | **FM no incluidas n=28** | ***P*** |
|---|---|---|---|---|
| Edad (años) | | 42 (34-46) | 45 (42-47) | 0.202 |
| Índice de masa corporal | | 23.6 (22.7-26.9) | 25.4 (23.8-30.7) | 0.365 |
| Escolaridad | Primaria | 0 | 0 | |
| | Secundaria | 5 (28%) | 7 (25%) | |
| | Bachillerato | 2 (11%) | 6 (21%) | |
| | Carrera técnica | 3 (17%) | 5 (18%) | 0.917 |
| | Licenciatura | 7 (39%) | 9 (32%) | |
| | Maestría | 1 (5%) | 1 (4%) | |
| | Doctorado | 0 | 0 (0%) | |
| Trabajo remunerado | | 14 (77%) | 15 (53%) | 0.088 |
| Actividad física | Leve | 2 (11%) | 7 (25%) | |
| | Moderada | 6 (33%) | 10 (36%) | 0.402 |
| | Alta | 10 (56%) | 11 (39%) | |
| Tiempo de evolución fibromialgia | | 9 (5-12) | 8 (5-13) | 0.948 |
| Tiempo del diagnóstico | | 3 (1-8) | 4 (2-7) | 0.763 |
| Número de puntos dolorosos | | 18 (15-18) | 15 (13-17) | 0.080 |
| EVA dolor generalizado | | 73 (65-92) | 81 (60-88) | 0.365 |
| WPI | | 14 (13-17) | 12 (9-16) | 0.131 |
| SSS | | 9 (8-10) | 8 (7-10) | 0.777 |
| PDS | | 24 (20-26) | 20 (16-26) | 0.131 |
| FIQ | | 58 (44-68) | 57 (34-70) | 0.763 |
| COMPASS31 | | 41 (34-53) | 42 (28-53) | 0.763 |
| SFSS de 22 preguntas | | 34 (28-48) | 33 (24-51) | 0.763 |
| SFSS de 32 preguntas | | 55 (41-62) | 51 (35-73) | 0.763 |
| PHQ9 depresión | | 14 (5-18) | 12 (8-16) | 0.365 |
| GAD7 ansiedad | | 10 (4-14) | 9 (6-13) | 0.513 |
| HADS ansiedad | | 9 (4-12) | 9 (6-13) | 0.864 |
| HADS depresión | | 8 (4-9) | 7 (4-10) | 0.763 |
| LANSS | | 19 (15-19) | 19 (11-24) | 0.377 |
| EuroQol EVA termómetro de salud | | 47 (35-70) | 60 (45-72) | 0.131 |

Tabla 10. Mediciones de microscopia confocal corneal y parámetros de la variabilidad de la frecuencia cardiaca de 18 participantes incluidas en el análisis de correlación entre variabilidad de la frecuencia cardiaca y microscopia confocal corneal comparadas con las otras 28 pacientes no incluidas en este sub-análisis.

| | **FM incluidas en correlación de objetivo primario n=18** | **FM no incluidas n=28** | ***P*** |
|---|---|---|---|
| Grosor de nervio estromal corneal | 4.6 (3.9-5.8) | 4.8 (3.3-5.7) | 0.999 |
| Lisura de nervio estromal corneal | 2.6 (2.2-3.5) | 2.5 (2-3.6) | 0.705 |
| Densidad de plexo nervioso corneal | 69 (52-82) | 72 (52-77) | 0.999 |
| Promedio NN 24hrs | 796 (725-861) | 755 (665-853) | 0.586 |
| SDNN 24 hrs | 126 (115-157) | 146 (115-177) | 0.586 |
| SDANN 24 hrs | 117 (91-137) | 136 (109-165) | 0.586 |
| SDSD 24 hrs | 28 (19-39) | 32 (26-37) | 0.586 |
| pNN50 24 hrs | 7.3 (2.3-18) | 9.5 (6.2-14.4) | 0.586 |
| RMSSD 24hrs | 28 (19-39) | 32 (26-37) | 0.586 |
| Promedio NN noche | 905 (807-955) | 995 (796-1104) | 0.999 |
| SDNN noche | 98 (71-113) | 94 (81-122) | 0.999 |
| SDANN noche | 59 (50-82) | 68 (49-84) | 0.999 |
| SDSD noche | 30 (24-45) | 41 (34-51) | 0.211 |
| pNN50 noche | 8.4 (3.4-23) | 20 (11-31) | 0.211 |
| RMSSD noche | 30 (24-45) | 41 (34-51) | 0.211 |

## 8.3. RESULTADOS DE OBJETIVOS SECUNDARIOS

Los objetivos secundarios consisten en correlacionar variables subjetivas como los síntomas de fibromialgia con variables consideradas objetivas o datos duros, ya sea tanto estructurales como los parámetros de la biomicroscopia confocal corneal, como, funcionales como la variabilidad de la frecuencia cardiaca y neuropéptidos séricos. Estas relaciones entre variables se ilustran esquemáticamente en la Figura 21. De interés especial es el cuestionario de síntomas de neuropatía de fibra fina debido a que fue desarrollado a partir de los estudios de biopsia de piel, pero se desconoce su asociación con la microscopia confocal corneal por lo que se buscó esta asociación como objetivo secundario. Así, también es de interés cómo se relacionan los síntomas de este cuestionario de neuropatía de fibra fina con las herramientas clinimétricas ya validadas para los otros síntomas de la fibromialgia. Para el sub-análisis de neuropétidos séricos se requirió la comparación con un grupo control.

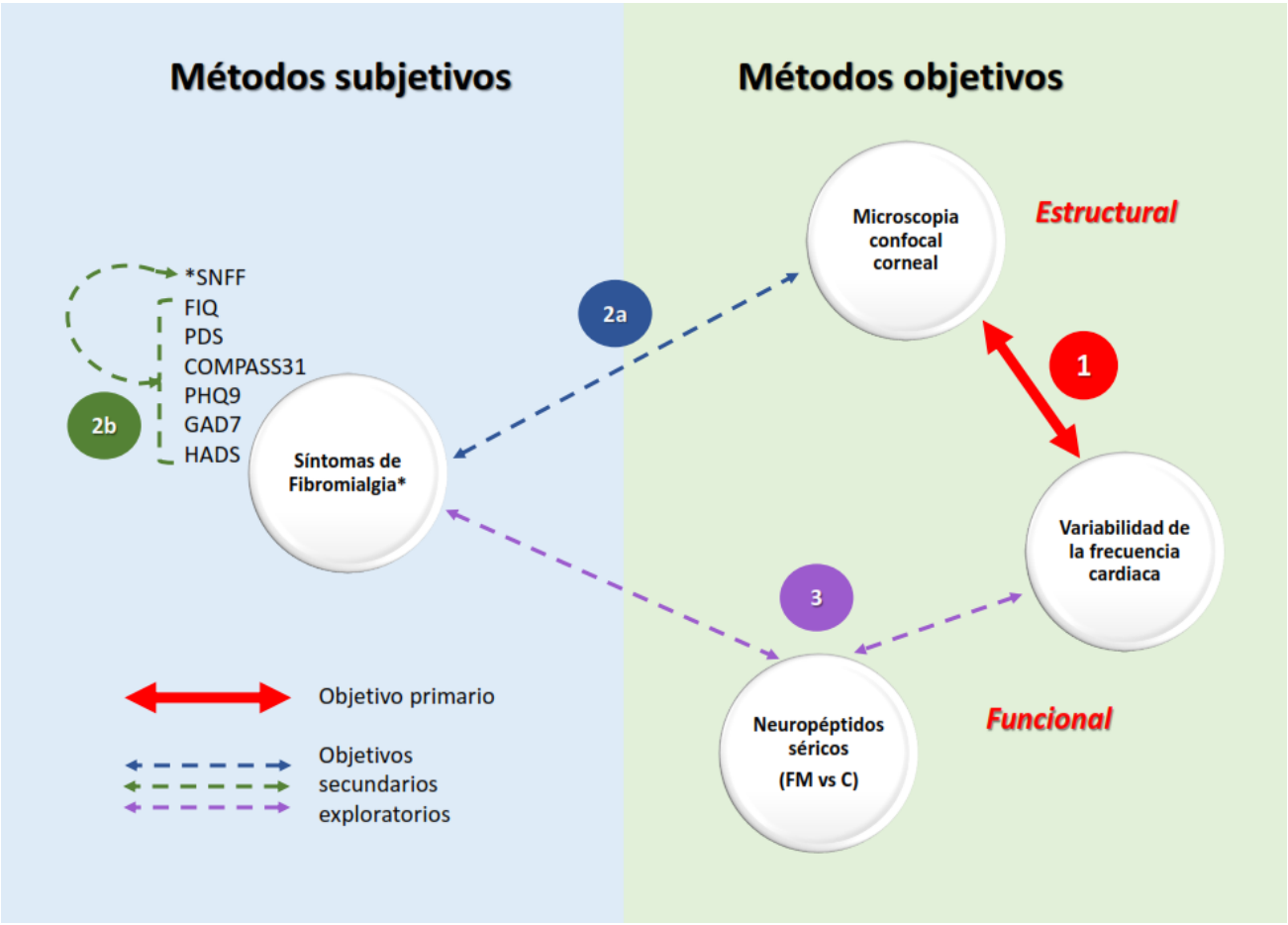



Figura 21. Esquema de correlaciones de objetivo principal, y objetivos secundarios.

8.3.1 Resultados de objetivo secundario 2a.

*Determinar las correlaciones de los parámetros de la microscopia confocal corneal con los síntomas de neuropatía de fibra fina y gravedad de otros múltiples síntomas de fibromialgia*

2a

El objetivo secundario de mayor interés durante este estudio fue el de determinar si existe asociación de los parámetros subjetivos de la fibromialgia que constituyen los síntomas de la misma y específicamente los síntomas de neuropatía de fibra fina, con las mediciones objetivas de la microscopia confocal corneal en pacientes con fibromialgia.

Para este propósito, se utilizaron las mediciones validadas del grosor de los nervios corneales y densidad de plexo nervioso corneal anterior mediante biomicroscopia confocal corneal (CONFOSCAN4) de 28 mujeres con fibromialgia que llenaron la Encuesta de Síntomas de Neuropatía de Fibras Finas (SNFF), el Cuestionario Revisado de Impacto de Fibromialgia (FIQ-R), Escala de Distrés Polisintomático (PDS), Cuestionario de Síntomas Autonómicos 31 (COMPASS31), síntomas de ansiedad o depresión (Cuestionario de Depresión PHQ-9 por “Patient Health Questionnaire” – 9 items, GAD7 por “Generalized Anxiety Disorder 7 items”, HADS, la Escala de Ansiedad y Depresión Hospitalaria) y calidad de vida (EuroQol EQ-5D-5L). Se definió como presencia de síntomas graves de ansiedad o depresión si tendían al menos una de las siguientes calificaciones en los instrumentos de ansiedad o depresión: PHQ9 ≥ 15, GAD7 ≥ 15, depresión en HAS ≥ 11 o ansiedad en HADS ≥ 11. El análisis de normalidad se realizó con la prueba de Shapiro-Wilk y con Kolmogórov-Smirnov con corrección de Lilliefors, las comparaciones con U de Mann-Whitney y las correlaciones con el método de Pearson o Spearman de acuerdo con la distribución de los datos.

La descripción de los puntajes de las herramientas clinimétricas de estas 28 pacientes se muestran a continuación en la Tabla 11. Observamos que la escala visual análoga de dolor y todas las puntuaciones de las escalas de síntomas entre estas 28 pacientes fueron diferentes entre pacientes con fibromialgia con y sin síntomas graves de depresión o ansiedad ($p<0.05$) como se muestra en la Tabla 11. En las mediciones de la microscopia

confocal corneal no hubo diferencias entre las pacientes con y sin síntomas de depresión o ansiedad graves. En la Figura 22 se observa que hay las diferencias en los puntajes del cuestionario de 22 (A) y 32 (B) preguntas de síntomas de neuropatía de fibra fina, pero no en las mediciones de densidad nerviosa del plexo nervioso corneal anterior (C y D) dependiendo de la presencia o no de síntomas de depresión y/o ansiedad grave.

Tabla 11. Características clínicas y mediciones de los nervios corneales en 28 mujeres con fibromialgia.

| | **Fibromialgia todas n = 28** | **Fibromialgia con depresión y/o ansiedad grave n = 15** | **Fibromialgia sin impacto psicológico grave n = 13** | ***p**** |
|---|---|---|---|---|
| Edad (años) | 43 ± 8 | 41 ± 9 | 45 ± 8 | 0.228 |
| Peso (kg) | 65.0 ± 13.4 | 65.4 ± 14.5 | 64.7 ± 12.5 | 0.856 |
| Índice de masa corporal | 26.3 ± 4.4 | 26.8 ± 4.2 | 25.7 ± 4.9 | 0.467 |
| EVA dolor | 73 ± 18 | 79 ± 13 | 65 ± 20 | 0.029 |
| Puntos dolorosos | 16 ± 2 | 16 ± 2 | 17 ± 2 | 0.413 |
| PHQ9 | 13 ± 7 | 17 ± 5 | 7 ± 4 | <0.0001 |
| GAD7 | 10 ± 6 | 14 ± 5 | 6 ± 3 | <0.0001 |
| HADS depresión | 7 ± 4 | 10 ± 3 | 5 ± 3 | <0.0001 |
| HADS ansiedad | 9 ± 5 | 12 ± 3 | 5 ± 3 | <0.0001 |
| FIQR | 52 ± 22 | 66 ± 10 | 37 ± 21 | <0.0001 |
| FIQR función | 13.6 ± 7.9 | 15.7 ± 7.1 | 11.2 ± 8.4 | 0.004 |
| FIQR general | 10.2 ± 7.0 | 13.5 ± 4.5 | 6.4 ± 7.5 | 0.010 |
| FIQR síntomas | 28.7 ± 11.3 | 36.7 ± 5.9 | 19.5 ± 8.8 | <0.0001 |
| COMPASS31 | 40 ± 16 | 50 ± 13 | 29 ± 12 | <0.0001 |
| SSS 22 | 36 ± 16 | 45 ± 15 | 26 ± 11 | 0.001 |
| SSS 33 | 54 ± 22 | 66 ± 21 | 41 ± 15 | 0.001 |
| Grosor de nervio corneal (micras) | 5 ± 1.63 | 5.3 ± 2 | 4.57 ± 0.89 | 0.316 |
| Lisura de nervio | 2.78 ± 0.9 | 2.91 ± 0.95 | 2.63 ± 0.85 | 0.586 |
| Densidad de nervio corneal (nervios/$mm^2$) | 68.5 ± 16.5 | 69.5 ± 14.1 | 67.2 ± 19.5 | 0.551 |

*Valor *p* de la comparación entre pacientes con fibromialgia con síntomas graves de ansiedad y/o depresión graves y aquellas participantes sin síntomas graves de ansiedad y/o depresión.

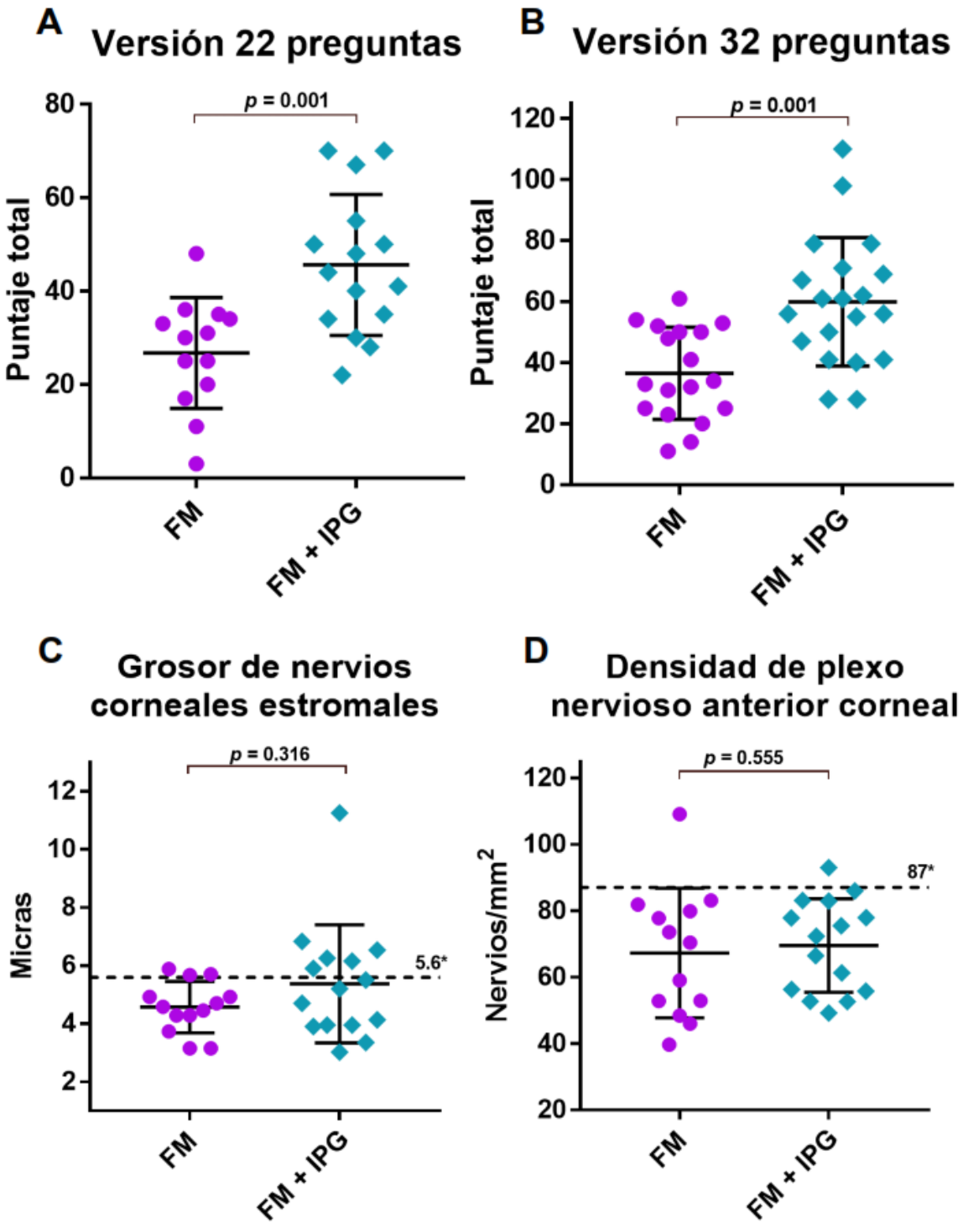



Figura 22. Distribución de síntomas de neuropatía de fibra fina y densidad de plexo nervioso corneal anterior de acuerdo a la presencia o no de síntomas graves de depresión o ansiedad.

Las correlaciones observadas entre las mediciones de la microscopia corneal y los síntomas principales de fibromialgia considerando la presencia o no de síntomas graves de depresión o ansiedad se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12. Correlaciones entre densidad corneal y principales síntomas de fibromialgia.

| **Microscopia confocal** | **Escala de síntomas** | **Fibromialgia todas n = 28** | | **Fibromialgia con depresión y/o ansiedad grave n = 15** | | **Fibromialgia sin impacto psicológico grave n = 13** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **Rho** | ***p*** | **Rho** | ***p*** | **Rho** | ***p*** |
| Densidad | FIQR total | -.143 | .468 | -.052 | .854 | -.344 | .249 |
| Densidad | FIQR impacto general | -.134 | .497 | .303 | .273 | -.701 | .008 |
| Densidad | FIQR síntoma | -.071 | .718 | .127 | .653 | -.381 | .199 |
| Densidad | COMPASS31 total | -.249 | .202 | -.093 | .742 | -.648 | .017 |
| Densidad | SNFFSS22 total | -.176 | .371 | .013 | .963 | -.589 | .034 |
| Densidad | SNFFSS33 total | -.235 | .228 | -.013 | .963 | -.771 | .002 |

La densidad del plexo nervioso corneal anterior correlacionó en el grupo de pacientes que no tienen impacto psicológico grave de depresión o ansiedad. Estas correlaciones no se observan cuando las pacientes tienen depresión o ansiedad graves, y se diluye el efecto de la correlación si se evalúan las 28 pacientes sin considerar el impacto de los síntomas de depresión o ansiedad graves (Figura 23). Esta situación se observa en los diagramas de dispersión correspondientes a los cuestionarios de neuropatía fina tanto de 22 como de 32 preguntas, así como, para el domino general del cuestionario de impacto de la fibromialgia y el cuestionario de síntomas autonómicos (A, B, C, D, E, y F). En el panel correspondiente a 13 pacientes sin síntomas de depresión o ansiedad graves tanto el cuestionario de 22 preguntas (E) como el de 32 (F) tiene correlaciones significativas.

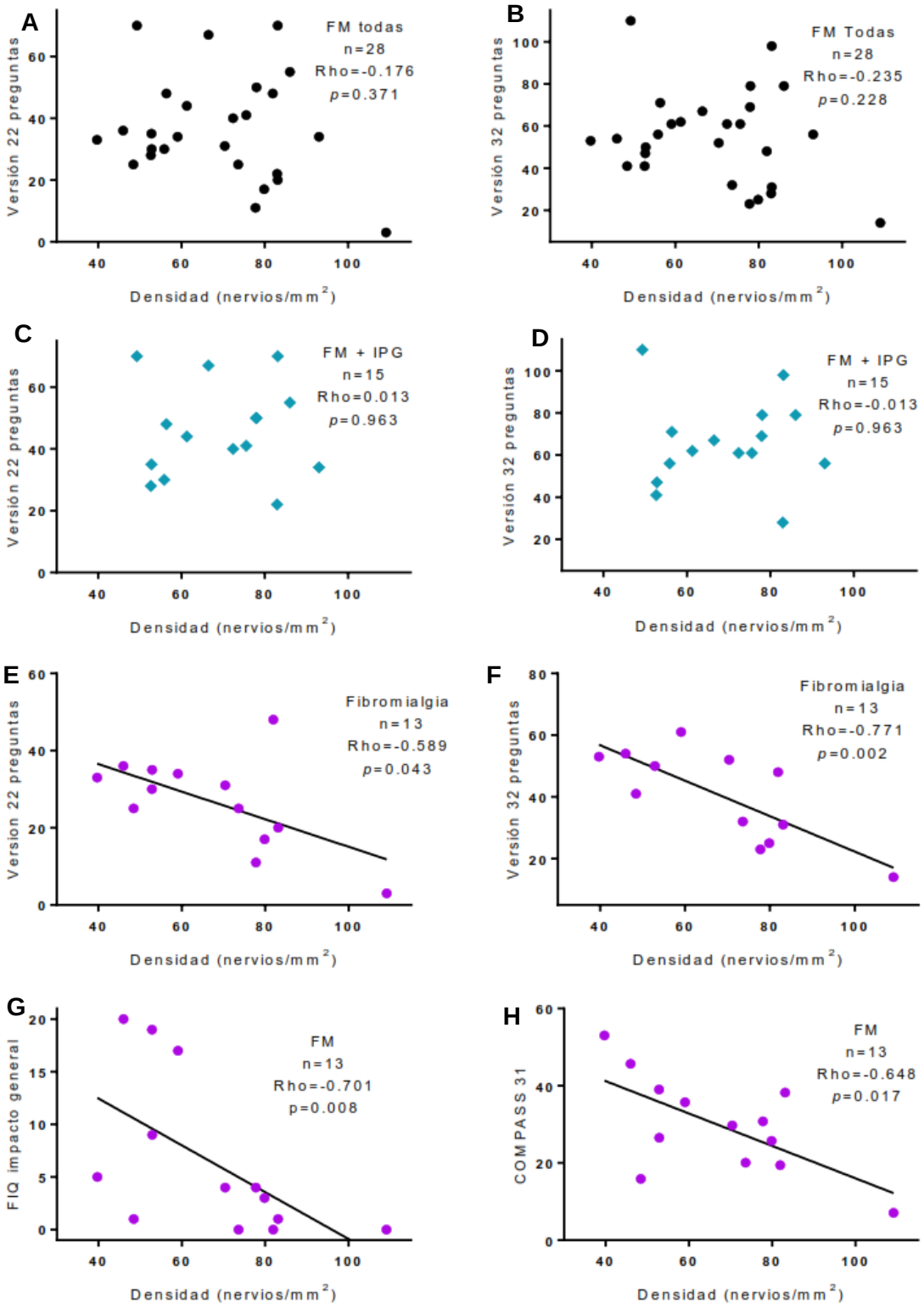



Figura 23. Correlaciones entre densidad corneal y síntomas de fibromialgia de acuerdo a la presencia o no de impacto psicológico grave (IPG) por síntomas de ansiedad y/o depresión graves.

8.3.2. Resultados de objetivo secundario 2b.

*Determinar si existe asociación entre los puntajes de la encuesta de síntomas de neuropatía de fibra fina y las principales escalas clinimétricas que recopilan los múltiples síntomas de fibromialgia*

2b

Las dos mediciones clinimétricas más ampliamente utilizadas son la Escala de Distrés Polisitomático (PDS) que proponen los nuevos criterios de diagnóstico del American College of Rheumatology y la versión Revisada del Cuestionario de Impacto de la Fibromialgia (FIQR). La escala PDS se obtiene al sumar el índice de dolor generalizado (WPI, por sus siglas en Inglés de Widespread Pain Index) y la escala de severidad de los síntomas (SSS, por sus siglas en inglés de Symptomatic Severity Scale). En este objetivo secundario se busca determinar la correlación entre estas escalas validadas ampliamente en fibromialgia y la recientemente desarrollada Encuesta de Síntomas de Neuropatía de Fibras Finas (SNFF) validada con biopsia de piel.

Se observaron múltiples correlaciones positivas entre los síntomas de neuropatía de fibra fina medida por SNFF y el cuestionario de impacto de la fibromialgia FIQR (Rho=0.639, $p<0.0001$), de síntomas de neuropatía de fibra fina SNFF y síntomas de fibromialgia PDS (Rho=0.571, $p<0.0001$) y los dominios de dolor generalizado e intensidad de los síntomas de la fibromialgia.

También se observaron correlaciones entre los síntomas de neuropatía de fibra fina SNFF y síntomas de disautonomía medidos con el COMPASS31 (Rho=0.658, $p<0.0001$) e incluso el dominio de intolerancia ortostática (Rho=0.511, $p<0.0001$) en el grupo de fibromialgia.

Se pueden observar las correlaciones más representativas en la Tabla 13 y en la Figura 24.

Tabla 13. Correlaciones bivariadas entre los síntomas de neuropatía de fibras finas y síntomas de fibromialgia, disautonomia, ansiedad, depresión y calidad de vida en 46 pacientes con fibromialgia.

| Correlación con síntomas de fibromialgia | | Rho | *P* |
|---|---|---|---|
| Síntomas de neuropatía de fibra fina | WPI | 0.517[§] | <0.0001 |
| | SSS | 0.560[‡] | <0.0001 |
| | PDS | 0.571[§] | <0.0001 |
| | FIQR | 0.639[§] | <0.0001 |
| | EVA Dolor | 0.554[‡] | <0.0001 |
| | EVA Energía | 0.457[‡] | 0.001 |
| | EVA Calidad de sueño | 0.485[‡] | 0.001 |
| | COMPASS31 | 0.658[§] | <0.0001 |
| | Intolerancia ortostática | 0.511[§] | <0.0001 |
| | PHQ9 | 0.585[§] | <0.0001 |
| | GAD7 | 0.540[§] | <0.0001 |
| | HADS ansiedad | 0.385[§] | 0.008 |
| | HADS depresión | 0.381[§] | 0.009 |
| | sLANSS | 0.578[‡] | <0.0001 |
| | EuroQol EVA termómetro de salud | -0.287[‡] | 0.053 |

Rho: [§]Pearson, [‡]Spearman.

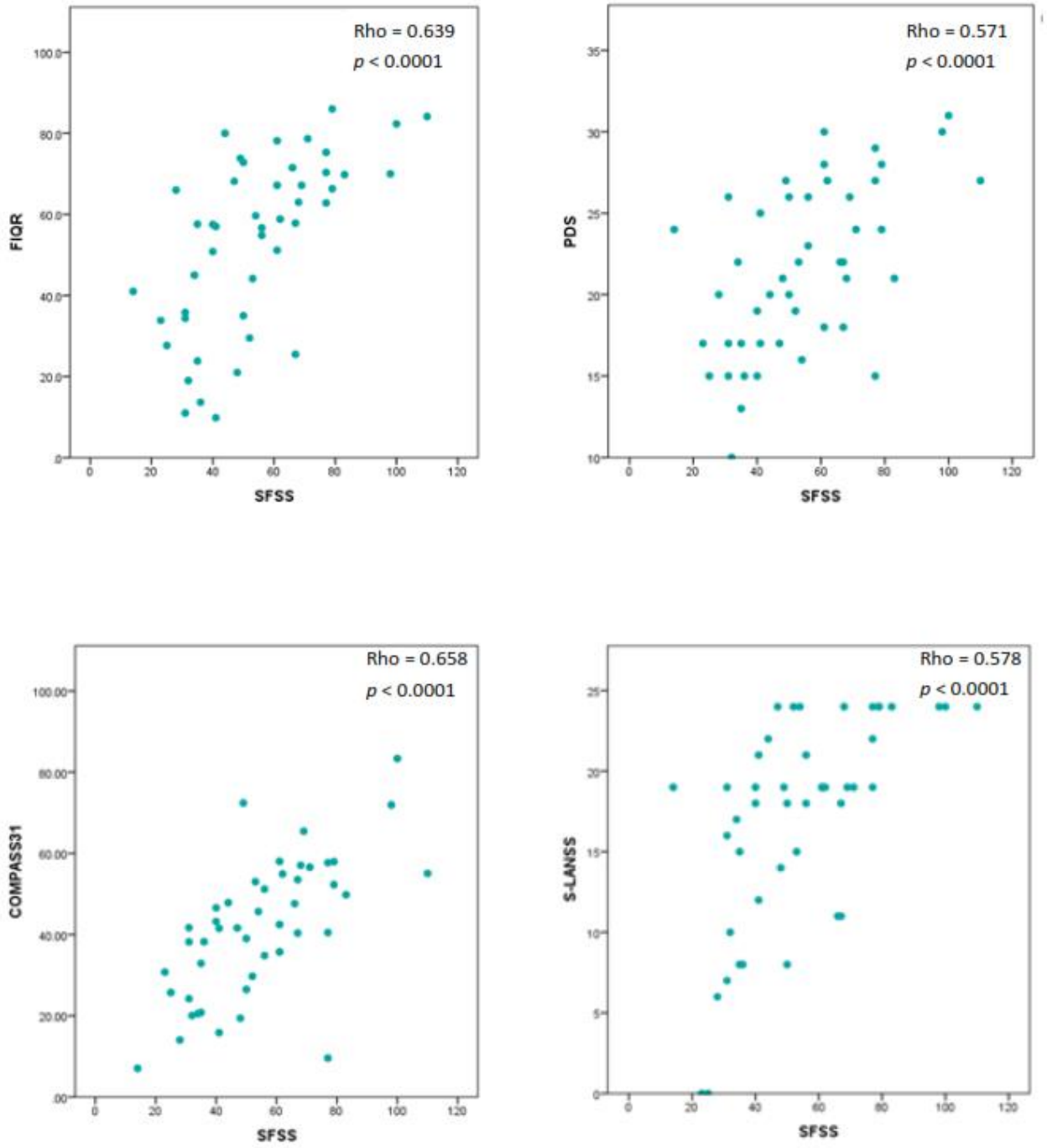



Figura 24. Ejemplos representativos de correlaciones bivariadas entre la encuesta de síntomas de neuropatía de fibras finas y síntomas de fibromialgia, síntomas de disautonomia y calidad de vida.

### 8.3.3. Resultados de objetivo 3.

*Determinar los niveles circulantes de neuropéptidos en mujeres con fibromialgia, compararlos con los de controles sanas y correlacionarlos con parámetros de variabilidad de la frecuencia cardiaca y gravedad del padecimiento.*

Los estudios de la variabilidad de la frecuencia cardiaca en fibromialgia sugieren una hiperactividad simpática que podría derivar en dolor crónico. Los neuropéptidos circulantes potencialmente asociados a disautonomía y dolor han sido poco investigados en esta entidad (110)(111). No hay estudios previos correlacionando simultáneamente los niveles de neuropéptidos con la variabilidad de la frecuencia cardiaca en fibromialgia. Así, nos propusimos determinar los niveles circulantes de neuropéptidos en mujeres con fibromialgia comparados con controles sanas y correlacionarlos con parámetros de HRV, microscopia confocal corneal y gravedad del padecimiento.

Para este sub-análisis, se utilizaron los registros electrocardiográficos ambulatorios de HRV de 24 horas en 23 mujeres con fibromialgia y 15 controles pareadas por edad e índice de masa corporal cuyas manifestaciones demográficas y clinimétricas se encuentran en la Tabla 14.

La beta-endorfina ($p$=0.028) y neurotensina ($p$=0.016) tuvieron niveles mayores en las pacientes con fibromialgia (Tabla 14). Ambos neuropéptidos correlacionaron negativamente con la desviación estándar de intervalos NN (Tabla 15, Figura 25), la correlación con la beta-endorfina fue de Rho = -0.527 (p = 0.025) y con la neurotensina de Rho = -0.648 (p < 0.003).

Aunque los niveles séricos de otros neuropéptidos no fueron significativamente diferentes entre pacientes y controles, alcanzaron correlaciones con los puntajes del cuestionario de impacto de fibromialgia revisado, la escala de distrés polisintomático y la encuesta de síntomas de neuropatía de fibras finas en las pacientes con fibromialgia (Tabla 16).

Tabla 14. Características clínicas de 23 pacientes con fibromialgia y 15 controles sanas incluidas en el análisis de neuropéptidos.

| | **Fibromialgia n = 23** | **Controles n = 15** | ***P*** |
|---|---|---|---|
| Edad (años) | 41 ± 8 | 40 ± 9 | 0.883 |
| Índice de masa corporal | 25 ± 3 | 26 ± 3 | 0.129 |
| Duración de la enfermedad (años) | 10 (5 - 16) | - | No aplica |
| Escala visual análoga de dolor generalizado | 74 (63 - 91) | 2 (0-5) | < 0.0001 |
| Puntos dolorosos | 17 (14 - 18) | 3 (1 - 6) | < 0.0001 |
| Índice de dolor generalizado | 14 ± 4 | 4 ± 4 | < 0.0001 |
| Escala de gravedad de los síntomas | 9 ± 2 | 3 ± 2 | < 0.0001 |
| Escala de distrés Polisintomático | 23 ± 5 | 8 ± 5 | < 0.0001 |
| Cuestionario revisado de impacto de la fibromialgia | 55 ± 21 | 5 ± 4 | < 0.0001 |
| Encuesta de síntomas de neuropatía de fibra fina | 37 ± 16 | 7 ± 5 | < 0.0001 |

Tabla 15. Niveles de neuropéptidos en fibromialgia y controles sanas.

| | **Fibromialgia n=23** | **Controles n=15** | ***P*** |
|---|---|---|---|
| AlfaMSH* | 79.32 ± 36.06 | 120.00 ± 204.43 | 0.483 |
| Endorfina* | 669.24 ± 186.28 | 541.71 ± 146.26 | 0.028 |
| Cortisol* | 92767.32 ± 40488.81 | 97927.93 ± 31183.00 | 0.420 |
| Neurotensina* | 156.23 ± 58.15 | 116.64 ± 47.93 | 0.016 |
| Orexina* | 613.56 ± 78.23 | 687.87 ± 357.68 | 0.810 |
| Oxitocina* | 94.85 ± 46.66 | 129.00 ± 113.31 | 0.148 |
| Sustancia P* | 25.07 ± 6.72 | 27.51 ± 13.73 | 0.853 |

* Niveles séricos en picogramos/mililitro.

Tabla 16. Correlaciones entre neuropéptidos y parámetros del dominio del tiempo de la variabilidad de la frecuencia cardiaca.

| Neuropéptido | Dominios del tiempo de la variabilidad de la frecuencia cardiaca | Rho de Spearman | *P* |
|---|---|---|---|
| Endorfina | SDNN noche | -0.527 | 0.025 |
| | SDANN noche | -0.513 | 0.030 |
| Neurotensina | SDNN 24 horas | -0.471 | 0.036 |
| | SDNN noche | -0.648 | 0.003 |
| | SDANN noche | -0.665 | 0.002 |
| | SDSD | -0.477 | 0.039 |
| | pNN50 | -0.468 | 0.043 |
| | RMSSD | -0.477 | 0.039 |

Tabla 17. Correlaciones entre neuropéptidos y escalas de síntomas en pacientes con fibromialgia.

| Neuropéptido | Escalas de síntomas | Correlación | *p* |
|---|---|---|---|
| Alfa MSH | FIQR | -0.614[§] | 0.002 |
| | PDS | -0.495[§] | 0.016 |
| | SNFF | -0.480[§] | 0.021 |
| Cortisol | PDS | -0.426[§] | 0.042 |
| Orexina | FIQR | -0.474[‡] | 0.030 |
| | SNFF | -0.512[‡] | 0.018 |
| Oxitocina | FIQR | -0.545[§] | 0.007 |
| | PDS | -0.452[§] | 0.031 |
| | SNFF | -0.494[§] | 0.017 |
| Sustancia P | FIQR | -0.561[§] | 0.007 |
| | PDS | -0.453[§] | 0.034 |
| | SNFF | -0.466[§] | 0.029 |

Rho: [§]Pearson, [‡]Spearman.

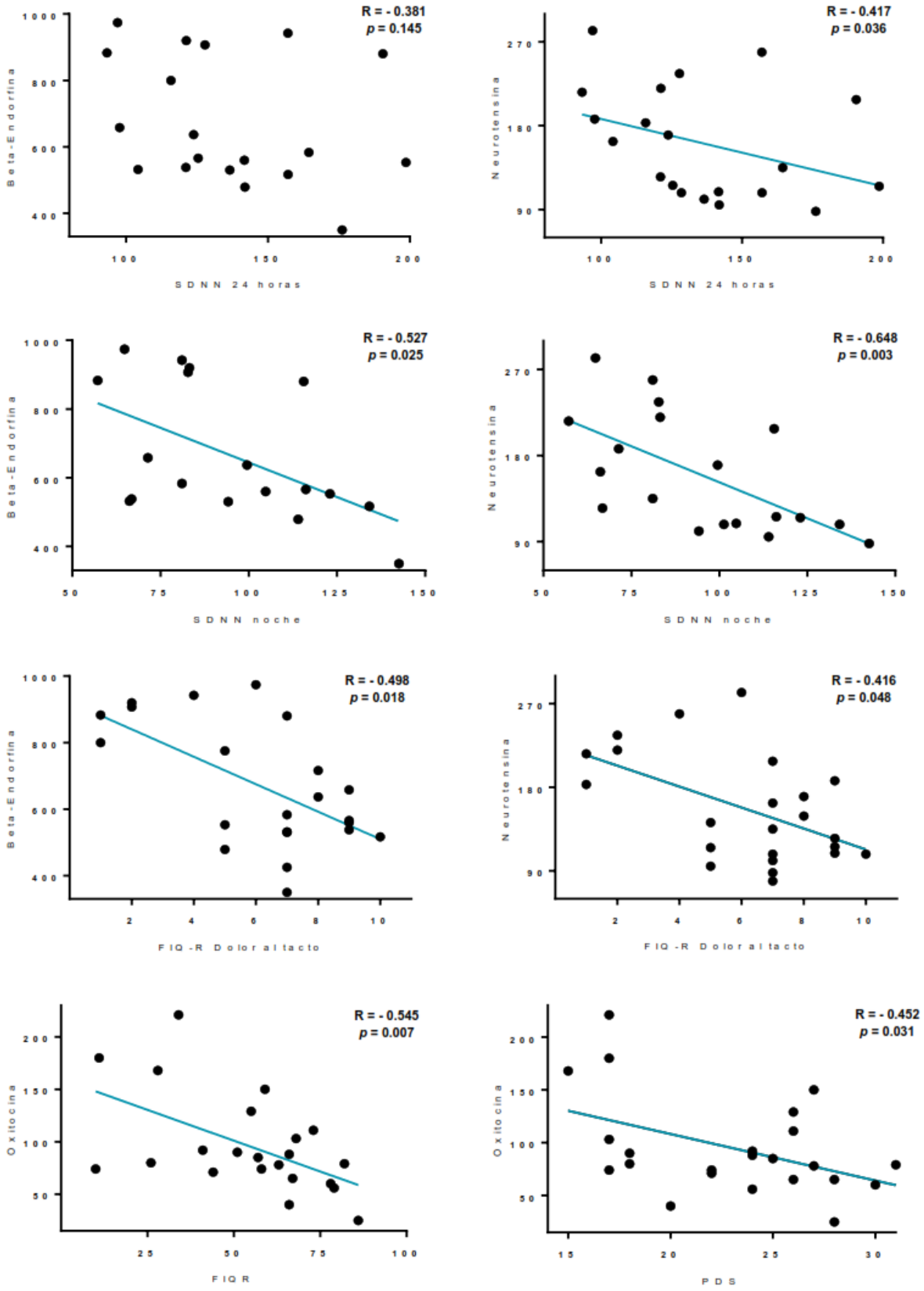



Figura 25. Diagramas de dispersión de correlaciones representativas de algunos neuropéptidos.

# 9. DISCUSIÓN

En la fibromialgia se ha postulado que el dolor es mantenido por un predomino del sistema nervioso simpático (9)(112) y en más de la mitad de estas pacientes se ha confirmado la presencia de neuropatía de fibra fina (26). La variabilidad de la frecuencia cardiaca medida por la desviación estándar de las diferencias sucesivas de los intervalos NN correlacionó negativamente (Rho=-0.650, *p*=0.001) con el dolor medido por el cuestionario de impacto de la fibromialgia(89). Se ha reportado que la densidad total del plexo nervioso corneal tiene tendencia de correlación negativa con el índice de dolor generalizado (Rho=-0.334, *p*=0.054) (113). Por ello, en este estudio la hipótesis de trabajo fue que habría una asociación positiva entre estos dos elementos objetivos de la fibromialgia que se encuentran ambos casos relacionados de manera inversamente proporcional con sus síntomas. Este objetivo, primario no alcanzó a demostrarse en el presente trabajo. Si bien, todas las correlaciones calculadas no tuvieron significancia estadística, no se puede negar categóricamente que no existen dado que no se alcanzó el número de muestra necesaria para detectar correlaciones menores a 0.525 de acuerdo con el cálculo de poder estadístico *post hoc*. Para poder observar correlaciones de esa magnitud y hasta 0.350 se requiere una n entre 19 y 49 con un poder estadístico del 80% y un valor de alfa de 0.05 con hipótesis unilateral (94). La primera evidencia de alteraciones en la microscopia confocal corneal en pacientes con fibromialgia fue informada por nuestro grupo de investigación (25) y posteriormente confirmada por un grupo holandés (114), que propone hay algunos fenotipos de fibromialgia en que puede ser más evidente. Podría ser que en nuestro grupo de pacientes seleccionados con alta probabilidad de fibromialgia corresponda a un tipo fenotípico en donde no se observa esta correlación, sin embargo, es poco probable ya que la mayoría de nuestras participantes, el 68% tienen nervios delgados y el 93% de ellas tienen densidad del plexo nervioso anterior corneal disminuida de acuerdo a nuestro estudio previo (25). La población de pacientes con fibromialgia en este estudio tiene gran validez interna debido al escrupuloso proceso de escrutinio para evitar otras causas posibles de neuropatía pero sacrifica la validez externa dada la extensa comorbilidad de fibromialgia con otras enfermedades en la población general (115). La cuidadosa selección de este grupo de pacientes con fibromialgia permitió evitar la influencia de condiciones concomitantes como resistencia a la insulina, obesidad, enfermedades endocrinas y

autoinmunes sistémicas consideradas variables de confusión al medir el grosor y densidad del plexo nervioso anterior. Precisamente, en el estudio Erkan-Turan E. y colaboradores, a pesar de controlar la edad no se controló el índice de masa corporal permitiendo pacientes de hasta con 44 de índice de masa corporal (113). Se ha reportado que diabetes mellitus de reciente diagnóstico (116), síndrome metabólico, hipertensión y obesidad son factores asociados a neuropatía de fibras finas (117), por ello se decidió excluir pacientes de estas y otras características en nuestro proyecto.

A pesar de tener una tasa de reclutamiento (1 a 2 participantes por semana) menor a lo proyectado (4 a 6 pacientes por semana), la velocidad de reclutamiento y el número de participantes incluidas en nuestras condiciones operativas es congruente con lo reportado en la literatura. MurMartí y colaboradores publicaron en 2017 las características de 235 pacientes diagnosticadas con fibromialgia consecutivas en centros de primer nivel de atención cuyo reclutamiento duró 2 años. Ellos reportaron que el 97% de sus participantes son de sexo femenino, el promedio de edad fue de 54 años, sólo el 6% no tenían ninguna otra comorbilidad asociada y el 3% no tenía ningún tratamiento farmacológico (118). Otra serie grande de pacientes, 509 participantes con fibromialgia reportada por Bilge y colaboradores, reporta que de esos pacientes el 90% fueron mujeres con edad promedio de 50 ± 10 años, el 68% tenían al menos una comorbilidad y/o enfermedad mientras que el 32% no tenían enfermedad comórbida. Entre aquellos con enfermedades comórbidas hasta el 43% tenían alguna enfermedad y con un gradiente de efecto al reportar que 2.6% tenían hasta 4 enfermedades concomitantes a la fibromialgia. Las condiciones nosológicas más comunes fueron las enfermedades cardiovasculares en 37%, seguidas de padecimientos endocrinos en 31%, reumatológicos en 12% y neurológicos en 6% (119). Esto refleja el reto que ha sido incluir pacientes con la forma “primaria aislada” de la fibromialgia en menores de 50 años de edad, y que además, tengan un índice de masa corporal menor a 30 sin comorbilidades ni fármacos concomitantes. Es decir, en 2 años ellos habrían reclutado sólo 14 a 15 pacientes de nuestras características. Nosotros incluimos a 11.4% pacientes de 403 evaluaciones de pre-escrutinio sin comorbilidades de acuerdo con nuestros criterios de exclusión. Además, otro reto durante el reclutamiento lo constituyó el hecho de que las participantes aceptaron acudir a 3 citas mínimo, las cuales eran necesarias para tener por cada participante las mediciones de holter

de 24 horas ambulatorio, muestra biológica para la medición de neuropétidos séricos y parámetros de microscopia confocal corneal.

El porcentaje de pacientes con fibromialgia en los que se detectan alteraciones compatibles con neuropatía de fibra fina es mayor cuando se estudian con microscopía confocal corneal que lo que reportan los estudios de biopsias de piel, 59% (42-78%) vs 45% (32-59%) respectivamente (26). La encuesta de síntomas de neuropatía de fibra fina fue propuesta a partir de los síntomas de pacientes con neuropatía de fibra fina en biopsias (98). Las pacientes con fibromialgia que tienen objetivamente datos de neuropatía de fibra fina en sus biopsias de piel muestran significativamente puntajes más elevados en la pregunta de parestesias (99). Interesantemente, los síntomas de disautonomía evaluados con el cuestionario COMPASS31 tienen un buen desempeño en pacientes con neuropatía de fibra fina en biopsia de piel y se recomienda como escrutinio inicial antes de realizar otras evaluaciones más invasivas en neuropatía de fibra fina (29). Es por ello que nos propusimos determinar también las correlaciones entre las mediciones de la microscopía confocal corneal y la encuesta de síntomas de neuropatía de fibra fina. Treister y colaboradores reportan una buena validez convergente de la biopsia de piel con el COMPASS31 con un punto de corte óptimo de 30 en puntaje (sensibilidad 74%, especificidad 73%) y considera un puntaje de 10 como punto de corte para escrutinio de neuropatía de fibra fina validada con biopsia de piel (sensibilidad 92%, especificidad 37%) (29). En nuestro estudio se encontraron correlaciones buenas entre la densidad corneal medida en número de nervios por $mm^2$ de superficie del plexo nervioso anterior corneal y los puntajes de la encuesta de síntomas de neuropatía de fibra fina de 32 preguntas (Rho=-0.771, $p$=0.002) y el cuestionario de síntomas autonómicos COMPASS31 (Rho=-0.648, $p$=0.017) pero sólo cuando se controla excluyendo a las pacientes que tienen síntomas graves de depresión y ansiedad. La encuesta de síntomas de neuropatía de fibra fina de 22 preguntas y el dominio de general del cuestionario de impacto de la fibromialgia también tuvieron correlaciones significativas de Rho=-0.589 ($p$=0.034) y Rho=-0.701 ($p$=0.008) en las pacientes sin impacto psicológico grave pero igualmente desaparecen en las pacientes con síntomas de depresión y/o ansiedad grave.

Además de las altas frecuencias de depresión y ansiedad en fibromialgia, existe un fenómeno bidireccional, por lo menos confirmado para depresión, respecto al desarrollo de fibromialgia a partir de depresión y de depresión a partir de fibromialgia. El riesgo de desarrollar fibromialgia

con diagnóstico previo de depresión es de 6.28 (5.67-6.96) veces y el riesgo de desarrollar depresión con diagnóstico previo de fibromialgia es de 7.46 (IC95% 6.77-8.22) (120). La depresión y la ansiedad tienen síntomas similares a los de la fibromialgia y disautonomía que en el contexto de ser enfermedades concomitantes a fibromialgia influyen en los puntajes de las principales herramientas clinimétricas de fibromialgia que podrían explicar el comportamiento de las correlaciones que se observan en este estudio.

Por otro lado, un hallazgo interesante fue que existen algunas correlaciones entre las principales herramientas clinimétricas específicas para evaluar los múltiples síntomas de la fibromialgia y la encuesta de síntomas de neuropatía de fibras finas. Como era de esperarse, esas múltiples correlaciones entre los síntomas de la fibromialgia, síntomas autonómicos y síntomas de neuropatía de fibra fina fueron positivas. En nuestro estudio encontramos una buena correlación entre la encuesta de síntomas de neuropatía de fibras finas y COMPASS31 (Rho=0.658, $p$<0.0001), así como, con el cuestionario revisado de impacto de la fibromialgia (Rho=0.639, $p$<0.0001) y la escala de distrés polisintomático (Rho=0.571, $p$<0.0001). Con base en estos resultados proponemos que la encuesta de síntomas de neuropatía de fibras finas tiene buena correlación positiva con las herramientas clinimétricas previamente estandarizadas para la evaluación de los síntomas de fibromialgia.

Los neuropéptidos ejercen un amplio espectro de funciones biológicas, que incluyen la regulación de múltiples procesos del metabolismo, reproducción e inmunidad. El estrés crónico afecta la homeostasis de varios órganos e induce alteraciones asociadas al estrés. En un modelo múrido usando como una condición de estrés continuo se mantuvieron ratas Sprague–Dawley en una jaula llena de agua a una altura de 1,5 cm durante un máximo de 5 días que también condiciona la deprivación de sueño. En este modelo se observó que se induce una deprivación de dopamina sostenida por el estrés crónico que retroalimenta la sobreproducción de la $\alpha$-MSH de las células melanotróficas con su subsecuente degeneración en la glándula pituitaria (121). Bajo este supuesto, se determinó que los niveles séricos de $\alpha$-MSH se encuentran elevados en pacientes con síndrome de fatiga crónica (122). Nuestro estudio, es el primer trabajo en donde se reportan los niveles séricos de $\alpha$-MSH en pacientes con fibromialgia. En nuestras pacientes no se observa elevación tal como en el síndrome de fatiga crónica. Por el contrario, aparenta ser menor en el grupo de fibromialgia, pero no es diferente estadísticamente significativo respecto a los controles pareados por edad e índice de masa

corporal. La fibromialgia y el síndrome de fatiga crónica a pesar de compartir algunos síntomas como la fatiga, alteraciones del sueño y mala calidad de vida en general de las mujeres que la padecen, son entidades diferentes cuyo marcador distintivo es el dolor crónico generalizado característico de fibromialgia (9). De hecho, de acuerdo a la propuesta de que el dolor en fibromialgia es mantenido simpáticamente, se apoya a que son entidades diferentes con respuesta diferente del sistema nervioso autónomo, el cual se encuentra más alterado en fibromialgia que en el síndrome de fatiga crónica (123).

La beta-endofina es un neuropéptido con un efecto analgésico potente que es producido en la glándula pituitaria y ejerce su acción a través de receptores opioides a distancia, produce analgesia inhibiendo el disparo de las fibras somatosensoriales periféricas (124). En otro estudio, Khedr EM y colaboradores encontraron correlaciones negativas entre los niveles séricos de beta-endorfina y puntajes de las calificaciones de escalas clinimétricas de pacientes con fibromialgia cuando se sometieron a tratamiento experimental con estimulación eléctrica trascraneal (125), lo que concuerda con nuestros hallazgos de correlación negativa con la sensibilidad al tacto pues reportaron que los síntomas disminuyen los niveles séricos de beta-endorfina aumentan. Estos hallazgos son contrarios a lo que esperamos pues al ser una enfermedad con dolor crónico esperábamos que los niveles de beta-endorfina estuvieran disminuidos como una explicación de una falla en el sistema analgésico endocanabinoide y por el contrario nosotros encontramos que son más elevados sus niveles séricos en el grupo de pacientes con fibromialgia. Este hallazgo paradójico podría derivar del hecho de que el sistema opioide endógeno se encuentre constantemente activado como mecanismo de defensa ante el dolor crónico, pero más estudios son necesarios para esclarecer este punto.

El eje hipotalámico-pituitario-suprarrenal junto con el locus coeruleus-sistema simpático nervioso es el principal sistema de respuesta al estrés del organismo (126). El cortisol es la principal hormona que se libera de la glándula suprarrenal debido al estrés. D´Ocasar y colaboradores realizaron un meta-análisis para determinar la asociación entre el dolor en fibromialgia y los niveles séricos de cortisol, debido a la variabilidad de los estudios y mediciones aún no es posible establecer su asociación definitiva (127). En nuestro estudio, inclusive controlamos la toma matutina de la muestra sanguínea y no se observaron diferencias en los niveles séricos entre pacientes y controles.

La neurotensina es un neuropéptido que permite la modulación de la excitabilidad neuronal a nivel de la sinapsis tanto en ganglios basales como otros núcleos cerebrales mediante cascadas de señalización intracelular mediadas por sus 4 tipos de receptores. Dependiendo de la región del cerebro, la neurotensina puede alterar la liberación de glutamato, ácido gamma amino butírico, norepinefrina o dopamina. Además, la neurotensina puede favorecer la liberación de endocanabinoides a través de sus receptores o indirectamente modulando la señalización en receptores D2 de glutamato metabotrópicos, así, con la actividad endocannabinoide finalmente se causa una depresión a largo plazo neurotransmisión de glutamato. La señalización por neurotensina permite el control específico de entrada de los comportamientos relacionados con la recompensa, el control del dolor, cáncer, inflamación, enfermedad de Alzheimer, obesidad, ansiedad y comportamientos relacionados con la recompensa (128). Es de esperarse en este sentido sinérgico, que en nuestro estudio que tanto neurotensina como beta-endorfina se encuentren elevadas en las participantes con fibromialgia en comparación con las mujeres controles sanas.

La orexina se ha involucrado en el comportamiento de apetito por regulación en la conducta alimentaria, el metabolismo energético, el ciclo de sueño y vigilia y procesos de transmisión nociceptiva. Previamente ha sido reportado que no hay diferencias entre pacientes con fibromialgia y controles sanos en líquido cefalorraquídeo (129), en nuestro estudio tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas en este neuropétido en suero.

La función más estudiada de la oxitocina es durante el embarazo, la lactancia, los comportamientos maternos, en los procesos de reconocimiento social que unen mediante confianza y reducción de la ansiedad a un grupo, así como, recientemente se ha reportado que también inhibe la transmisión del dolor a nivel periférico espinal y supraespinal (130). Nosotros no observamos diferencias entre nuestras participantes con fibromialgia y las mujeres sanas controles.

La substancia P tiene un papel en la neurotransmisión del dolor desde la periferia al sistema nervioso central. A pesar de que se ha encontrado alterada la sustancia P en líquido cefalorraquídeo de pacientes con fibromialgia con asociación débil a puntos dolorosos (35) y no en pacientes con fatiga crónica (36), en nuestro estudio no encontramos diferencias significativas en los niveles séricos.

Es de llamar la atención que sustancias con asociación ya conocida a dolor en fibromialgia como cortisol y sustancia P tengan una correlación inversa. Una posible explicación es el efecto residual de los medicamentos que ameritaron un periodo de lavado dado que no son diferentes sus niveles a los controles sanos, pero puede influir también el hecho de que en estas pacientes se encuentran con niveles estadísticamente no diferentes de los controles y no se observan las correlaciones aún. Otra posible explicación, es que estas asociaciones son el reflejo el esfuerzo del organismo como una compensación de los mecanismos inhibitorios del dolor crónico, pero determinar ese punto escapa en este momento a los objetivos de este trabajo.

La asociación entre los neuropéptidos y la variabilidad de la frecuencia cardiaca ha sido poco estudiada. El neuropéptido Y es un neurotransmisor liberado principalmente por neuronas simpatéticas y se ha colocalizado con liberación de norepinefrina, se asocia aI dolor pero también a su disminución. El único antecedente a la fecha corresponde al trabajo de Di Franco and colaboradores (111). Ellos reportaron niveles de neuropéptido Y mayores en pacientes con fibromialgia que en controles y pacientes con esclerosis sistémica con una correlación de los niveles séricos de Neuropéptido Y con SDANN ($p=0.009$) y pNN50 ($p=0.020$). Este es hasta el momento el único neuropéptido estudiado en relación con la variabilidad de la frecuencia cardiaca, pero no reporta la magnitud de la correlación sólo los valores de significancia estadística. En nuestro estudio buscamos correlaciones entre los parámetros del dominio de tiempo de la variabilidad de la frecuencia cardiaca y los diferentes neuropétidos, en especial aquellos que mostraron diferencias significativas entre pacientes y controles. Para el caso de la beta-endorfina se observó correlación negativa con SDNN durante las horas de sueño, pero no en los registros de 24 horas. La neurotensina mostró correlaciones negativas tanto en 24 como en 12 horas. Por otro lado, respecto a los síntomas de fibromialgia, tanto la beta-endorfina como la neurotensina también mostraron correlaciones negativas con la sensibilidad al tacto reportada en el FIQR.

Cabe señalar que tanto los niveles séricos de neuropéptidos como la variabilidad de la frecuencia cardiaca se tratan de variables duras por lo que estas mediciones objetivas ayudan a evidenciar las alteraciones de la fibromialgia y constituyen la mayor fortaleza de este estudio a pesar de los retos que implicó la selección cuidadosa de los pacientes ya que se deben de tener en cuenta la amplia gama de comorbilidades de las pacientes con fibromialgia.

La principal limitación para el objetivo principal de este estudio es el número de muestra que no se pudo alcanzar para las correlaciones entre la microscopia confocal corneal y la variabilidad de la frecuencia cardiaca. Por el contrario, la fortaleza más relevante justo es el control de las variables de confusión en características demográficas como edad e índice de masa corporal y comorbilidades, específicamente en el sub-análisis de la correlación de la densidad corneal y los síntomas de neuropatía de fibra fina con el control de los síntomas de depresión o ansiedad graves a que estos en forma leve frecuentemente se asocian a fibromialgia. Este sub-análisis se informó en una primera publicación indexada (108). Otra limitación fue que el Kit de neuropéptidos no incluye la determinación de Neuropéptido Y pero por el contrario fue accesible la medición de los otros 7 neuropéptidos. El reto más imponente y desafío operativo fue la actual pandemia de Covid19. Una vez que inició el confinamiento por la pandemia fue imposible reiniciar los estudios de este proyecto por lo que se cerró el reclutamiento de participantes hasta donde previamente se tenía un corte de información y procedimientos, el 13 de diciembre de 2019. En México el 28 de febrero de 2020 se declaró el primer caso de Covid19 y el 11 de marzo de 2020 se declaró pandemia por la Organización Mundial de la Salud. Desde entonces, nos encontramos sometidos a estrés colectivo y surgió la oportunidad de repetir cuestionarios validados de síntomas de fibromialgia a todas las participantes de en julio y agosto de 2020 para evaluarlas vía telefónica. Esta información dio lugar a una publicación indexada relacionada a este trabajo de investigación a pesar de no ser formalmente considerado un objetivo secundario al momento de la concepción de este estudio (109).

En los próximos años habrá más avances en la etiopatogenia de la fibromialgia, de tal manera que dejará de ser un padecimiento de manifestaciones subjetivas. Por el contrario, hay reciente e interesante evidencia de las alteraciones que son responsables de los mecanismos del dolor fibromiálgico que validan los múltiples síntomas que sufren estas pacientes.

# 10. CONCLUSIONES

No es posible afirmar categóricamente que hay o no asociación de la variabilidad de la frecuencia cardiaca y las mediciones de microscopia confocal corneal con la muestra de nuestro estudio. Sin embargo, la tendencia estadística de los resultados sugiere que podría ser una correlación positiva de acuerdo a la plausibilidad biológica pues en ambas variables la disminución de su magnitud se asocia a gravedad de los síntomas de fibromialgia.

Se describe por primera vez la correlación entre la alteración anatómica de los nervios sensitivos corneales con la gravedad de síntomas de neuropatía de fibra fina en pacientes con fibromialgia. Esta correlación se pierde cuando hay impacto psicológico grave. La microscopía confocal corneal podría constituir una prueba no invasiva diagnóstica para pacientes con fibromialgia sin impacto psicológico grave.

La encuesta de síntomas de neuropatía de fibras finas tiene buena correlación con las herramientas clinimétricas previamente estandarizadas para la evaluación de los síntomas de fibromialgia primaria, aun cuando se excluyen otras comorbilidades que podrían generar síntomas de neuropatía de fibras finas.

Los parámetros de variabilidad de la frecuencia cardíaca que sugieren hiperactividad simpática se correlacionan con los niveles circulantes de beta-endorfina y neurotensina en pacientes con fibromialgia. Así, las alteraciones de los neuropéptidos y los parámetros de la variabilidad de la frecuencia cardiaca en asociación, podrían participar sinérgicamente en los mecanismos del dolor y la disautonomía en la fibromialgia. La investigación futura definirá las posibles implicaciones clínicas de este nuevo hallazgo.

## 11. PUBLICACIONES

1) Los resultados preliminares de la correlación de los síntomas de neuropatía de fibra fina con la densidad del plexo nervioso anterior corneal (objetivo secundario 2a) dio origen a una publicación en una revista indexada cuyo primer autor se asignó al evaluador experto en microscopia confocal corneal, y la sustentante como correspondiente, a continuación se cita:

*Ramírez M, Guerra-Juárez A, Miyake DY, Sebastian-Arellano C, Estrada-Mata AG, González-Moyotl NJ, Rodríguez-Aguayo AM, Martínez-Lavin M, Martínez-Martínez LA. Correlation Between Corneal Nerve Density and Symptoms of Small Fiber Neuropathy in Patients With Fibromyalgia: The Confounding Role of Severe Anxiety or Depression. J Clin Rheumatol. 2020 Oct 10. doi: 10.1097/RHU.0000000000001592. Epub ahead of print. PMID: 33044388.*

2) Los resultados de la comparación de las encuestas de escrutinio de este estudio antes y después de iniciada la pandemia por Covid19 permitió otra publicación indexada que a poco tiempo de ser publicada ha sido multicitada. La actual sustentante de grado, también ocupo el lugar como autor correspondiente, se cita a continuación:

*Batres-Marroquín AB, Medina-García AC, Vargas Guerrero A, Barrera-Villalpando MI, Martínez-Lavín M, Martínez-Martínez LA. Effect of COVID-19 Pandemic Lockdown on Fibromyalgia Symptoms. J Clin Rheumatol. 2020 Dec 1. doi: 10.1097/RHU.0000000000001685. Epub ahead of print. PMID: 33264250.*

3) La actualización de conceptos para constituir el marco teórico de la presente tesis dio origen a la conformación de un capítulo de libro dirigido a otros médicos especialistas

no reumatólogos, médicos generales y estudiantes de pregrado como material de consulta. A continuación se encuentra la cita correspondiente:

*Martínez-Martínez LA (2017) Capitulo 39 Síndromes de dolor generalizado Fibromialgia. En: Miranda Limón JM (Ed) Reumatología en la Clínica General Fundamentos del Diagnóstico y la Terapéutica, Ciudad de México, México, Comexfarma de México SA de CV.*

*ISBN: 978-607-96583-4-2*

## 12. DIFUSIÓN DE RESULTADOS EN CONGRESOS

Cabe señalar que resultados parciales de los objetivos secundarios dieron lugar a dos trabajos en formato de cartel que se presentó en el 47° Congreso Mexicano de Reumatología en febrero de 2019 en la modalidad de Cartel:

1. Aplicación de la Encuesta de Neuropatía de Fibras Finas en fibromialgia
2. Neuropéptidos y variabilidad de la frecuencia cardiaca en fibromialgia

Al año siguiente se presentaron en sesión plenaria en el 48° Congreso Mexicano de Reumatología en febrero de 2020 los datos de asociación entre microscopia confocal corneal y síntomas de neuropatía de fibra fina en sesión plenaria:

1. Correlación entre síntomas de neuropatía de fibras-finas y microscopia corneal

Los resultados de la medición de neuropéptidos fueron aceptados también en la reunión científica anual del American College of Rheumatology en noviembre de 2019:

2. Correlation Between Heart Rate Variability Parameters and Circulating Neuropeptides in Fibromyalgia

Las cartas de aceptación se encuentran en el anexo 6.

## 13. DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

La alumna sustentante y el comité tutor, así como los investigadores asociados, no tienen ningún conflicto de interés en el este estudio motivo del presente trabajo de tesis.

# 14. PATROCINADORES

Este estudio se realizó con fondos propios de los departamentos de las instituciones involucradas mencionadas a continuación:

Departamento de Reumatología

Contribución: Escalas para síntomas, valoraciones clínicas y reclutamiento de pacientes

Ubicación: Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

Recursos humanos:

Dr. Manuel Martínez-Lavín

Dra. Laura Aline Martínez Martínez

Departamento de Instrumentación.

Contribución: Holter DMS-307 (DMS Inc.) y software especializado para el análisis de variabilidad de la frecuencia cardiaca en el Holter de 24 horas.

Ubicación: Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

Recursos humanos:

Biol. Oscar Infante Vázquez

Dra. Claudia Lerma González

Servicio de Cornea

Contribución: Microscopio confocal CONFOSCAN4 (ConfoScan, Fortune Technologies, Artigianato, Italia)

Ubicación: Hospital Dr. Luis Sánchez Bulnes de la Asociación para Evitar la Ceguera en México

Recurso humano:

Dr. Manuel Ramírez Fernández

Laboratorio de Investigación en Enfermedades Reumáticas

Contribución: Medición de neuropéptidos séricos (7-Plex Human Neuropeptide Magnetic KitMilliplex)

Ubicación: Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.

Recurso humano:

Dra. María del Carmen Navarro González

Dr. Alfonso Salgado Aguayo

Dr. Daniel Paz Gómez

Los costos aproximados de cada procedimiento de manera unitaria, el total por procedimiento y global total de este estudio se muestran esquemáticamente en la Figura 26.

Figura 26. Costo aproximado de procedimientos.

Los procedimientos del estudio no constituyeron ningún cargo a las participantes. Para la estimación del valor económico de este estudio, se consideró el costo del tabulador de precios del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez para el holter y la consulta de especialidad de Reumatología con clasificación socioeconómica 7 que es la que se aplica a los proyectos patrocinados por la industria farmacéutica en 2020. El costo de la microscopia confocal corneal no se encuentra disponible ya que el equipo sólo se reserva para investigación. Sin embargo, se consideró el equivalente de una consulta de sub-especialidad en España con un equipo similar para la estimación del costo del procedimiento en 2018 en http://www.eloftalmologo.com/tarifas.asp (consulta de sub-especialidad oftalmológica €160). Esta estimación global no incluye las consultas de cortesía para revisión de paraclínicos o laboratorios de las participantes, o bien, otros procedimientos de pre-escrutinio. Tampoco se incluyen los estudios de microcoscopia confocal corneal que, si fueron realizados pero que no se tienen mediciones validadas para incluirlos en el análisis final, ni los estudios de holter que tuvieron pérdida de más del 10% de los datos del registro.

# 15. BIBLIOGRAFÍA


1. Clauw DJ, D'Arcy Y, Gebke K, Semel D, Pauer L, Jones KD. Normalizing fibromyalgia as a chronic illness. Vol. 130, Postgraduate Medicine. 2018.
2. Martínez-Lavín M, Hermosillo AG, Mendoza C, Ortiz R, Cajigas JC, Pineda C, et al. Orthostatic sympathetic derangement in subjects with fibromyalgia. J Rheumatol. 1997;24(4).
3. Martínez-Lavín M, Hermosillo AG. Autonomic nervous system dysfunction may explain the multisystem features of fibromyalgia. Vol. 29, Seminars in Arthritis and Rheumatism. 2000.
4. Martínez-Lavin M, López S, Medina M, Nava A. Use of the leeds assessment of neuropathic symptoms and signs questionnaire in patients with fibromyalgia. Semin Arthritis Rheum. 2003;32(6).
5. Talotta R, Bazzichi L, Di Franco M, Casale R, Batticciotto A, Gerardi MC, et al. One year in review 2017: Fibromyalgia. Clin Exp Rheumatol. 2017;35.
6. Atzeni F, Talotta R, Masala IF, Giacomelli C, Conversano C, Nucera V, et al. One year in review 2019: fibromyalgia. Vol. 37, Clinical and experimental rheumatology. 2019.
7. Bazzichi L, Giacomelli C, Consensi A, Giorgi V, Batticciotto A, Di Franco M, et al. One year in review 2020: Fibromyalgia. Vol. 38, Clinical and Experimental Rheumatology. 2020.
8. Alciati A, Nucera V, Masala IF, Giallanza M, La Corte L, Giorgi V, et al. One year in review 2021: Fibromyalgia. Vol. 39, Clinical and Experimental Rheumatology. 2021.
9. Martinez-Lavin M. Fibromyalgia: When distress becomes (Un)sympathetic pain. Pain Research and Treatment. 2012.
10. Siracusa R, Di Paola R, Cuzzocrea S, Impellizzeri D. Fibromyalgia: Pathogenesis, mechanisms, diagnosis and treatment options update. Vol. 22, International Journal of Molecular Sciences. 2021.
11. Jones GT, Atzeni F, Beasley M, Flüß E, Sarzi-Puttini P, Macfarlane GJ. The prevalence of fibromyalgia in the general population: A comparison of the American College of Rheumatology 1990, 2010, and modified 2010 classification criteria. Arthritis Rheumatol. 2015;67(2).

12. Alvarez-Nemegyei J, Peláez-Ballestas I, Sanin LH, Cardiel MH, Ramirez-Angulo A, Goycochea-Robles MV. Prevalence of musculoskeletal pain and rheumatic diseases in the southeastern region of Mexico. A COPCORD-based community survey. J Rheumatol. 2011;38(SUPPL. 86).
13. Peláez-Ballestas I, Alvarez-Nemegyei J, Loyola-Sánchez A, Escudero ML. Prevalence and factors associated with musculoskeletal disorders and rheumatic diseases in indigenous Maya-Yucateco people: a cross-sectional community-based study. Clin Rheumatol. 2016;35.
14. Sarzi-Puttini P, Giorgi V, Marotto D, Atzeni F. Fibromyalgia: an update on clinical characteristics, aetiopathogenesis and treatment. Nat Rev Rheumatol [Internet]. 2020 Oct 6; Available from: http://dx.doi.org/10.1038/s41584-020-00506-w
15. Clark P, Burgos-Vargas R, Medina-Palma C, Lavielle P, Franco Marina F. Prevalence of fibromyalgia in children: A clinical study of Mexican children. J Rheumatol. 1998;25(10).
16. Lacasse A, Bourgault P, Choinière M. Fibromyalgia-related costs and loss of productivity: A substantial societal burden. BMC Musculoskelet Disord. 2016;17(1).
17. Morales-Romero J, Cázares-Méndez JM, Gámez-Nava JI, Triano-Páez M, Villa-Manzano AI, López-Olivo MA, et al. La atención médica en reumatología en un hospital de segundo nivel de atención. Reumatol Clin. 2005;1(2).
18. Park D-J, Kang J-H, Yim Y-R, Kim J-E, Lee J-W, Lee K-E, et al. Exploring Genetic Susceptibility to Fibromyalgia. Chonnam Med J. 2015;51(2).
19. Vargas-Alarcón G, Fragoso JM, Cruz-Robles D, Vargas A, Martinez A, Lao-Villadóniga JI, et al. Association of adrenergic receptor gene polymorphisms with different fibromyalgia syndrome domains. Arthritis Rheum. 2009;60(7).
20. Vargas-Alarcon G, Alvarez-Leon E, Fragoso JM, Vargas A, Martinez A, Vallejo M, et al. A SCN9A gene-encoded dorsal root ganglia sodium channel polymorphism associated with severe fibromyalgia. BMC Musculoskelet Disord. 2012;13.
21. Shao J, Cao J, Wang J, Ren X, Su S, Li M, et al. MicroRNA-30b regulates expression of the sodium channel Nav1.7 in nerve injury-induced neuropathic pain in the rat. Mol Pain. 2016;12.
22. Cazzato D, Lauria G. Small fibre neuropathy. Current Opinion in Neurology. 2017.
23. Oaklander AL, Herzog ZD, Downs HM, Klein MM. Objective evidence that small-fiber

polyneuropathy underlies some illnesses currently labeled as fibromyalgia. Pain. 2013;154(11).

24. Üçeyler N, Zeller D, Kahn AK, Kewenig S, Kittel-Schneider S, Schmid A, et al. Small fibre pathology in patients with fibromyalgia syndrome. Brain. 2013;136(6).
25. Ramírez M, Martínez-Martínez LA, Hernández-Quintela E, Velazco-Casapía J, Vargas A, Martínez-Lavín M. Small fiber neuropathy in women with fibromyalgia. An in vivo assessment using corneal confocal bio-microscopy. Semin Arthritis Rheum. 2015;
26. Grayston R, Czanner G, Elhadd K, Goebel A, Frank B, Üçeyler N, et al. A systematic review and meta-analysis of the prevalence of small fiber pathology in fibromyalgia: Implications for a new paradigm in fibromyalgia etiopathogenesis. Semin Arthritis Rheum. 2019;
27. Martínez-Lavín M, Hermosillo AG, Rosas M, Soto ME. Circadian studies of autonomic nervous balance in patients with fibromyalgia: A heart rate variability analysis. Arthritis Rheum. 1998;41(11).
28. Martinez-Lavin M, Vidal M, Barbosa RE, Pineda C, Casanova JM, Nava A. Norepinephrine-evoked pain in fibromyalgia. A randomized pilot studyISCRTN70707830. BMC Musculoskelet Disord. 2002;3.
29. Treister R, O'Neil K, Downs HM, Oaklander AL. Validation of the composite autonomic symptom scale 31 (COMPASS-31) in patients with and without small fiber polyneuropathy. Eur J Neurol. 2015;
30. Martinez-Lavin M. Biology and therapy of fibromyalgia. Stress, the stress response system, and fibromyalgia. Vol. 9, Arthritis Research and Therapy. 2007.
31. McEwen BS. Protective and Damaging Effects of Stress Mediators. N Engl J Med. 1998;338(3).
32. Martinez-Lavin M, Vargas A. Complex Adaptive Systems Allostasis in Fibromyalgia. Vol. 35, Rheumatic Disease Clinics of North America. 2009.
33. Morton DL, Sandhu JS, Jones AKP. Brain imaging of pain: State of the art. Vol. 9, Journal of Pain Research. 2016.
34. Russo AF. Overview of Neuropeptides: Awakening the Senses? Headache. 2017;
35. Russell IJ, Orr MD, Littman B, Vipraio GA, Alboukrek D, Michalek JE, et al. Elevated cerebrospinal fluid levels of substance p in patients with the fibromyalgia syndrome. Arthritis Rheum. 1994;

36. Evengard B, Nilsson CG, Lindh G, Lindquist L, Eneroth P, Fredrikson S, et al. Chronic fatigue syndrome differs from fibromyalgia. No evidence for elevated substance P levels in cerebrospinal fluid of patients with chronic fatigue syndrome. Pain. 1998;
37. Dotan I, Riesenberg K, Toledano R, Schlaeffer F, Smolyakov A, Saidel-Odes L, et al. Prevalence and characteristics of fibromyalgia among HIV-positive patients in southern Israel. Clin Exp Rheumatol. 2016;34.
38. Mohammad A, Carey JJ, Storan E, Scarry M, Coughlan RJ, Lee JM. Prevalence of fibromyalgia among patients with chronic Hepatitis C Infection: Relationship to viral characteristics and quality of life. J Clin Gastroenterol. 2012;46(5).
39. Wormser GP, Weitzner E, McKenna D, Nadelman RB, Scavarda C, Farber S, et al. Brief report: Long-term assessment of fibromyalgia in patients with culture-confirmed Lyme disease. Arthritis Rheumatol. 2015;67(3).
40. Martínez-Lavín M, Martínez-Martínez LA, Reyes-Loyola P. HPV vaccination syndrome. A questionnaire-based study. Clin Rheumatol. 2015;34(11).
41. Martinez-Lavin M, Tejada-Ruiz M. Gulf war illness, post-HPV vaccination syndrome, and Macrophagic Myofasciitis. Similar disabling conditions possibly linked to vaccine-induced autoimmune dysautonomia. Autoimmunity Reviews. 2020.
42. González-Hermosillo JA, Martínez-López JP, Carrillo-Lampón SA, Ruiz-Ojeda D, Herrera-Ramírez S, Amezcua-Guerra LM, et al. Post-acute covid-19 symptoms, a potential link with myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: A 6-month survey in a mexican cohort. Brain Sci. 2021;11(6).
43. Wolfe F, Clauw DJ, Fitzcharles MA, Goldenberg DL, Katz RS, Mease P, et al. The American College of Rheumatology preliminary diagnostic criteria for fibromyalgia and measurement of symptom severity. Arthritis Care Res. 2010;62(5).
44. Martíez-Lavín M, León A, Pineda C, Amigo MC, Hermosillo AG. The dysautonomia of fibromyalgia may simulate lupus. J Clin Rheumatol. 1999;5(6).
45. Herrero C, Guilabert A, Mascaró-Galy JM. Livedo reticularis de las piernas: Metodología de diagnóstico y tratamiento. Actas Dermosifiliogr. 2008;99(8).
46. Martínez-Martínez LA, Chacón-Pérez M M-LM. Significado clínico del livedo reticular en la fibromialgia. In: XLIV Congreso Mexicano de Reumatología. Reumatol Clin; 2016. p. 98–9.
47. Acasuso-Díaz M, Collantes-Estévez E. Joint hypermobility in patients with fibromyalgia

syndrome. Arthritis Rheum. 1998;11(1).

48. Vargas A, Vargas A, Hernández-Paz R, Sánchez-Huerta JM, Romero-Ramírez R, Amezcua-Guerra L, et al. Sphygmomanometry-evoked allodynia - A simple bedside test indicative of fibromyalgia: A multicenter developmental study. J Clin Rheumatol. 2006;12(6).
49. Inanici F, Yunus MB. History of fibromyalgia: Past to present. Vol. 8, Current Pain and Headache Reports. 2004.
50. Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, Bennett RM, Bombardier C, Goldenberg DL, et al. The american college of rheumatology 1990 criteria for the classification of fibromyalgia. Arthritis Rheum. 1990;33(2).
51. Wolfe F, Clauw DJ, Fitzcharles MA, Goldenberg DL, Häuser W, Katz RS, et al. Fibromyalgia criteria and severity scales for clinical and epidemiological studies: A modification of the ACR preliminary diagnostic criteria for fibromyalgia. J Rheumatol. 2011;38(6).
52. Wolfe F, Clauw DJ, Fitzcharles MA, Goldenberg DL, Häuser W, Katz RL, et al. 2016 Revisions to the 2010/2011 fibromyalgia diagnostic criteria. Semin Arthritis Rheum. 2016;
53. Bennett RM, Friend R, Jones KD, Ward R, Han BK, Ross RL. The revised fibromyalgia impact questionnaire (FIQR): Validation and psychometric properties. Arthritis Res Ther. 2009;
54. Arnold LM, Clauw DJ, McCarberg BH. Improving the recognition and diagnosis of fibromyalgia. Mayo Clinic Proceedings. 2011.
55. Ventura I, Reid P, Jan R. Approach to Patients with Suspected Rheumatic Disease. Vol. 45, Primary Care - Clinics in Office Practice. 2018.
56. Renaudineau Y, Jamin C, Saraux A, Youinou P. Rheumatoid factor on a daily basis. Autoimmunity. 2005;38(1).
57. Marin GG, Cardiel MH, Cornejo H, Viveros ME. Prevalence of antinuclear antibodies in 3 groups of healthy individuals: Blood donors, hospital personnel, and relatives of patients with autoimmune diseases. J Clin Rheumatol. 2009;15(7).
58. Cabiedes J N-ÁC. Anticuerpos antinucleares [Antinuclear antibodies]. Reum Clin. 2010;6(4):224–30.
59. Montoya P, Larbig W, Braun C, Preissl H, Birbaumer N. Influence of social support and

emotional context on pain processing and magnetic brain responses in fibromyalgia. Arthritis Rheum. 2004;50(12).

60. Akkaya N, Atalay NS, Selcuk ST, Alkan H, Catalbas N, Sahin F. Frequency of fibromyalgia syndrome in breast cancer patients. Int J Clin Oncol. 2013;18(2).
61. Dreyer L, Mellemkjaer L, Kendall S, Jensen B, Danneskiold-Samsøe B, Bliddal H. Increased cancer risk in patients referred to hospital with suspected fibromyalgia. J Rheumatol. 2007;34(1).
62. Martínez-Lavín M. Overlap of fibromyalgia with other medical conditions. Vol. 5, Current pain and headache reports. 2001.
63. Holton K. The role of diet in the treatment of fibromyalgia. Vol. 6, Pain management. 2016.
64. Macfarlane GJ, Kronisch C, Dean LE, Atzeni F, Häuser W, Flub E, et al. EULAR revised recommendations for the management of fibromyalgia. Ann Rheum Dis. 2017;76(2).
65. Martínez-Lavín M. Management of dysautonomia in fibromyalgia. Vol. 28, Rheumatic Disease Clinics of North America. 2002.
66. Ablin J, Fitzcharles MA, Buskila D, Shir Y, Sommer C, Häuser W. Treatment of fibromyalgia syndrome: Recommendations of recent evidence-based interdisciplinary guidelines with special emphasis on complementary and alternative therapies. Vol. 2013, Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. 2013.
67. Pagliai G, Giangrandi I, Dinu M, Sofi F, Colombini B. Nutritional interventions in the management of fibromyalgia syndrome. Vol. 12, Nutrients. 2020.
68. Häuser W, Clauw DJ, Fitzcharles MA. Treat-to-Target Strategy for Fibromyalgia: Opening the Dialogue. Vol. 69, Arthritis Care and Research. 2017.
69. Tzadok R, Ablin JN. Current and Emerging Pharmacotherapy for Fibromyalgia. Pain Res Manag. 2020;2020.
70. Arnold LM, Emir B, Murphy KT, Zeiher BG, Pauer L, Scott G, et al. Safety Profile and Tolerability of Up to 1 Year of Pregabalin Treatment in 3 Open-Label Extension Studies in Patients With Fibromyalgia. Clin Ther. 2012;34(5).
71. Lunn M, Hughes R, Wiffen P. Cochrane Library Cochrane Database of Systematic Reviews Duloxetine for treating painful neuropathy, chronic pain or fibromyalgia (Review). Cochrane Database Syst Rev. 2015;2014(1).

72. Clauw DJ, Mease P, Palmer RH, Gendreau RM, Wang Y. Milnacipran for the treatment of fibromyalgia in adults: A 15-week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-dose clinical trial. Clin Ther. 2008;30(11).
73. Chen X, Zou K, Abdullah N, Whiteside N, Sarmanova A, Doherty M, et al. The placebo effect and its determinants in fibromyalgia: meta-analysis of randomised controlled trials. Clin Rheumatol. 2017;36(7).
74. Häuser W, Bartram C, Bartram-Wunn E, Tölle T. Adverse events attributable to nocebo in randomized controlled drug trials in fibromyalgia syndrome and painful diabetic peripheral neuropathy: Systematic review. Vol. 28, Clinical Journal of Pain. 2012.
75. Bent S, Padula A, Moore D, Patterson M, Mehling W. Valerian for Sleep: A Systematic Review and Meta-Analysis. Vol. 119, American Journal of Medicine. 2006.
76. Shinjyo N, Waddell G, Green J. Valerian Root in Treating Sleep Problems and Associated Disorders—A Systematic Review and Meta-Analysis. Vol. 25, Journal of Evidence-Based Integrative Medicine. 2020.
77. Cases J, Ibarra A, Feuillère N, Roller M, Sukkar SG. Pilot trial of Melissa officinalis L. leaf extract in the treatment of volunteers suffering from mild-to-moderate anxiety disorders and sleep disturbances. Med J Nutrition Metab. 2011;4(3).
78. Walitt B, Klose P, Fitzcharles MA, Phillips T, Häuser W. Cannabinoids for fibromyalgia. Vol. 2016, Cochrane Database of Systematic Reviews. 2016.
79. Cameron EC, Hemingway SL. Cannabinoids for fibromyalgia pain: a critical review of recent studies (2015–2019). J Cannabis Res. 2020;2(1).
80. Løge-Hagen JS, Sæle A, Juhl C, Bech P, Stenager E, Mellentin AI. Prevalence of depressive disorder among patients with fibromyalgia: Systematic review and meta-analysis. Vol. 245, Journal of Affective Disorders. 2019.
81. Kayhan F, Küçük A, Satan Y, İlgün E, Arslan Ş, İlik F. Sexual dysfunction, mood, anxiety, and personality disorders in female patients with fibromyalgia. Neuropsychiatr Dis Treat. 2016;12.
82. Hadlandsmyth K, Dailey DL, Rakel BA, Zimmerman MB, Vance CGT, Merriwether EN, et al. Somatic symptom presentations in women with fibromyalgia are differentially associated with elevated depression and anxiety. J Health Psychol. 2020;25(6).
83. Jimenez-Rodríguez I, Garcia-Leiva JM, Jimenez-Rodriguez BM, Condés-Moreno E, Rico-Villademoros F, Calandre EP. Suicidal ideation and the risk of suicide in patients

with fibromyalgia: A comparison with non-pain controls and patients suffering from low-back pain. Neuropsychiatr Dis Treat. 2014;10.

84. McBeth J, Mulvey MR. Fibromyalgia: Mechanisms and potential impact of the ACR 2010 classification criteria. Vol. 8, Nature Reviews Rheumatology. 2012.
85. Martinez-Lavin M. Fibromyalgia as a sympathetically maintained pain syndrome. Vol. 8, Current Pain and Headache Reports. 2004.
86. Tavee J, Zhou L. Small fiber neuropathy: A burning problem. Vol. 76, Cleveland Clinic Journal of Medicine. 2009.
87. Arreola Ornelas H, Rosado Buzzo A, García L, Dorantes Aguilar J, Contreras Hernández I, Mould Quevedo JF. Cost-effectiveness Analysis of Pharmacologic Treatment of Fibromyalgia in Mexico. Reumatol Clínica (English Ed. 2012;8(3).
88. Malik M, John Camm A, Thomas Bigger J, Breithardt G, Cerutti S, Cohen RJ, et al. Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Circulation. 1996;
89. Lerma C, Martinez A, Ruiz N, Vargas A, Infante O, Martinez-Lavin M. Nocturnal heart rate variability parameters as potential fibromyalgia biomarker: Correlation with symptoms severity. Arthritis Res Ther. 2011;13(6).
90. Lerma C, Martinez-Martinez LA, Ruiz N, Vargas A, Infante O, Martinez-Lavin M. Fibromyalgia beyond reductionism. Heart rhythm fractal analysis to assess autonomic nervous system resilience. Scand J Rheumatol. 2016;45(2).
91. Wessel N, Voss A, Malberg H, Ziehmann C, Voss HU, Schirdewan A, et al. Nonlinear analysis of complex phenomena in cardiological data. Herzschrittmachertherapie und Elektrophysiologie. 2000;11(3).
92. Lerma C, Infante O, Pérez-Grovas H, José M V. Poincaré plot indexes of heart rate variability capture dynamic adaptations after haemodialysis in chronic renal failure patients. Clin Physiol Funct Imaging. 2003;23(2).
93. Müller LJ, Vrensen GFJM, Pels L, Cardozo BN, Willekens B. Architecture of human corneal nerves. Investig Ophthalmol Vis Sci. 1997;38(5).
94. Argimón Pallas JM and Jiménez Villa J. Métodos de investigación clínica y epidemiológica. Tercera. España: Elsevier; 2000. 140–150 p.
95. Sletten DM, Suarez GA, Low PA, Mandrekar J, Singer W. COMPASS 31: A refined and abbreviated composite autonomic symptom score. Mayo Clin Proc. 2012;

96. Suarez GA, Opfer-Gehrking TL, Offord KP, Atkinson EJ, O'Brien PC, Low PA. The autonomic symptom profile a new instrument to assess autonomic symptoms. Neurology. 1999;52(3).
97. López-de-Uralde-Villanueva I, Gil-Martínez A, Candelas-Fernández P, de Andrés-Ares J, Beltrán-Alacreu H, La Touche R. Validity and reliability of the Spanish-language version of the self-administered Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs (S-LANSS) pain scale. Neurologia. 2018;33(8).
98. Treister R, Lodahl M, Lang M, Tworoger SS, Sawilowsky S, Oaklander AL. Initial Development and Validation of a Patient-Reported Symptom Survey for Small-Fiber Polyneuropathy. J Pain. 2017;
99. Lodahl M, Treister R, Oaklander AL. Specific symptoms may discriminate between fibromyalgia patients with vs without objective test evidence of small-fiber polyneuropathy. Pain Reports. 2018;
100. Kroenke K, Spitzer RL, Williams JBW. The PHQ-9: Validity of a brief depression severity measure. J Gen Intern Med. 2001;
101. R L Spitzer, K Kroenke, Williams JBW, Lowe B. A Brief Measure for Assessing Generalized Anxiety Disorder. Arch Intern Med. 2006;
102. Herrero MJ, Blanch J, Peri JM, De Pablo J, Pintor L, Bulbena A. A validation study of the hospital anxiety and depression scale (HADS) in a Spanish population. Gen Hosp Psychiatry. 2003;
103. Yamamoto-Furusho JK, Sarmiento-Aguilar A, García-Alanis M, Gómez-García LE, Toledo-Mauriño J, Olivares-Guzmán L, et al. Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS): Validation in Mexican Patients with Inflammatory Bowel Disease. Gastroenterol Hepatol. 2018;
104. Hagströmer M, Oja P, Sjöström M. The International Physical Activity Questionnaire (IPAQ): a study of concurrent and construct validity. Public Health Nutr. 2006;9(6).
105. Medina C, Barquera S, Janssen I. Validity and reliability of the International Physical Activity Questionnaire among adults in Mexico. Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Heal. 2013;34(1).
106. Schaefer C, Chandran A, Hufstader M, Baik R, McNett M, Goldenberg D, et al. The comparative burden of mild, moderate and severe Fibromyalgia: Results from a cross-sectional survey in the United States. Health Qual Life Outcomes. 2011;9.

107. Herdman M, Badia X, Berra S. El EuroQol-5D: una alternativa sencilla para la medición de la calidad de vida relacionada con la salud en atención primaria. Atención Primaria. 2001;28(6).
108. Ramírez M, Guerra-Juárez A, Miyake DY, Sebastian-Arellano C, Estrada-Mata AG, González-Moyotl NJ, Rodríguez-Aguayo AM, Martínez-Lavin M M-M LA. Correlation Between Corneal Nerve Density and Symptoms of Small Fiber Neuropathy in Patients With Fibromyalgia: The Confounding Role of Severe Anxiety or Depression. J Clin Rheumatol [Internet]. 2020;Oct 10:1–3. Available from: 10.1097/RHU.0000000000001592
109. Batres-Marroquín AB, Medina-García AC, Vargas A, Barrera-Villalpando MI M-LM and M-ML. Effect of COVID-19 Pandemic Lockdown on Fibromyalgia Symptoms. J Clin Rheumatol [Internet]. 2020;0(0):1–3. Available from: 10.1097/RHU.0000000000001685
110. Yunus MB, Denko CW MA. Serum beta-endorphin in primary fibromyalgia syndrome: a controlled study. J Rheumatol. 1986;13(1):183–6.
111. Di Franco M, Iannuccelli C, Alessandri C, Paradiso M, Riccieri V, Libri F, et al. Autonomic dysfunction and neuropeptide Y in fibromyalgia. Clin Exp Rheumatol. 2009;
112. Martínez-Martínez LA, Mora T, Vargas A, Fuentes-Iniestra M, Martínez-Lavín M. Sympathetic nervous system dysfunction in fibromyalgia, chronic fatigue syndrome, irritable bowel syndrome, and interstitial cystitis: A review of case-control studies. Vol. 20, Journal of Clinical Rheumatology. 2014.
113. Turan KE, Kocabeyoglu S, Unal-Cevik I, Bezci F, Akinci A, Irkec M. Ocular surface alterations in the context of corneal in vivo confocal microscopic characteristics in patients with fibromyalgia. Cornea. 2018;
114. Oudejans L, He X, Niesters M, Dahan A, Brines M, Van Velzen M. Cornea nerve fiber quantification and construction of phenotypes in patients with fibromyalgia. Sci Rep. 2016;6.
115. Perrot S. Comorbid fibromyalgia : A qualitative review of prevalence and importance. 2018;22:1565–76.
116. Ziegler D, Papanas N, Zhivov A, Allgeier S, Winter K, Ziegler I, et al. Early detection of nerve fiber loss by corneal confocal microscopy and skin biopsy in recently diagnosed type 2 diabetes. Diabetes. 2014;63(7).
117. Zhou L, Li J, Ontaneda D, Sperling J. Metabolic syndrome in small fiber sensory

neuropathy. J Clin Neuromuscul Dis. 2011;12(4).

118. Mur Martí T, Llordés Llordés M, Custal Jordà M, López Juan G, Martínez Pardo S. Profile of patients with fibromyalgia being treated in primary care centers in Terrassa, a city in northeastern Spain. Reumatol Clin. 2017;13(5):252–7.
119. Bilge U, Sari YE, Balcioglu H, Sule N, Bilge Y, Kasifoglu T, et al. Prevalence of comorbid diseases in patients with fibromyalgia : A retrospective cross-sectional study. 2018;68(5):729–32.
120. Chang MH, Hsu JW, Huang KL, Su TP, Bai YM, Li CT, et al. Bidirectional Association between Depression and Fibromyalgia Syndrome: A Nationwide Longitudinal Study. J Pain. 2015;
121. Ogawa T, Shishioh-Ikejima N, Konishi H, Makino T, Sei H, Kiryu-Seo S, et al. Chronic stress elicits prolonged activation of α-MSH secretion and subsequent degeneration of melanotroph. J Neurochem. 2009;109(5):1389–99.
122. Shishioh-Ikejima N, Ogawa T, Yamaguti K, Watanabe Y, Kuratsune H, Kiyama H. The increase of alpha-melanocyte-stimulating hormone in the plasma of chronic fatigue syndrome patients. BMC Neurol. 2010;10.
123. Meeus M, Goubert D, De Backer F, Struyf F, Hermans L, Coppieters I, et al. Heart rate variability in patients with fibromyalgia and patients with chronic fatigue syndrome: A systematic review. Semin Arthritis Rheum. 2013;
124. Hartwig AC. Peripheral beta-endorphin and pain modulation. Anesthesia Progress. 1991.
125. Khedr EM, Omran EAH, Ismail NM, El-Hammady DH, Goma SH, Kotb H, et al. Effects of transcranial direct current stimulation on pain, mood and serum endorphin level in the treatment of fibromyalgia: A double blinded, randomized clinical trial. Brain Stimul. 2017;
126. Di Franco M, Iannuccelli C, Valesini G. Neuroendocrine immunology of fibromyalgia. Ann N Y Acad Sci. 2010;
127. Úbeda-D'Ocasar E, Jiménez Díaz-Benito V, Gallego-Sendarrubias GM, Valera-Calero JA, Vicario-Merino Á, Hervás-Pérez JP. Pain and Cortisol in Patients with Fibromyalgia: Systematic Review and Meta-Analysis. Diagnostics. 2020;
128. Tschumi CW, Beckstead MJ. Diverse actions of the modulatory peptide neurotensin on central synaptic transmission. European Journal of Neuroscience. 2019.

129. Taiwo OB, Russell IJ, Mignot E, Lin L, Michalek JE, Haynes W, et al. Normal cerebrospinal fluid levels of hypocretin-1 (orexin A) in patients with fibromyalgia syndrome. Sleep Med. 2007;
130. Gonzalez-Hernandez A, Charlet A. Oxytocin, GABA, and TRPV1, the analgesic triad? Frontiers in Molecular Neuroscience. 2018.

# 16. ANEXOS

# MILLIPLEX® MAP

## 7-Plex Human Neuropeptide Magnetic Kit
## 96-Well Plate Assay

## # SPR519

| TABLE OF CONTENTS | PAGE |
|---|---|
| Introduction | 2 |
| Principle | 3 |
| Storage Conditions Upon Receipt | 3 |
| Reagents Supplied | 4 |
| Materials Required But Not Provided | 5 |
| Safety Precautions | 5 |
| Technical Guidelines | 6 |
| Sample Collection And Storage | 7 |
| Sample Extraction | 8 |
| Preparation of Reagents for Immunoassay | 8 |
| Immunoassay Procedure | 11 |
| Plate Washing | 13 |
| Equipment Settings | 13 |
| Quality Controls | 15 |
| Assay Characteristics | 15 |
| Troubleshooting Guide | 16 |
| Replacement Reagents | 18 |
| Ordering Information | 19 |
| Well Map | 20 |

**FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES**

By purchasing this product, which contains fluorescently labeled microsphere beads authorized by Luminex Corporation ("Luminex"), you, the customer, acquire the right under Luminex's patent rights, if any, to use this product or any portion of this product, including without limitation the microsphere beads contained herein, only with Luminex's laser based fluorescent analytical test instrumentation marketed under the name of Luminex® 100™ IS, 200™, HTS, FLEXMAP 3D®, MAGPIX®.

## INTRODUCTION

The central nervous system is a complex environment consisting of billions of neurons as well as glial support cells. These neurons use many different chemical signals to communicate information, including neurotransmitters, cannabinoids, gases such as nitric oxide, and peptides. Neuropeptides are secreted primarily from the central and peripheral nervous systems, exerting a broad spectrum of biological functions that includes the regulation of metabolism, reproduction and immunity. In addition many neuropeptides can be associated with specific behaviors. For example, orexin activity has been linked to sleep and wakefulness, feeding and appetite and with the reward pathway, playing a role in addiction. Oxytocin is best known for the role it plays in pregnancy and maternal behaviors, but is also involved in social recognition, bonding, trust and anxiety.

Understanding neurobiology is fundamental in determining the pathogenesis of devastating neurodegenerative diseases such as Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Lewy Body Dementia. Accurate measurement of these neuropeptides is important. However, conventional methods, including RIAs and ELISAs, are not able to measure simultaneously multiple neuropeptides with small sample volume. EMD Millipore is the first to provide you with a multiplex kit for the study of neuropeptides. The Luminex® xMAP®-based MILLIPLEX® MAP Human Neuropeptide Magnetic Panel will enable you to understand better the complexities of the nervous system and the pathobiology of disease.

EMD Millipore's MILLIPLEX® Human Neuropeptide Magnetic Panel is to be used for the quantification of alpha-MSH, b-endorphin, neurotensin, orexin A, cortisol, oxytocin and substance P. This kit may be used for the analysis of all or any combination of the above analytes in tissue/cell lysate and culture supernatant samples and serum or plasma samples.

Magnetic Beads can make the process of automation and high throughput screening easier with features such as walk-away washing. Advantages even outside automation include:

- More flexible plate and plate washer options
- Improved performance with turbid serum/plasma samples
- Assay results equivalent to non-magnetic beads
- Automated washing eliminates technical obstacles (i.e., clogging of wells that contain viscous samples) which may result during vacuum manifold/manual washing

Coupled with the Luminex® xMAP® platform in a **magnetic bead** format, you receive the advantage of ideal speed and sensitivity, allowing quantitative multiplex detection of analytes simultaneously, which can dramatically improve productivity.

***For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.***

***Please read entire protocol before use.***

***It is important to use same assay incubation conditions throughout your study.***

## PRINCIPLE

MILLIPLEX® MAP is based on the Luminex® xMAP® technology — one of the fastest growing and most respected multiplex technologies offering applications throughout the life-sciences, and is capable of performing a variety of bioassays including immunoassays on the surface of fluorescent-coded magnetic beads known as MagPlex®-C microspheres.

- Luminex uses proprietary techniques to internally color-code microspheres with two fluorescent dyes. Through precise concentrations of these dyes, 100 distinctly colored bead sets can be created, each of which is coated with a specific capture antibody.
- After an analyte from a test sample is captured by the bead, a biotinylated detection antibody is introduced.
- The reaction mixture is then incubated with Streptavidin PE conjugate, the reporter molecule, to complete the reaction on the surface of each microsphere.
- The microspheres are allowed to pass rapidly through a laser, which excites the internal dyes marking the microsphere set. A second laser excites PE, the fluorescent dye on the reporter molecule.
- Finally, high-speed digital-signal processors identify each individual microsphere and quantify the result of its bioassay, based on fluorescent reporter signals.

The capability of adding multiple conjugated beads to each sample results in the ability to obtain multiple results from each sample. Open-architecture xMAP technology enables multiplexing of many types of bioassays reducing time, labor and costs over traditional methods.

## STORAGE CONDITIONS UPON RECEIPT

- Recommended storage for kit components is 2 - 8°C.
- For long-term storage, freeze reconstituted standards and controls at ≤ -20°C. Avoid multiple (>2) freeze thaw cycles.
- **DO NOT FREEZE Antibody-Immobilized Beads, Detection Antibody, and Streptavidin-Phycoerythrin**.

## REAGENTS SUPPLIED

**Note: Store all reagents at 2 – 8 °C**

| Reagents Supplied | Catalog Number | Volume | Quantity |
|---|---|---|---|
| Human Neuropeptide Standard | HNP-8035 | Lyophilized | 1 vial |
| Human Neuropeptide Quality Controls 1 and 2 | HNP-6035 | Lyophilized | 2 vials |
| Set of one 96-Well Plate with 2 sealers | ---------- | ---------- | 1 plate<br>2 sealers |
| Assay Buffer | LE-ABGLP | 30 mL | 2 bottles |
| 10X Wash Buffer<br>Note: Contains 0.05% Proclin | L-WB | 30 mL | 2 bottles |
| Human Neuropeptide Primary Antibody | SPRHNPMAG-1035P | 3.5 mL | 1 bottle |
| Human Neuropeptide Detection Antibody | HNPMAG-1035D | 5.5 mL | 1 bottle |
| HNP Matrix Solution | SPRHNP-MS | 1.5 mL | 1 bottle |
| Streptavidin-Phycoerythrin | L-SAPE13 | 5.5 mL | 1 bottle |
| Mixing Bottle | ---------- | ---------- | 1 bottle |

**Included Human Neuropeptide Panel Antibody-Immobilized Beads are dependent on customizable selection of analytes within the panel.**

**Human Neuropeptide Antibody Immobilized Magnetic Beads:**

| Bead/Analyte Name | Luminex Magnetic Bead Region | (20X concentration, 200 µL) Available | Cat. # |
|---|---|---|---|
| Anti-MSH Bead | 15 | ✓ | AMSH-MAG |
| Anti-b Endorphin Bead | 20 | ✓ | HBEND-MAG |
| Anti-Cortisol Bead | 26 | ✓ | HNPC0RT-MAG |
| Anti-Neurotensin Bead | 48 | ✓ | NRTNSN-MAG |
| Anti-Orexin A Bead | 56 | ✓ | 0RXNA-MAG |
| Anti-Oxytocin Bead | 65 | ✓ | 0XYTCN-MAG |
| Anti-Substance P Bead | 75 | ✓ | SBTNCP-MAG |

## MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Reagents

1. Luminex Sheath Fluid (Luminex Catalogue #40-50000) or Luminex Drive Fluid (Luminex Catalogue # MPXDF-4PK)
2. Acetonitrile
3. Trifluoroacetic Acid

Instrumentation / Materials

1. Adjustable Pipettes with Tips capable of delivering 25 µL to 1000 µL
2. Multichannel Pipettes capable of delivering 5 µL to 50 µL or 25 µL to 200 µL
3. Reagent Reservoirs
4. Polypropylene Microfuge Tubes
5. Rubber Bands
6. Aluminum Foil
7. Absorbent Pads
8. Laboratory Vortex Mixer
9. Sonicator (Branson Ultrasonic Cleaner Model # B200 or equivalent)
10. Titer Plate Shaker (Lab-Line Instruments, Model #4625, or equivalent)
11. Luminex® 200™, HTS, FLEXMAP 3D®, or MAGPIX® with xPONENT software by Luminex Corporation
12. Automatic Plate Washer for magnetic beads (Bio-Tek ELx405, EMD Millipore catalog #40-015 or equivalent) or Hand Held Magnetic Separation Block (EMD Millipore catalog # 40-285 or equivalent)
13. Extraction plate (Waters Oasis HLB Extraction Plate), Recommended.
14. Extraction Plate Manifold (Waters), Recommended
15. Speed Vacuum

Note: If a plate washer or hand held magnetic separation block for magnetic beads is not available, one can use a microtiter filter plate (EMD Millipore Catalog # MX-PLATE) to run the assay using a Vacuum Filtration Unit (EMD Millipore Vacuum Manifold Catalog # MSVMHTS00 or equivalent with EMD Millipore Vacuum Pump Catalog # WP6111560 or equivalent).

## SAFETY PRECAUTIONS

- All blood components and biological materials should be handled as potentially hazardous. Follow universal precautions as established by the Centers for Disease Control and Prevention and by the Occupational Safety and Health Administration when handling and disposing of infectious agents.
- Sodium Azide or Proclin has been added to some reagents as a preservative. Although the concentrations are low, Sodium Azide and Proclin may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. Dispose of unused contents and waste in accordance with international, federal, state, and local regulations.

## TECHNICAL GUIDELINES

To obtain reliable and reproducible results, the operator should carefully read this entire manual and fully understand all aspects of each assay step before running the assay. The following notes should be reviewed and understood before the assay is set-up.

- FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES.
- Do not use beyond the expiration date on the label.
- Do not mix or substitute reagents with those from other lots or sources.
- The Antibody-Immobilized Beads are light sensitive and must be protected from light at all times. Cover the assay plate containing beads with opaque plate lid or aluminum foil during all incubation steps.
- It is important to allow all reagents to warm to room temperature (20-25°C) before use in the assay.
- Incomplete washing can adversely affect the assay outcome. All washing must be performed with the Wash Buffer provided.
- The standards prepared by serial dilution must be used within 1 hour of preparation. Discard any unused standards except the standard stock which may be stored at ≤ -20°C for 1 month and at ≤ -80°C for greater than one month.
- If samples fall outside the dynamic range of the assay, further dilute the samples with the appropriate diluent and repeat the assay.
- Any unused mixed Antibody-Immobilized Beads may be stored in the Mixing Bottle at 2-8°C for up to one month.
- During the preparation of the standard curve, make certain to mix the higher concentration well before making the next dilution. Use a new tip with each dilution.
- The plate should be read immediately after the assay is finished. If, however, the plate cannot be read immediately, seal the plate, cover with aluminum foil or an opaque lid, and store the plate at 2-8°C for up to 24 hours. Prior to reading, agitate the plate on the plate shaker at room temperature for 10 minutes. Delay in reading a plate may result in decreased sensitivity for some analytes.
- The titer plate shaker should be set at a speed to provide maximum orbital mixing without splashing of liquid outside the wells. For the recommended plate shaker, this would be a setting of 5-7, which is approximately 500-800 rpm.
- Ensure that the needle probe is clean. This may be achieved by sonication and/or alcohol flushes.
- When reading the assay on Luminex® 200™, adjust probe height according to the protocols recommended by Luminex to the kit solid plate using 4 alignment discs. When reading the assay on FLEXMAP 3D®, adjust probe height according to the protocols recommended by Luminex to the kit solid plate using 1 alignment disc. When reading the assay on MAGPIX®, adjust probe height

according to the protocols recommended by Luminex to the kit solid plate using 2 alignment discs.

- For cell culture supernatants use the culture medium as the matrix solution in blank, standard curve and controls. If samples are diluted in assay buffer, use the assay buffer as matrix.
- For extracted serum / plasma samples, use the Matrix Solution provided in the kit as the matrix solution in blank, standard curve and controls.
- Vortex all reagents well before adding to plate.

## SAMPLE COLLECTION AND STORAGE

A. Preparation of Serum Samples:

- Allow the blood to clot for at least 30 minutes before centrifugation. Centrifuge samples for 10 minutes at 1000 x g. Remove serum and proceed to Sample Extraction Protocols or aliquot and store samples at ≤ -20 °C.
- Avoid multiple (>2) freeze/thaw cycles.

B. Preparation of Plasma Samples:

- For plasma collection, EDTA as an anti-coagulant is recommended After collecting blood, mix well and centrifuge samples for 10 minutes at 1000 x g, within 30 minutes of blood collection. Remove plasma and proceed to Sample Extraction Protocols or aliquot and store samples at ≤ -20 °C.
- Avoid multiple (>2) freeze/thaw cycles.

C. Preparation of Cell Culture Supernatant:

- Centrifuge samples to remove debris and assay immediately or aliquot and store samples at ≤ -20°C.
- Avoid multiple (>2) freeze/thaw cycles.
- Cell Culture Supernatant may require dilution with appropriate control medium prior to assay.

**NOTE:**

- A maximum of 50 µl per well of cell culture supernatant, CSF or extracted serum or plasma may be used.
- All samples must be stored in polypropylene tubes. **DO NOT STORE SAMPLES IN GLASS.**
- Avoid debris, lipids and cells when using samples with gross hemolysis or lipemia.
- Care must be taken when using heparin as an anticoagulant, since an excess of heparin will provide falsely high values. Use no more than 10 IU heparin per mL of blood collected.

## SAMPLE EXTRACTION PROTOCOLS – use one of the following:

### OPTION 1. Waters 96-well HLB Extraction Plate

- Allow 1 mL acetonitrile to pass through the extraction wells using gravity.
- Equilibrate with 2 x 1 mL 0.1% Triflouroacetic acid (TFA) in water (Solvent A).
- Acidify 250 µL serum or plasma samples by adding 250 µL 1% TFA. Mix well.
- Load the acidified sample in the wells and pull through at a vacuum setting of Hg 2-5.
- Wash each well 3 times with 1 mL Solvent A by vacuum at setting of Hg 2-5.
- Elute the samples in 96-well collecting plate with 0.5 mL acetonitrile/water/TFA (60%/40%/0.1%, v/v/v) by vacuum at setting of Hg 2-5.
- Dry the samples by using Speed Vac at highest vacuum setting. Dried samples can be covered and stored at ≤ -20 °C.
- Reconstitute samples with 250 µL Assay Buffer. Shake for 10 minutes. Assay immediately or store at ≤ -20 °C.

### OPTION 2. Acetonitrile Precipitation

- Put 250 µL sample into a microfuge tube. 150µl
- Add 375 µL acetonitrile to the sample, vortex 5 seconds, and let sit for 10 minutes at room temperature. 225µl
- Vortex again for 5 seconds, then centrifuge at 17,000 x g for 5 minutes.
- Carefully remove 500 µL of supernatant into a 96-well collecting plate. 300µl
- Dry the samples by using Speed Vac at highest vacuum setting. Dried samples can be covered and stored at ≤ -20 °C.
- Reconstitute samples with 200 µL Assay Buffer. Shake for 10 minutes. Assay immediately or store at ≤ -20 °C. 120µl

## PREPARATION OF REAGENTS FOR IMMUNOASSAY

A. Preparation of Antibody-Immobilized Beads

Sonicate the antibody-bead vial for 30 seconds; vortex for 1 minute. Add 150 µL from each of the antibody bead vials to the Mixing Bottle and bring final volume to 3.0 mL by adding 1.95 ml Assay Buffer. Vortex the mixed beads well. Unused portions may be stored at 2-8°C for up to one month. (Note: Due to the composition of magnetic beads, you may notice a slight color in the bead solution. This does not affect the performance of the beads or the kit.)

B. Preparation of Quality Controls

Before use, reconstitute Quality Control 1 and Quality Control 2 with 250 µL Deionized Water. Invert the vial several times to mix and vortex. Allow the vial to sit for 5-10 minutes and then transfer the controls to appropriately labeled polypropylene microfuge tubes. Unused portions may be stored at ≤ -20°C for up to one month.

C. Preparation of Wash Buffer

Bring the 10X Wash Buffer to room temperature and mix to bring all salts into solution. Dilute 60 mL of 10X Wash Buffer (two bottles) with 540 mL deionized water. Store unused portions at 2-8°C for up to one month.

D. Preparation of Matrix Solution

**This solution is required for serum and plasma samples only**

No preparation is necessary.

E. Preparation of Human Neuropeptide Standard

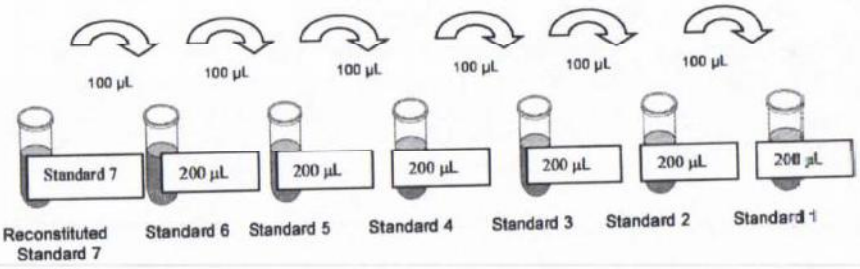
1.) Prior to use, reconstitute the Human Neuropeptide Standard with 250 µL deionized water. Invert the vial several times to mix. Vortex the vial for 10 seconds. Allow the vial to sit for 5-10 minutes and then transfer the standard to appropriately labeled polypropylene microfuge tube. This will be used as "Standard 7".

2.) Preparation of Working Standards

Label 6 polypropylene microfuge tubes tubes "Standard 6," "Standard 5," "Standard 4," "Standard 3," "Standard 2," and "Standard 1." Add 200 µL Assay Buffer to each of the six tubes. Prepare serial dilutions by adding 100 µL of "Standard 7" to the "Standard 6" tube, mix well and transfer 100 µL of "Standard 6" to the "Standard 5" tube, mix well and transfer 100 µL of "Standard 5" to the "Standard 4" tube, mix well and transfer 100 µL of "Standard 4" to the "Standard 3" tube, mix well and transfer 100 µL of "Standard 3" to the "Standard 2" tube, mix well and transfer 100 µL of "Standard 2" to the "Standard 1" tube. The 0 pg/mL Standard (background) will be Assay Buffer.

| Standard | Volume of Deionized Water to Add | Volume of Standard to Add |
|---|---|---|
| Standard 7 (Reconstituted Standard) | 250 µL | 0 |

| Standard Tube | Volume of Assay Buffer to Add | Volume of Standard to Add |
|---|---|---|
| Standard 6 | 200 µL | 100 µL of Standard 7 |
| Standard 5 | 200 µL | 100 µL of Standard 6 |
| Standard 4 | 200 µL | 100 µL of Standard 5 |
| Standard 3 | 200 µL | 100 µL of Standard 4 |
| Standard 2 | 200 µL | 100 µL of Standard 3 |
| Standard 1 | 200 µL | 100 µL of Standard 2 |




**Note: Standard Concentrations**

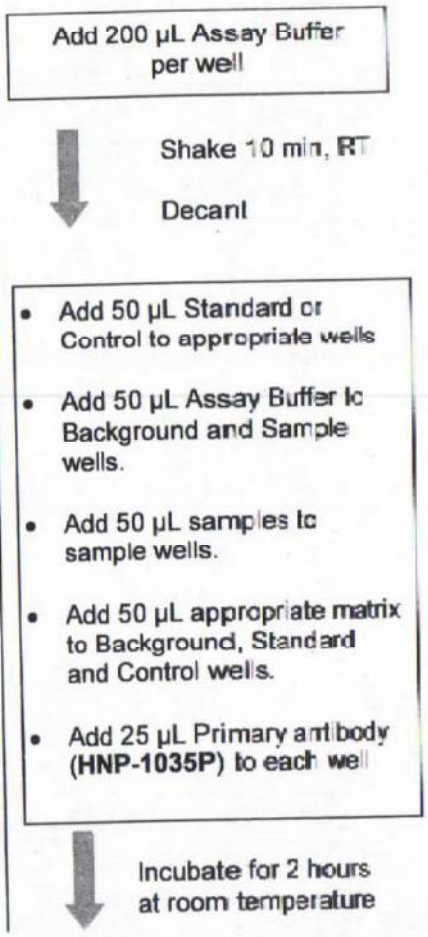
| Standard Tube # | Substance P (pg/mL) | α-MSH (pg/mL) | Neurotensin (pg/mL) | Oxytocin (pg/mL) | β-Endorphin, Orexin A (pg/mL) | Cortisol (pg/mL) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 13 | 41 | 27 | 68 | 137 | 685 |
| 2 | 41 | 123 | 82 | 205 | 412 | 2,057 |
| 3 | 123 | 370 | 246 | 617 | 1,235 | 6,172 |
| 4 | 370 | 1,111 | 740 | 1,851 | 3,704 | 18,518 |
| 5 | 1,111 | 3,333 | 2,222 | 5,555 | 11,111 | 55,555 |
| 6 | 3,333 | 10,000 | 6,666 | 16,666 | 33,333 | 166,666 |
| 7 | 10,000 | 30,000 | 20,000 | 50,000 | 100,000 | 500,000 |

## IMMUNOASSAY PROCEDURE

- Prior to beginning this assay, it is imperative to read this protocol completely and to thoroughly understand the Technical Guidelines.
- Allow all reagents to warm to room temperature (20-25°C) before use in the assay.
- Diagram the placement of Standards, 0 (Background), Standard 1, Standard 2, Standard 3, Standard 4, Standard 5, Standard 6, and Standard 7, Controls 1 and 2, and samples on Well Map Worksheet in a vertical configuration. (Note: Most instruments will only read the 96-well plate vertically by default.) It is recommended to run the assay in duplicate.
- If using a filter plate, set the filter plate on a plate holder at all times during reagent dispensing and incubation steps so that the bottom of the plate does not touch any surface.

## IMMUNOASSAY PROCEDURE

1. Add 200 µL of Assay Buffer into each well of the plate. Seal and mix on a plate shaker for 10 minutes at room temperature (20-25°C).
2. Decant Assay Buffer and remove the residual amount from all wells by inverting the plate and tapping it smartly onto absorbent towels several times.
3. Add 50 µL of Assay Buffer to the Background wells. Add 50 µL of each Standard or Control into the appropriate wells.
4. Add 50 µL Assay Buffer in Sample wells
5. Add 50 µL of extracted samples to the Sample wells.
6. Add 50 µL of HNP Matrix Solution (when measuring extracted samples) or appropriate culture media (when measuring culture samples) in Background, Standards, and Quality Control wells.
7. Add 25 µL of Primary Antibody (**HNP-1035P**) to each well.
8. Seal the plate with a plate sealer. Wrap the plate with foil and incubate with agitation on a plate shaker 2 hr at room temperature (20-25°C).



9. Vortex Mixing Bottle and add 25 µL of the prepared Beads to each well. (Note: during addition of Beads, shake beads intermittently to avoid settling)

10. Seal, the plate with a plate sealer. Wrap the plate with foil and incubate with agitation on a plate shaker overnight at 4°C *(16-18 hr)*.
11. Gently remove well contents and wash plate 3 times following instructions listed in the **PLATE WASHING** section.

12. Add 50 µL of Detection Antibodies (**HNP-1035D**) into each well. (Note: allow the Detection Antibodies to warm to room temperature prior to addition.)

13. Seal, cover with foil, and incubate with agitation on a plate shaker for 1 hour at room temperature (20-25°C) **DO NOT ASPIRATE AFTER INCUBATION.**

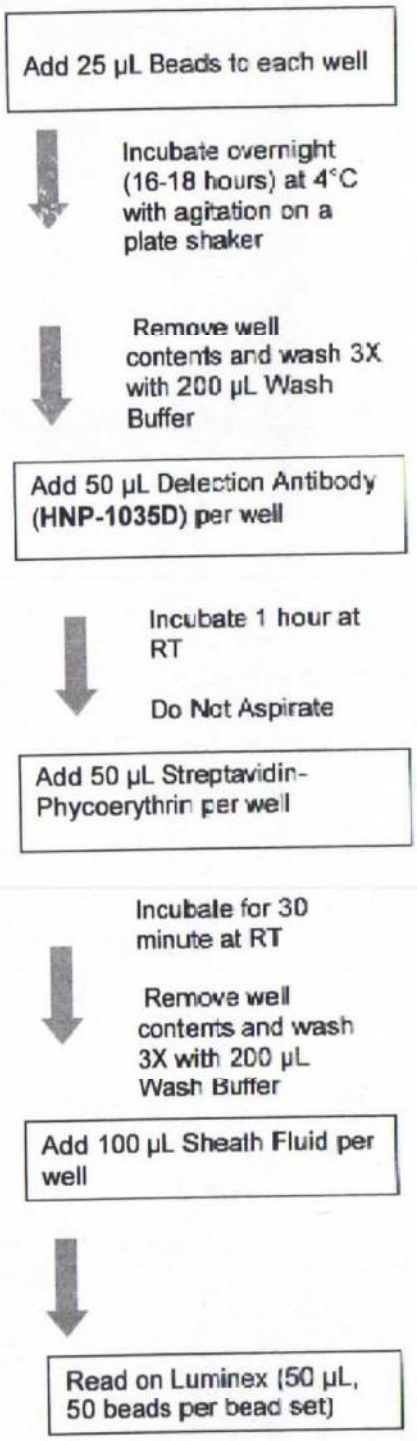
14. Add 50 µL Streptavidin-Phycoerythrin to each well containing the 50 µL of Detection Antibodies.

15. Seal, cover with foil and incubate with agitation on a plate shaker for 30 minutes at room temperature (20-25°C).

16. Gently remove well contents and wash plate 3 times following instructions listed in the **PLATE WASHING** section.
17. Add 100 µL of Sheath Fluid (or Drive Fluid if using MAGPIX®) to all wells. Resuspend the beads on a plate shaker for 5 minutes at room temperature.

18. Run plate on Luminex® 200™, HTS, FLEXMAP 3D® or MAGPIX® with xPONENT software.

19. Save and analyze the median Fluorescent Intensity (MFI) data using a weighted 5-parameter logistic or spline curve-fitting method for calculating analyte concentrations in samples.



## PLATE WASHING

1.) Solid Plate
If using a solid plate, use either a hand-held magnet or magnetic plate washer.

A.) For hand-held magnet, rest plate on magnet for 60 seconds to allow complete settling of magnetic beads. Remove well contents by gently decanting the plate in an appropriate waste receptacle and gently tapping on absorbent pads to remove residual liquid. Wash plate with 200 µL of Wash Buffer by removing plate from magnet, adding Wash Buffer, shaking for 30 seconds, reattaching to magnet, letting beads settle for 60 seconds and removing well contents as previously described after each wash. Repeat wash steps as recommended in Assay Procedure.

B.) For magnetic plate washer, let plate "soak" on magnet for 60 seconds to allow complete settling of the magnetic beads. Remove well contents by aspiration. Wash plate with 200 µL/well of Wash Buffer, letting beads "soak" for 60 seconds and removing Wash Buffer by aspiration after each wash. Repeat wash steps as recommended in Assay Procedure. **Note:** If using the recommended plate washer for magnetic beads (Bio-Tek ELx405) follow the appropriate equipment settings outlined in **EQUIPMENT SETTINGS.**

2.) Filter Plate (EMD Millipore Cat# MX-PLATE)
If using a filter plate, use a vacuum filtration manifold to remove well contents. Wash plate with 200 µL/well of Wash Buffer, removing Wash Buffer by vacuum filtration after each wash. Repeat wash steps as recommended in the Assay Procedure.

## EQUIPMENT SETTINGS

Bio-Tek ELx405:

The general recommended wash protocol (Link Protocol) is as follows:

| Soak Program: | Wash Program: |
|---|---|
| Soak → | Aspirate→Dispense→Soak→Aspirate→Dispense→Soak→Aspirate |

1.) Soak program:
1. Soak duration: 60 sec
2. Shake before soak?: NO

2.) Wash program:

Method:
1. Number of cycles: 3
2. Soak/shake: YES
3. Soak duration: 60 sec
4. Shake before soak: NO
5. Prime after soak: NO

Dispense:

1. Dispense volume: 200 µL/well
2. Dispense flow rate: 5
3. Dispense height: 130 (16.51 mm)
4. Horizontal disp pos: 00 (0 mm)
5. Bottom Wash first?: NO
6. Prime before start?: NO

Aspiration:

1. Aspirate height: 35 (4.445 mm)
2. Horizontal Asp Pos: 30 (1.372 mm)
3. Aspiration rate: 06 (15.0 mm/sec)
4. Aspiration delay: 0
5. Crosswise Aspir: NO
6. Final Aspir: YES
7. Final Aspir delay: 0 (0 msec)

3.) Link program: (**Note:** this is the program to use during actual plate washing) Link together the Soak and Wash programs outlined above.

**Note: After the final aspiration, there will be approximately 25 µL of residual Wash Buffer in each well. This is expected when using the BioTek Plate washer and this volume does not need to be aspirated from the plate.**

**If using an automatic plate washer other than BioTek ELx405, please refer to the manufacturer's recommendations for programming instructions.**

Luminex® 200™, HTS, FLEXMAP 3D® and MAGPIX® with xPONENT software:

These specifications are for the Luminex® 200™, Luminex HTS, Luminex FLEXMAP 3D® and Luminex MAGPIX® with xPonent software. Luminex instruments with other software (e.g. MasterPlex, StarStation, LiquiChip, Bio-Plex, LABScan100) would need to follow instrument instructions for gate settings and additional specifications from the vendors for reading Luminex Magnetic Beads.

For magnetic bead assays, the Luminex® 200™ and HTS instruments must be calibrated with the xPonent 3.1 compatible Calibration Kit (EMD Millipore Cat. # 40-275) and performance verified with the Performance Verification Kit (EMD Millipore Cat. # 40-276). The Luminex FLEXMAP 3D® instrument must be calibrated with the FLEXMAP 3D® Calibrator Kit (EMD Millipore Cat. # 40-028) and performance verified with the FLEXMAP 3D® Performance Verification Kit (EMD Millipore Cat. # 40-029). The Luminex MAGPIX® instrument must be calibrated with the MAGPIX® Calibration Kit (EMD Millipore Cat. # 40-049) and performance verified with the MAGPIX® Performance Verification Kit (EMD Millipore Cat. # 40-050).

NOTE: These assays cannot be run on Luminex® 100™ instruments or any instruments using Luminex IS 2.3 or Luminex 1.7 software.

The Luminex probe height must be adjusted to the plate provided in the kit. Please use Cat.# MAG-PLATE, if additional plates are required for this purpose.

| | | |
|---|---|---|
| Events: | 50, per bead | |
| Sample Size: | 50 µL | |
| Gate Settings: | 8,000 to 15,000 | |
| Reporter Gain: | Default (low PMT) | |
| Time Out: | 60 seconds | |
| Bead Set: | 5-Plex Beads | |
| | a-MSH | 15 |
| | b-endorphin | 20 |
| | Cortisol | 26 |
| | Neurotensin | 48 |
| | Orexin A | 56 |
| | Oxytocin | 65 |
| | Substance P | 75 |

## QUALITY CONTROLS

The ranges for each analyte in Quality Control 1 and 2 are provided on the card insert.

## ASSAY CHARACTERISTICS

### Cross-Reactivity

The antibody pairs in the panel are specific only to the desired analyte and exhibit no or negligible (<2%) cross-reactivity with other analytes in the panel.

## TROUBLESHOOTING GUIDE

| Problem | Probable Cause | Solution |
|---|---|---|
| Insufficient Bead Count | Plate Washer aspirate height set too low | Adjust aspiration height according to manufacturers' instructions. |
| | Bead mix prepared inappropriately | Sonicate bead vials and vortex just prior to adding to bead mix bottle according to protocol. Agitate bead mix intermittently in reservoir while pipetting this into the plate. |
| | Samples cause interference due to particulate matter or viscosity | See above. Also sample probe may need to be cleaned with Alcohol flush, Back flush and washes; or if needed probe should be removed and sonicated. |
| | Probe height not adjusted correctly | When reading the assay on Luminex® 200™, adjust probe height according to the protocols recommended by Luminex to the kit solid plate using 4 alignment discs. When reading the assay on FLEXMAP 3D®, adjust probe height according to the protocols recommended by Luminex to the kit solid plate using 1 alignment disc. When reading the assay on MAGPIX®, adjust probe height according to the protocols recommended by Luminex to the kit solid plate using 2 alignment discs. |
| Background is too high | Background wells were contaminated | Avoid cross-well contamination by using sealer appropriately, and pipeting with Multichannel pipets without touching reagent in plate. |
| | Matrix used has endogenous analyte or interference | Check matrix ingredients for cross reacting components (e.g. interleukin modified tissue culture medium). |
| | Insufficient washes | Increase number of washes. |
| Beads not in region or gate | Luminex not calibrated correctly or recently | Calibrate Luminex based on Instrument Manufacturer's instructions, at least once a week or if temperature has changed by >3°C |
| | Gate Settings not adjusted correctly | Some Luminex instruments (e.g. Bioplex) require different gate settings than those described in the Kit protocol. Use Instrument default settings. |
| | Wrong bead regions in protocol template | Check kit protocol for correct bead regions or analyte selection. |
| | Incorrect sample type used | Samples containing organic solvents or if highly viscous should be diluted or dialyzed as required. |
| | Instrument not washed or primed | Prime the Luminex 4 times to rid of air bubbles, wash 4 times with sheath fluid or water if there is any remnant alcohol or sanitizing liquid. |

| | | |
|---|---|---|
| | Beads were exposed to light | Keep plate and bead mix covered with dark lid or aluminum foil during all incubation steps. |
| Signal for whole plate is same as background | Incorrect or no Detection Antibody was added<br><br>Streptavidin-Phycoerythrin was not added | Add appropriate Detection Antibody and continue.<br><br>Add Streptavidin-Phycoerythrin according to protocol. If Detection Antibody has already been removed, sensitivity may be low. |
| Low signal for standard curve | Detection Antibody may have been removed prior to adding Streptavidin Phycoerythrin<br><br>Incubations done at inappropriate temperatures, timings or agitation | May need to repeat assay if desired sensitivity not achieved.<br><br>Assay conditions need to be checked. |
| Signals too high, standard curves are saturated | Calibration target value set too high<br><br>Plate incubation was too long with standard curve and samples | With some Luminex Instrument (e.g. Bio-plex) Default target setting for RP1 calibrator is set at High PMT. Use low target value for calibration and reanalyze plate.<br><br>Use shorter incubation time. |
| Sample readings are out of range | Samples contain no or below detectable levels of analyte<br><br>Samples contain analyte concentrations higher than highest standard point. Standard curve was saturated at higher end of curve. | If below detectable levels, it may be possible to use higher sample volume. Check with tech support for appropriate protocol modifications.<br><br>Samples may require dilution and reanalysis for just that particular analyte.<br><br>See above. |
| High Variation in samples and/or standards | Multichannel pipet may not be calibrated<br><br>Plate washing was not uniform<br>Samples may have high particulate matter or other interfering substances<br>Plate agitation was insufficient<br><br>Cross well contamination | Calibrate pipets.<br><br>Confirm all reagents are removed completely in all wash steps.<br>See above.<br><br>Plate should be agitated during all incubation steps using a vertical plate shaker at a speed where beads are in constant motion without causing splashing.<br>Check when reusing plate sealer that no reagent has touched sealer.<br>Care should be taken when using same pipet tips that are used for reagent additions and that pipet tip does not touch reagent in plate. |
| **FOR FILTER PLATES ONLY** | | |
| Filter plate will not vacuum | Vacuum pressure is insufficient<br><br>Samples have insoluble particles | Increase vacuum pressure such that 0.2 mL buffer can be suctioned in 3-5 seconds.<br><br>Centrifuge samples just prior to assay setup and use supernatant. |

| | | |
|---|---|---|
| | High lipid concentration | After centrifugation, remove lipid layer and use supernatant. |
| Plate leaked | Vacuum Pressure too high | Adjust vacuum pressure such that 0.2 mL buffer can be suctioned in 3-5 seconds. May need to transfer contents to a new (blocked) plate and continue. |
| | Plate set directly on table or absorbent towels during incubations or reagent additions | Set plate on plate holder or raised edge so bottom of filter is not touching any surface. |
| | Insufficient blotting of filter plate bottom causing wicking | Blot the bottom of the filter plate well with absorbent towels after each wash step. |
| | Pipette touching plate filter during additions | Pipette to the side of plate. |
| | Probe height not adjusted correctly | Adjust probe to 3 alignment discs in well H6. |
| | Sample too viscous | May need to dilute sample. |

**REPLACEMENT REAGENTS**

| | Cat # |
|---|---|
| Human Neuropeptide Panel Standard | HNP-8035 |
| Human Neuropeptide Panel Quality Controls | HNP-6035 |
| Human Neuropeptide Primary Antibodies | SPRHNPMAG-1035P |
| Human Neuropeptide Detection Antibodies | HNPMAG-1035D |
| HNP Matrix Solution | SPRHNP-MS |
| Streptavidin-Phycoerythrin | L-SAPE13 |
| Assay Buffer (2 bottles) | LE-ABGLP |
| Set of two 96-Well Filter Plates with sealers | MAG-PLATE |
| 10X Wash Buffer | L-WB |

**Antibody-Immobilized Beads**

| Analyte | Bead# | Cat# |
|---|---|---|
| Anti – alpha MSH Bead | 15 | AMSH-MAG |
| Anti-b Endorphin Bead | 20 | HBEND-MAG |
| Anti-Cortisol Bead | 26 | HNPCORT-MAG |
| Anti-Neurotensin Bead | 48 | NRTNSN-MAG |
| Anti-Orexin A Bead | 56 | ORXNA-MAG |
| Anti – Oxytocin Bead | 65 | OXYTCN-MAG |
| Anti-Substance P Bead | 75 | SBTNCP-MAG |

## ORDERING INFORMATION

**To place an order**:

To assure the clarity of your custom cytokine kit order, please FAX the following information to our customer service department:

Include:

- Your name, telephone and/or fax number
- Customer account number
- Shipping and billing address
- Purchase order number
- Catalog number and description of product
- Quantity of kits
- Selection of MILLIPLEX® Analytes

FAX: (636) 441-8050

Toll Free US: (866) 441-8400
(636) 441-8400

MAIL ORDERS: EMD Millipore Corp.
6 Research Park Drive
St. Charles, Missouri 63304 U.S.A.

**For International Customers:**

To best serve our international customers in placing an order or obtaining additional information about MILLIPLEX® MAP products, please contact your multiplex specialist or sales representative or email our European Customer Service at customerserviceEU@Millipore.com.

**Conditions of Sale**

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

**Material Safety Data Sheets (MSDS)**

Material Safety Data Sheets for EMD Millipore products may be ordered by fax or phone or through our website at www.millipore.com/techlibrary/index.do

**Technical Services**

For product technical assistance call or write.

Toll-Free US: (781)533-8159

E-mail: techserv.dd@merckgroup.com

## WELL MAP

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 0 pg/mL Standard Background | Standard 4 | QC-1 Control | Etc. 3 | 7 | 11 | 15 | 19 | 23 | 27 | 31 | 35 |
| B | 0 pg/mL Standard Background | Standard 4 | QC-1 Control | 3 | 7 | | | | | | | |
| C | Standard 1 | Standard 5 | QC-2 Control | 4 | 8 | 12 | 16 | 20 | 24 | 28 | 32 | 36 |
| D | Standard 1 | Standard 5 | QC-2 Control | 4 | | | | | | | | |
| E | Standard 2 | Standard 6 | Sample 1 | 5 | 9 | 13 | 17 | 21 | 25 | 29 | 33 | 37 |
| F | Standard 2 | Standard 6 | Sample 1 | 5 | | | | | | | | |
| G | Standard 3 | Standard 7 | Sample 2 | 6 | 10 | 14 | 18 | 22 | 26 | 30 | 34 | 38 |
| H | Standard 3 | Standard 7 | Sample 2 | 6 | | | | | | | | |

**FOMATO DE ENVÍO AL DEPARTAMENTO DE REUMATOLOGÍA DEL INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ PARA PROTOCOLO DE FIBROMIALGIA 17-1010.**

Selección de grupo por médico que envía:

| ☐ **Fibromialgia** | ☐ **Control sano** |
|---|---|
| ☐ Mujeres de 18 a 50 años de edad.<br>☐ Fibromialgia primaria diagnosticada por médico reumatólogo o internista preferentemente.<br>☐ Fibromialgia de al menos 2 o más de 5 años de evolución.<br>☐ Recientes síntomas de fibromialgia muy Intensos, dolor generalizado al menos 5/10.<br>☐ NO datos de diabetes, hipertensión arterial o cardiopatía isquémica.<br>☐ NO artritis reumatoide, lupus, síndrome de Sjögren u otras enfermedades autoinmunes sistémicas.<br>☐ NO hipotiroidismo.<br>☐ NO toma medicamentos antihipertensivos o antidepresivos preferentemente.<br>☐ Índice de masa corporal < 30. | ☐ Mujeres sanas de 18 a 50 años de edad.<br>☐ NO diagnóstico previo de fibromialgia.<br>☐ NO artritis reumatoide, lupus, síndrome de Sjögren u otras enfermedades autoinmunes sistémicas.<br>☐ NO hipertensión arterial o cardiopatía isquémica.<br>☐ NO hipotiroidismo.<br>☐ NO toma ningún medicamento.<br>☐ Índice de masa corporal < 30. |

**Nombre de la participante:** _____
(Apellido paterno) (Apellido materno) (Nombres)

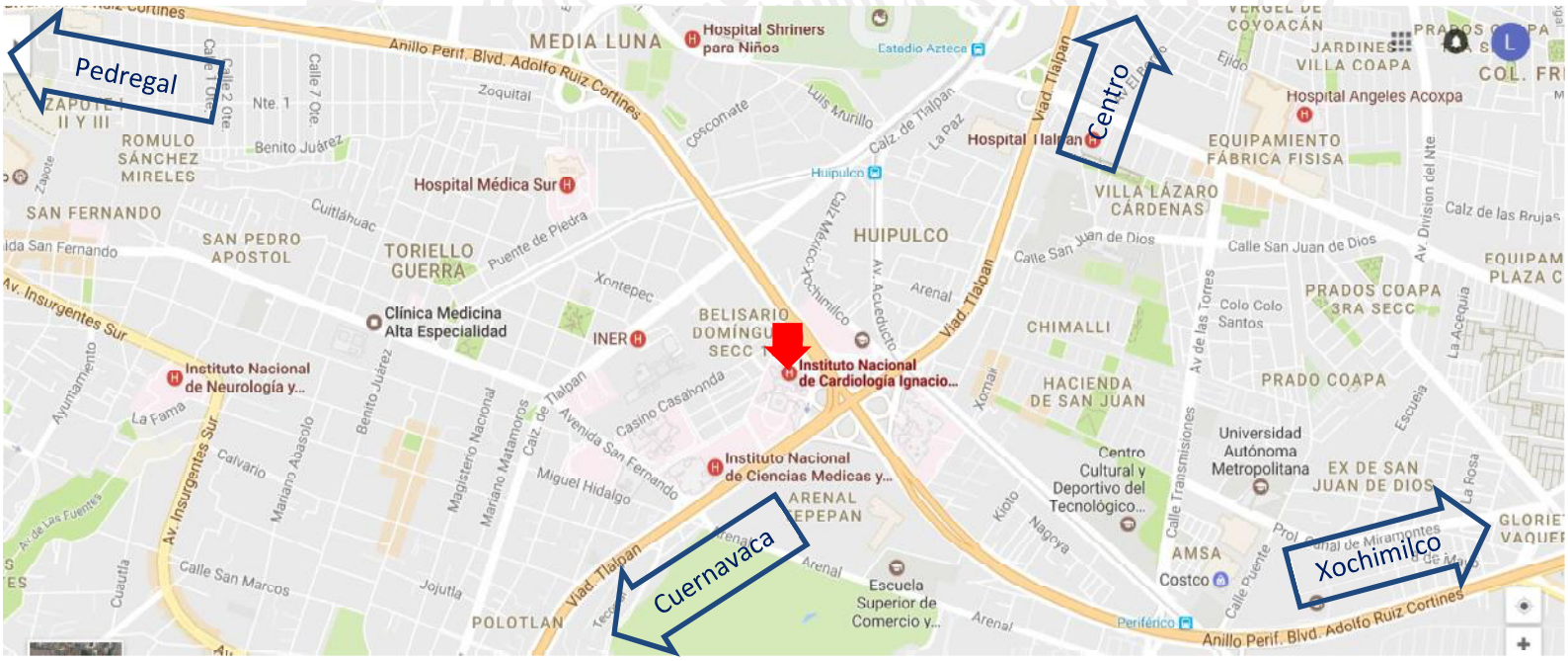
**Médico que envía:** _____ _____
Nombre Rubrica

Acudir sólo si agenda ***cita previa*** con **Dra. Aline Martínez** al **55732911 ext 1174 y 1175 o 044 55 21068740**.

Anote aquí los datos de la cita confirmada para su acceso al hospital:

| Día de la semana | Fecha | Hora |
|---|---|---|
| | | |
| (Lunes, Martes, Miércoles Jueves o Viernes) | (dd-MMM-aaaa) | (HH:MM) |

Dirección: Juan Badiano No 1. Col. Sección XVI, Del. Tlalpan, 14080, CDMX. Consulta externa especialidades: Reumatología.



# FOMATO DE ENVÍO
# AL SERVICIO DE CORNEA
# DEL HOSPITAL DR. LUIS SANCHEZ BULNES

PROTOCOLO: Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca.

Grupo: O FM O Control O DM

| Teléfono de la participante | Iniciales | | | | Folio | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | |

**Nombre:** _____

(Apellido paterno) (Apellido materno) (Nombres)

**Médico reumatólogo que envía:**

Laura Aline Martínez Martínez (C.P. 5554044)

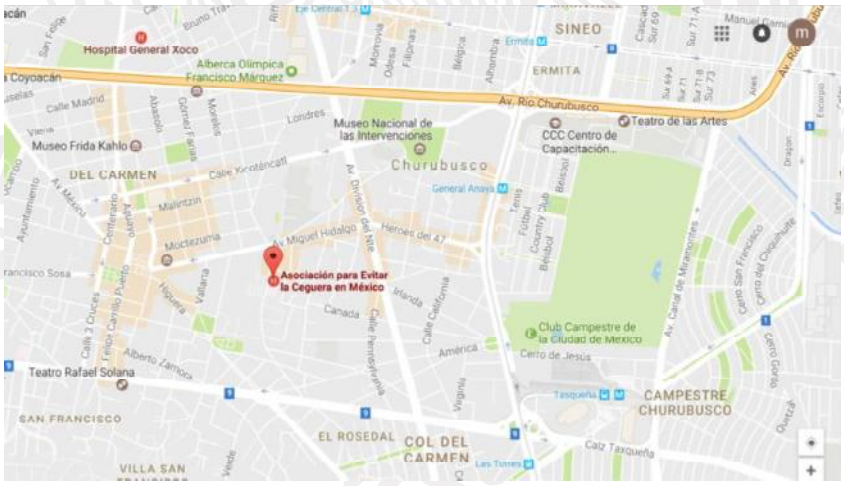
_____
Rubrica de autorización

Cita con Dr. Manuel Fernández Hernández en el Servicio de Cornea del Hospital Dr. Luis Sanchéz Bulnés de la Asociación para Evitar la Ceguera en México:

| Día de la semana | Fecha | Hora |
|---|---|---|
| | | |
| (Martes) | (dd-MMM-aaaa) | (HH:mm am) |

Dirección: Calle Vicente García Torres 46, Barrio San Lucas, 04030 Coyoacán, CDMX.

Teléfono de contacto: Dr. Christian Sebastián 044 55 2756 6352



**CHECKLIST**
**Criterios de Inclusión y Exclusión**

Escrutinio 0 0 0 — Definitivo UNICO 0 0 0

Iniciales ☐☐☐ Folio ☐☐☐ — ☐☐☐

**Nombre de la participante:** _____
(Apellido paterno) (Apellido materno) (Nombres)

| Criterio de Inclusión<br>Anotar dato preferentemente en el grupo correspondiente | Fibromialgia = F | Diabetes = D | Control = C |
|---|---|---|---|
| ☐ Mujeres de 18 a 50 años. | ☐ _____ años cumplidos | ☐ _____ años cumplidos | ☐ _____ años cumplidos |
| ☐ Características específicas por grupo | Fibromialgia primaria diagnosticó:<br>☐ médico reumatólogo o<br>☐ médico internista<br><br>Evolución de fibromialgia<br>☐ menos 2 años<br>☐ más de 5 años _____<br><br>☐ Recientes síntomas de fibromialgia muy intensos<br><br>☐ dolor al menos 5/10 _____<br>. | ☐ Diabetes de al menos 10 años de evolución _____<br><br>☐ Neuropatía diabética.<br><br>☐ Mal control crónico con hemoglobina glicosilada de 8% o más de 9%<br><br>anotar valor _____% | ☐ Mujer que se autorefiere sana |
| ☐ Índice de masa corporal < 30<br>IMC = Peso kg/(Talla m)$^2$<br><br>IMC = Peso_____ = (Talla _____)$^2$ | ☐ IMC = _____ | ☐ IMC = _____ | ☐ IMC = _____ |

Criterios de Exclusión

| | | | |
|---|---|---|---|
| ☐ Características específicas NO aceptables por grupo | ☐ NO diabetes | ☐ NO fibromialgia | ☐ NO fibromialgia<br>☐ NO diabetes |
| ☐ Características específicas NO aceptables en ningún grupo | ☐ NO artritis reumatoide, lupus, síndrome de Sjögren u otras enfermedades autoinmunes sistémicas.<br><br>☐ NO hipotiroidismo.<br>☐ NO hipertensión arterial<br>☐ NO cardiopatía isquémica. | ☐ NO artritis reumatoide, lupus, síndrome de Sjögren u otras enfermedades autoinmunes sistémicas.<br><br>☐ NO hipotiroidismo.<br>☐ NO hipertensión arterial<br>☐ NO cardiopatía isquémica. | ☐ NO artritis reumatoide, lupus, síndrome de Sjögren u otras enfermedades autoinmunes sistémicas.<br><br>☐ NO hipotiroidismo.<br>☐ NO hipertensión arterial<br>☐ NO cardiopatía isquémica. |
| ☐ Medicamentos NO permitidos | NO toma medicamentos<br>☐ NO antihipertensivos<br>☐ NO antidepresivos<br>☐ NO inductores del sueño | NO toma medicamentos<br>☐ NO antihipertensivos<br>☐ NO antidepresivos<br>☐ NO inductores del sueño | ☐ NO toma ningún medicamento. |
| ☐ NO depresión o ansiedad grave | ☐ PHQ9 ≥ 14 y HADSdepre ≥ 11<br>☐ GAD7 ≥ 14 y HADSansied ≥ 11 | ☐ PHQ9 ≥ 14 y HADSdepre ≥ 11<br>☐ GAD7 ≥ 14 y HADSansied ≥ 11 | ☐ PHQ9 ≥ 14 y HADSdepre ≥ 11<br>☐ GAD7 ≥ 14 y HADSansied ≥ 11 |
| ☐ NO cirugías de córnea o catara | ☐ NO cirugías de córnea | ☐ NO cirugías de córnea | ☐ NO cirugías de córnea |

Observaciones / Revisión de Medicamentos para HRV

¿Entra al estudio 17-1010? ☐ **SI** ☐ **NO**

Autorización y fecha de folio definitivo:

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

**FICHA DE IDENTIFICACIÓN, DATOS CLÍNICOS Y PROCEDIMIENTOS**

Iniciales | | | | Folio único | | | |

Código Final ID

**Nombre:** _____
(Apellido paterno) (Apellido materno) (Nombres)

**Grupo:** ○ **FM** ○ **DM** ○ **C**

**Fecha evaluación inicial reumatológica:** _____
dd-MMM-aaaa

**Fecha de nacimiento:** _____ **Registro (INC,HJ, HSB)**
dd-MMM-aaaa

**Escolaridad:** _____ **Sexo:** _____ **Edad:** _____

**Teléfonos:** _____

**Dirección:** _____

_____

**e-mail:**

**Nacionalidad**_____
Madre_____ Padre_____
Abuela_____ Abuelo_____
Bisabuela_____ Bisabuelo_____
Tatarabuela_____ Tatarabuelo_____

**AHF de FM:** 1 ☐ SI 2 ☐ NO

**Fecha Dx FM:** _____
dd-MMM-aaaa

**Tiempo de evolución de síntomas de FM** _____ (años)

Revisión de laboratorios y paraclínicos (retener copias de reportes):

| BH, QS, Otros de QS | VSG, PCR, Otros Inmunol | TSH y Otros Lab/Paraclinicos |
|---|---|---|
| | | |

**¿Cuánto dolor ha tenido por su enfermedad durante la semana pasada? (aplica FM o DM o C)**
Coloque una marca vertical sobre la línea.

**Ningún dolor** _____ **Dolor muy intenso**

| Enfermedades concomitantes y antecedentes de importancia: | Fecha de inicio dd-MMM-aaaa | Fecha de término dd-MMM-aaaa |
|---|---|---|
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

**Medicamentos de uso diario o de uso en los últimos 30 días:**

| **Nombre comercial o genérico** (preferentemente genérico) | **Dosis / vía de administración / frecuencia** | **Indicación** | **Fecha de inicio** dd-MMM-aaaa | **Fecha de término** dd-MMM-aaaa | **¿Periodo de lavado?** |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

| **Puntos dolorosos** 1=dolor 0 = sólo presión | Derecho | Izquierdo |
|---|---|---|
| Occipital | | |
| Trapecio | | |
| Supraespinoso | | |
| Cervical | | |
| Segunda costilla | | |
| Epicóndilo lateral | | |
| Glúteo | | |
| Trocánter mayor | | |
| Rodilla | | |

**Total:**

Peso: _____kg Talla: _____m

¿La paciente tiene **más de 11 puntos dolorosos** de acuerdo a los criterios para fibromialgia de 1990?

1 ☐ SI 2 ☐ NO

¿La paciente tiene **dolor generalizado** de acuerdo a los criterios para fibromialgia de 1990?

1 ☐ SI 2 ☐ NO

**Diagnóstico de FIBROMIALGIA con los criterios de 1990:**

1 ☐ SI 2 ☐ NO

**1.- ¿La paciente refiere lívido RETICULAR al interrogatorio?**

☐ Si (1) → Localización: _____ ☐ No (2)

**2. ¿La paciente tiene datos de lívido RETICULAR a la exploración física?**

☐ Si (1) → Localización: _____ ☐ No (2)

**LÍVIDO RACEMOSO**

**1.- ¿La paciente tiene lívido RACEMOSO a la exploración física?**

☐ Si (1) → Localización: _____ ☐ No (2)

**HIPERMOVILIDAD ARTICULAR**

☐Si ☐No Pulgar antebrazo DER
☐Si ☐No Pulgar antebrazo IZQ
☐Si ☐No Dor 5º MCF IZQ
☐Si ☐No Dor 5º MCF DER
☐Si ☐No Codo DER
☐Si ☐No Codo IZQ
☐Si ☐No Rodilla DER
☐Si ☐No Rodilla IZQ
☐Si ☐No Toca pisomanos

TOTAL

**DN4 ¿Se evidencia en la exploración alguno de estos signos en la zona dolorosa?**

8.- Hipoestesia al tacto ☐ Si (1) ☐ No (0)
9.- Hipoestesia al pinchazo ☐ Si (1) ☐ No (0)

**DN4 ¿El dolor se provoca o intensifica por?**

10.- El roce ☐ Si (1) ☐ No (0)

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

**CRITERIOS DE FIBROMIALGIA**
**2010, 2011 y 2016**

Iniciales ☐☐☐ Folio ☐☐☐

**Nombre:** _____
(Apellido paterno) (Apellido materno) (Nombre-s)

**Fecha:** _____
(dd-MMM-aaaa)

## Widespread Pain Index (WPI)

Coloque un número uno (1) sólo en las regiones donde ha tenido dolor durante la semana pasada:

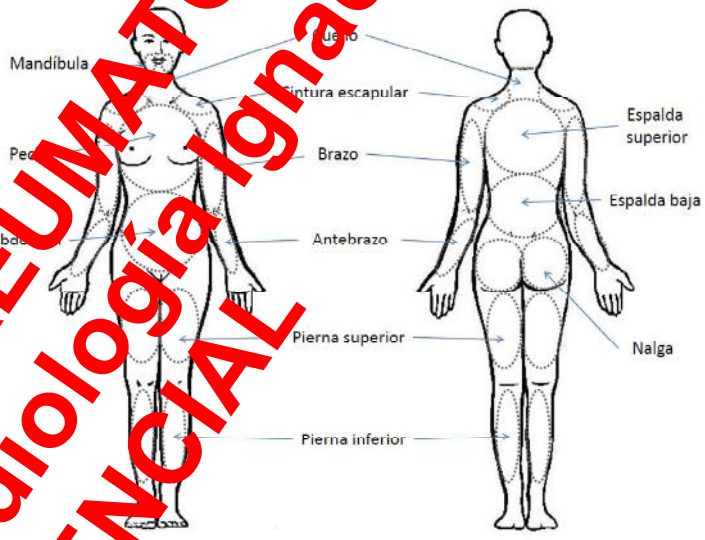
**Región superior izquierda (región1)** ☐
☐ Mandíbula izquierda*
☐ Cintura escapular izquierda
☐ Brazo izquierdo
☐ Antebrazo izquierdo

**Región superior derecha (región 2)** ☐
☐ Mandíbula derecha*
☐ Cintura escapular derecha
☐ Brazo derecho
☐ Antebrazo derecho

**Región inferior izquierda (región 3)** ☐
☐ Cadera (nalga, trocánter) izquierda
☐ Pierna superior izquierda
☐ Pierna inferior izquierda

**Región inferior derecha (región 4)** ☐
☐ Cadera (nalga, trocánter) derecha
☐ Pierna superior derecha
☐ Pierna inferior derecha

**Región axial (región 5)** ☐
☐ Cuello
☐ Espalda superior
☐ Espalda baja
☐ Pecho (tórax)*
☐ Abdomen*




☐ **WPI**

## Symptom Severity Scale score (SSS)*

Para cada uno de los tres síntomas siguientes, indique el nivel de gravedad de durante la última semana:

Fatiga
☐ 0 No ha sido un problema.
☐ 1 Problema pequeño, leve, ocasional, intermitente.
☐ 2 Problema moderado, considerable, frecuentemente presente.
☐ 3 Problema grave, persistente, continuo, perturbador en la vida.
(Fatiga) ☐

Sueño no reparador
☐ 0 No ha sido un problema.
☐ 1 Problema pequeño, leve, ocasional, intermitente.
☐ 2 Problema moderado, considerable, frecuentemente presente.
☐ 3 Problema grave, persistente, continuo, perturbador en la vida.
(Sueño) ☐

Trastornos cognitivos
☐ 0 No ha sido un problema.
☐ 1 Problema pequeño, leve, ocasional, intermitente.
☐ 2 Problema moderado, considerable, frecuentemente presente.
☐ 3 Problema grave, persistente, continuo, perturbador en la vida.
(Cognitivo) ☐

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

Síntomas somáticos de la escala de gravedad de los síntomas.

| | **A) Criterios preliminares 2010**<br>Coloque un número uno (1) sólo en el o los síntomas que ha presentado durante **la semana pasada:** |
|---|---|
| | Dolor muscular |
| | Síndrome de colon irritable |
| | Fatiga/agotamiento |
| | Problemas de comprensión o memoria |
| | Debilidad muscular |
| | Dolor de cabeza |
| | Dolor/calambres en el abdomen |
| | Entumecimiento/hormigueo |
| | Mareo |
| | Insomnio |
| | Depresión |
| | Estreñimiento |
| | Dolor en la parte alta del abdomen |
| | Nauseas |
| | Ansiedad/nerviosismo |
| | Dolor torácico |
| | Visión borrosa |
| | Fiebre |
| | Diarrea |
| | Boca seca |
| | Picazón |
| | Pitidos al respirar (sibilancias) |
| | Fenómeno de Raynaud☐ (“pseudofenómeno”☐) |
| | Urticaria |
| | Zumbidos en los oídos |
| | Vómitos |
| | Acidez en el estómago |
| | Aftas orales (úlceras) |
| | Pérdida o cambios en el gusto |
| | Convulsiones |
| | Ojo seco |
| | Respiración entrecortada |
| | Pérdida de apetito |
| | Erupciones (rash) |
| | Intolerancia al sol |
| | Trastornos auditivos |
| | Moretones con facilidad (hematomas) |
| | Caída del cabello |
| | Micción frecuente |
| | Micción dolorosa |
| | Espasmos vesicales |
| TOTAL | |

| | **B) Criterios modificados 2016**<br>Coloque un número uno (1) sólo en el o los síntomas que ha presentado durante **los 6 meses previos**: |
|---|---|
| | Dolores de cabeza |
| | Dolor o calambres en el abdomen bajo |
| | Depresión |

TOTAL ☐ (Somáticos de 6 meses)

| Fatiga + Sueño + Cognitivo + Somáticos de 1 semana = | Fatiga + Sueño + Cognitivo + Somáticos de 6 meses = | Fatiga + Sueño + Cognitivo + Somáticos de 6 meses = |
|---|---|---|
| $SSS_{2010}$ | $SSS_{2011}$ | $SSS_{2016}$ |

**FS**=**PSD**= WPI +SSS

0 es igual a **0**
de 1 a 10 es igual a **1**
de 11 a 24 es igual a **2**
25 o más es igual a **3**

☐ (Somáticos de 1 semana)

Criterios 2010: ☐ Tipo 1: ☐WPI ≥ 7 y ☐$SSS_{2010}$ ≥ 5 ☐ Tipo 2: ☐WPI = 3-6 y ☐$SSS_{2010}$ ≥ 9

Criterios 2011: ☐ Tipo 1: ☐WPI ≥ 7 y ☐$SSS_{2011}$ ≥ 5 ☐ Tipo 2: ☐WPI = 3-6 y ☐$SSS_{2011}$ ≥ 9

Criterios 2016: ☐ Tipo 1: ☐WPI ≥ 7 y ☐$SSS_{2016}$ ≥ 5 ☐ Tipo 2: ☐WPI = 4-6 y ☐$SSS_{2016}$ ≥ 9

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

**FIQ-R**

Iniciales | | | | Folio | | | |

**Nombre:** _____
(Apellido paterno) (Apellido materno) (Nombre-s)

**Fecha:** _____
(dd-MMM-aaaa)

**CUESTIONARIO DE IMPACTO DE LA FIBROMIALGIA**

**1.- Instrucciones:**

Para cada pregunta marque una X en la casilla que mejor indique la dificultad con la que ha realizado cada una de las siguientes actividades a causa de la fibromialgia durante la última semana.

**DIFICULTAD**

| | | |
|---|---|---|
| a) Peinarse | **Ninguna** | **Máxima** |
| b) Caminar 20 minutos sin necesidad de pararse | **Ninguna** | **Máxima** |
| c) Preparar la comida | **Ninguna** | **Máxima** |
| d) Barrer, fregar o pasar la aspiradora | **Ninguna** | **Máxima** |
| e) Levantar y transportar una bolsa de la compra llena | **Ninguna** | **Máxima** |
| f) Subir escaleras | **Ninguna** | **Máxima** |
| g) Cambiar la ropa de la cama | **Ninguna** | **Máxima** |
| h) Estar sentada en una silla durante 45 minutos | **Ninguna** | **Máxima** |
| i) Hacer la compra | **Ninguna** | **Máxima** |

---

**2.- Instrucciones:**

Para cada pregunta marque una **X** en la casilla que mejor indique la influencia global que ha ejercido su fibromialgia en los últimos 7 días.

a) La fibromialgia me impidió hacer lo que tenía proyectado esta semana

**Nunca** **Siempre**

b) Los síntomas de mi fibromialgia me tuvieron totalmente abrumada

**Nunca** **Siempre**

---

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

**3.- Instrucciones:** Para cada pregunta marque una **X** en la casilla que mejor indique la intensidad de los síntomas de su fibromialgia durante los últimos 7 días

| | | |
|---|---|---|
| a) Dolor | **Ningún dolor** | **Dolor insoportable** |
| b) Energía | **Muchísima energía** | **Ninguna energía** |
| c) Rigidez | **Ninguna rigidez** | **Rigidez intensa** |
| d) Calidad del sueño | **Me levanto descansada** | **Me levanto muy cansada** |
| e) Depresión | **Nada** | **Muy deprimida deprimida** |
| f) Problemas de memoria | **Buena memoria** | **Muy mala memoria** |
| g) Ansiedad | **Nada ansiosa** | **Muy ansiosa** |
| h) Dolorimiento al tacto | **Ninguno** | **Muchísimo** |
| i) Problemas de equilibrio | **Ninguno** | **Severos** |
| j) Grado de sensibilidad al ruido intenso, la luz brillante, los olores y el frío | **Ninguna sensibilidad** | **Mucha sensibilidad** |

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

**COMPASS31 VERSIÓN CORTA DE 31 PREGUNTAS**

Iniciales | | | | Folio | | | |

**Nombre:** _____
(Apellido paterno) (Apellido materno) (Nombre-s)

**Fecha:** _____
(dd-MMM-aaaa)

## COMPASS 31

Agradecemos su entusiasmo para contestar este cuestionario. Por favor lea cuidadosamente las siguientes preguntas y conteste la opción más correcta. En caso de tener alguna duda por favor no la deje sin contestar.

1.- Durante los últimos 12 meses, ¿alguna vez se ha sentido mareado, atontado ó con dificultad para pensar inmediatamente después de levantarse de la cama o de una silla?

- O 1 Si
- O 2 No ► POR FAVOR CONTINUE EN LA PREGUNTA 5

2.- Al levantarse, ¿qué tan seguido tiene estas sensaciones o síntomas?

- O 1 Rara vez
- O 2 Ocasionalmente
- O 3 Frecuentemente
- O 4 Casi siempre

3.- ¿Cómo calificaría la severidad de estas sensaciones o síntomas?

- O 1 Leve
- O 2 Moderado
- O 3 Severo

4.- Durante este último año, estas sensaciones o síntomas:

- O 1 Han empeorado mucho
- O 2 Han empeorado algo
- O 3 Se mantienen más o menos igual
- O 4 Han mejorado más o menos
- O 5 Han mejorado mucho
- O 6 Han desaparecido completamente

5.- Durante los últimos 12 meses ¿ha notado alguna vez cambios en el color de su piel, como roja, blanca ó morada?

- O 1 Si
- O 2 No ► POR FAVOR CONTINUE EN LA PREGUNTA 8

6.- ¿Qué partes de su cuerpo son afectados por estos cambios de color? marque todas las opciones que lo describan.

- O 1 Mis manos
- O 2 Mis pies

7.- Estos cambios de color en su piel:

- O 1 Están empeorando mucho
- O 2 Están empeorando algo
- O 3 Permanecen más o menos igual
- O 4 Están mejorando algo
- O 5 Están mejorando mucho
- O 6 Han desaparecido completamente

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

8.- Durante los últimos 5 años, ¿qué cambios ha notado (si es que ha notado) en la sudoración general de su cuerpo?

- O 1 Sudo mucho más que antes
- O 2 Sudo un poco más que antes
- O 3 No he notado cambios en mi sudoración
- O 4 Sudo un poco menos que antes
- O 5 Sudo mucho menos que antes

9.- ¿Siente sus ojos excesivamente secos?

- O 1 Sí
- O 2 No

10.- ¿Siente su boca excesivamente reseca?

- O 1 Sí
- O 2 No

11.- Para el síntoma que mencionó que ha tenido por el periodo más largo (ojos secos o boca reseca), este síntoma:

- O 1 No he tenido alguno de estos síntomas
- O 2 Ha empeorando mucho
- O 3 Ha empeoran algo
- O 4 Ha permanecido más o menos igual
- O 5 Ha mejorando algo
- O 6 Ha mejorando mucho
- O 7 Ha desaparecido completamente

12.- Durante los últimos 12 meses, ¿ha notado algún cambio en cuanto a qué tan pronto se "llena" al comer?

- O 1 Ahora me "lleno" mucho más rápido que antes
- O 2 Ahora me "lleno" más rápido que antes
- O 3 No he notado algún cambio
- O 4 Ahora me "lleno" menos rápido que antes
- O 5 Ahora me "lleno" mucho menos rápido que antes

13.- Durante los últimos 12 meses, ¿se ha sentido "lleno" en exceso o persistentemente "lleno" (inflado) después de comer?

- O 1 Nunca
- O 2 Algunas veces
- O 3 Casi todo el tiempo

14.- Durante los últimos 12 meses, ¿ha vomitado después de alguna comida?

- O 1 Nunca
- O 2 Algunas veces
- O 3 Muchas veces

15.- Durante los últimos 12 meses, ¿ha sentido dolor tipo calambres o cólicos en el abdomen?

- O 1 Nunca
- O 2 Algunas veces
- O 3 Muchas veces

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

16.- Durante los últimos 12 meses, ¿ha tenido algunos ataques de diarrea?

- O 1 Si
- O 2 No ► POR FAVOR CONTINUE EN LA PREGUNTA 20

17.- ¿Con qué frecuencia le ocurren éstos ataques de diarrea?

- O 1 Rara vez
- O 2 Ocasionalmente
- O 3 Frecuentemente, _____ veces cada mes
- O 4 Constantemente

18.- ¿Qué tan intensos son estos ataques de diarrea?

- O 1 Leves
- O 2 Moderados
- O 3 Severos

19.- Estos ataques de diarrea se están volviendo:

- O 1 Mucho peores
- O 2 Un poco peores
- O 3 Permanecen igual
- O 4 Un poco mejores
- O 5 Mucho mejores
- O 6 Han desaparecido por completo

20. Durante los últimos 12 meses, ¿ha estado estreñido?

- O 1 Si
- O 2 No ► POR FAVOR CONTINUE EN LA PREGUNTA 24

21. ¿Qué tan seguido está usted estreñido?

- O 1 Rara vez
- O 2 Ocasionalmente
- O 3 Frecuentemente, _____ veces cada mes
- O 4 Constantemente

22. ¿Qué tan intensos son estos episodios de estreñimiento?

- O 1 Leves
- O 2 Moderados
- O 3 Severos

23. Su estreñimiento se está volviendo:

- O 1 Mucho peor
- O 2 Un poco peor
- O 3 Permanece igual
- O 4 Un poco mejor
- O 5 Mucho mejor
- O 6 Completamente desaparecido

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

24.- Durante los últimos 12 meses, ¿se le ha escapado la orina o ha perdido el control de la función de su vejiga?

- O 1 Nunca
- O 2 Ocasionalmente
- O 3 Frecuentemente,_____ veces al mes
- O 4 Constantemente

25.- Durante los últimos 12 meses, ¿ha tenido dificultad para orinar?

- O 1 Nunca
- O 2 Ocasionalmente
- O 3 Frecuentemente,_____ veces al mes
- O 4 Constantemente

26.- Durante los últimos 12meses ¿ha tenido problemas para vaciar completamente la vejiga?

- O 1 Nunca
- O 2 Ocasionalmente
- O 3 Frecuentemente,_____ veces al mes
- O 4 Constantemente

27.- Durante los últimos 12 meses, sin usar lentes oscuros o de color, ¿le ha molestado la luz brillante?

- O 1 Nunca ► POR FAVOR CONTINUE EN LA PREGUNTA 29
- O 2 Ocasionalmente
- O 3 Frecuentemente
- O 4 Constantemente

28.- ¿Qué tan intensa es esta sensibilidad a la luz brillante?

- O 1 Leve
- O 2 Moderada
- O 3 Severa

29.- Durante los últimos 12 meses, ¿ha tenido problemas para enfocar su vista?

- O 1 Nunca ► POR FAVOR CONTINUE EN LA PREGUNTA 31
- O 2 Ocasionalmente
- O 3 Frecuentemente
- O 4 Constantemente

30.- ¿Qué tan intenso es este problema de su vista?

- O 1 Leve
- O 2 Moderada
- O 3 Severa

31.- El síntoma más problemático de sus ojos (sensibilidad a la luz brillante o problemas para enfocar su vista) se está poniendo:

- O 1 No tengo ninguno de estos síntomas
- O 2 Mucho peor
- O 3 Algo peor
- O 4 Permanece igual
- O 5 Algo mejor
- O 6 Está mejorando mucho
- O 7 Ha desaparecido completamente

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

# S - LANSS

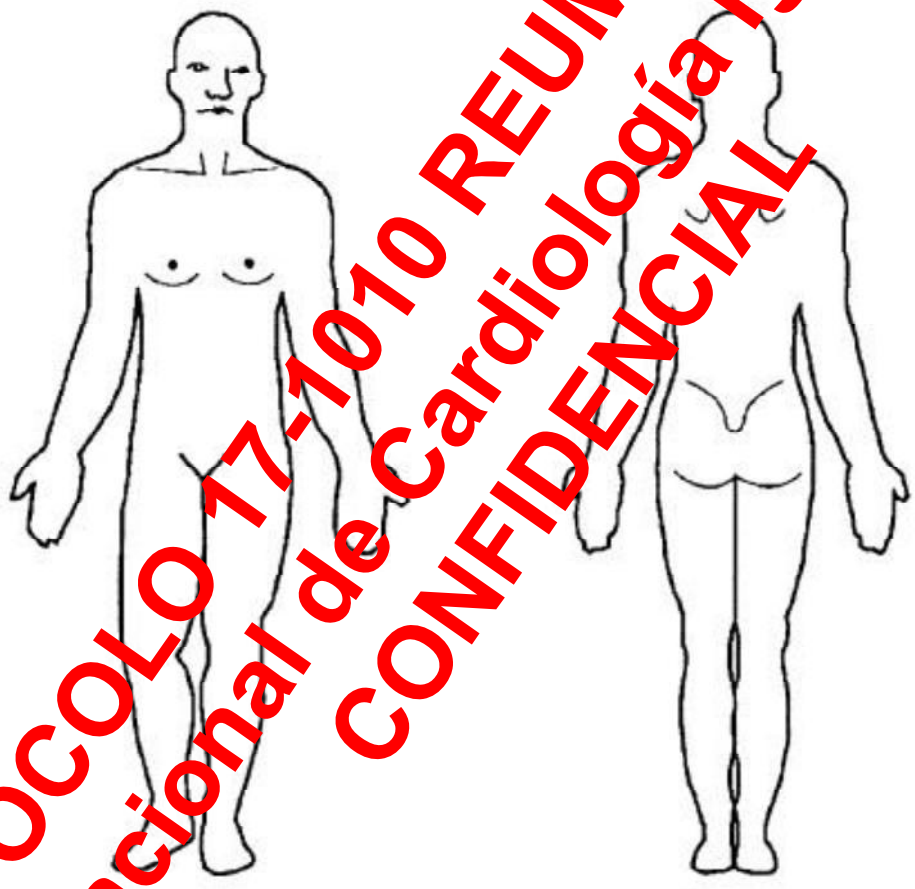
Iniciales | | | | Folio | | | |

**Nombre:** _____
(Apellido paterno) (Apellido materno) (Nombre-s)

**Fecha:** _____
(dd-MMM-aaaa)

## CUESTIONARIO SOBRE EL DOLOR

El siguiente cuestionario puede decirnos que tipo de dolor es el que se encuentra sintiendo. Por favor dibuje en la figura la superficie de su cuerpo donde siente dolor.



**Para el dolor que indicó en el dibujo ¿Qué tan intenso ha sido en la escala del 0 al 10? (0 es nada de dolor y 10 el peor dolor posible).**

| 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nada | | | | | | | | | | Dolor grave |

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

Piense en *cómo ha sido su dolor en la **última semana.***
Por favor, indique si algunas de las siguientes descripciones corresponden exactamente con el dolor que usted siente.

**1. ¿Percibe el dolor como sensaciones extrañas y desagradables en su piel? Esas sensaciones podrían describirse con palabras como picazón, hormigueo, pinchazos o agujetas.**

☐ NO – Mi dolor no se parece realmente a eso. (0)
☐ SÍ – Tengo esas sensaciones con mucha frecuencia. (5)

**2. Cuando tiene el dolor ¿la piel de la zona dolorida tiene un aspecto diferente al normal? Ese aspecto podría describirse con palabras como moteado o más rojo o rosa de lo normal.**

☐ NO – El dolor que siento no afecta realmente a mi piel. (0)
☐ SÍ – He observado que el dolor hace que mi piel tenga un aspecto diferente al normal. (5)

**3. ¿Hace su dolor que la piel afectada tenga una sensibilidad anormal al tacto? Esa sensibilidad anormal puede describirse como sensación desagradable ante ligeros toques de la piel, o dolor al usar ropa apretada.**

☐ NO – El dolor que siento no provoca una sensibilidad anormal de la piel en esa zona. (0)
☐ SÍ – Mi piel parece tener una sensibilidad anormal al tacto en esa zona. (3)

**4. ¿Aparece su dolor repentinamente y a ráfagas o brotes, sin razón aparente cuando está usted tranquilo? Esas sensaciones pueden describirse con palabras como descargas eléctricas, sobresalto o brotes, ráfagas de dolor.**

☐ NO – El dolor que siento no es realmente así. (0)
☐ SÍ – Tengo esas sensaciones con mucha frecuencia. (2)

**5. ¿Su dolor le hace sentir como si la temperatura de la piel en la zona dolorida hubiera cambiado de forma anormal? Esas sensaciones pueden describirse con palabras como calor y ardoroso.**

☐ NO – En realidad no tengo esas sensaciones. (0)
☐ SÍ – Tengo esas sensaciones con mucha frecuencia. (1)

**6. Frote suavemente la zona adolorida con el dedo índice y luego frote una zona no dolorosa (por ejemplo, un área de la piel más alejada o en el lado opuesto de la zona dolorosa). ¿Cómo siente el roce en el área del dolor?**

☐ El área del dolor no se siente diferente de la zona no dolorosa. (0)
☐ Siento molestias como alfileres y agujas, hormigueo o ardor en el área del dolor y es diferente de la zona no dolorosa. (5)

**7. Presione suavemente sobre la zona dolorida con la punta del dedo y luego, de la misma manera, presione suavemente en una zona no dolorosa (la misma zona no dolorosa que eligió en la última pregunta) ¿Cómo se siente el área adolorida?**

☐ El área adolorida no se siente diferente de la zona no dolorosa. (0)
☐ Siento adormecimiento o molestia a la presión en el área del dolor que es diferente de la zona no dolorosa. (3)

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

# SFSS

Iniciales ☐☐☐ Folio ☐☐☐

**Nombre:** _____
(Apellido paterno) (Apellido materno) (Nombre-s)

**Fecha:** _____
(dd-MMM-aaaa)

## ENCUESTA DE SÍNTOMAS DE NEUROPATÍA DE FIBRAS FINAS

Evalúe cuánto le ha afectado cada uno de los siguientes síntomas en la última semana:

| | | Nada | Un poco | Más o menos | Mucho | Demasiado |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Nausea o vómito | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 2 | Estómago rápidamente lleno o inflado después de las comidas | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 3 | Menos apetito o pérdida involuntaria de peso | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 4 | Dolor de cabeza | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 5 | Estreñimiento | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 6 | Piel que duele sin razón | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 7 | Piel que duele después de un contacto suave (tacto, brisa) | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 8 | Piel que quema o requiere enfriamiento para mayor comodidad | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 9 | Dificultad con la función sexual | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 10 | Menor resistencia o fuerza para las actividades | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 11 | Cansancio (fatiga) | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 12 | Problemas con los ojos (secos, sensibles a la luz, dificultad para enfocar) | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 13 | Diarrea | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 14 | Latidos rápidos | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 15 | Piel con color inusual o cambios de color | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 16 | Menos crecimiento de vello en las piernas o los pies | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 17 | Cambios en la sudoración de su cuerpo | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 18 | Hinchazón en manos o pies | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 19 | Piel que pica sin razón | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 20 | Dificultad para vaciar completamente la vejiga | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 21 | Dificultad para orinar | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 22 | Frecuencia, urgencia o incontinencia urinaria | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

| | | Nada | Un poco | Más o menos | Mucho | Demasiado |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 23 | Dificultad para pensar, concentrarse o recordar | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 24 | Hormigueo o "alfileres y agujas" | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 25 | Dolores o dolores profundos | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 26 | Necesidad de mover las piernas a menudo para mayor comodidad | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 27 | Piel que tiene menos sensación (entumecimiento) | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 28 | Sensación de mareo o desmayo al ponerse de pie | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 29 | Dolor abdominal | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 30 | Sensación de vibración profunda o temblores | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 31 | Ampollas o llagas dentro de la boca | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 32 | Ampolla, llagas o úlceras en los pies o las manos | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |

Indique la intensidad de su dolor crónico generalizado (en ambos lados de su cuerpo) en su peor percepción durante la última semana:

| | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Nada** | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ | **Máximo dolor posible** |
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | |

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

# PHQ9 GAD7

Iniciales | | | | Folio | | | |

**Nombre:** _____
(Apellido paterno) (Apellido materno) (Nombre-s)

**Fecha:** _____
(dd-MMM-aaaa)

Durante las últimas 2 semanas, ¿qué tan seguido le han afectado cualquiera de los siguientes problemas?
(Marque con una "✔" para indicar su respuesta):

| | PHQ9 | Nunca | Varios días | Más de la mitad de los días | Casi todos los días |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Poco interés o placer en hacer las cosas | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 2 | Se ha sentido decaída, deprimida, o sin esperanzas | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 3 | Dificultad para dormir o permanecer dormida, o ha dormido demasiado | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 4 | Se ha sentido cansada o con poca energía | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 5 | Con poco apetito o ha comido en exceso | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 6 | Se ha sentido mal con usted misma – o que es un fracaso o que ha quedado mal con usted misma o con su familia | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 7 | Ha tenido dificultad para concentrarse en cosas tales como leer el periódico o ver televisión | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 8 | ¿Se ha estado moviendo o hablando tan lento que otras personas podrían notarlo?, o por el contrario – ha estado tan inquieta o agitada, que se ha estado moviendo mucho más de lo normal | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 9 | Ha pensado que estaría mejor muerta o se le ha ocurrido lastimarse de alguna manera | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |

Durante las últimas 2 semanas, ¿con qué frecuencia ha sentido molestias por los siguientes problemas?
(Marque con una "✔" para indicar su respuesta):

| | GAD7 | Nunca | Varios días | Más de la mitad de los días | Casi todos los días |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Sentirse nerviosa, intranquila o con los nervios de punta | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 2 | No poder dejar de preocuparse o no poder controlar la preocupación | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 3 | Preocuparse demasiado por diferentes cosas | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 4 | Dificultad para relajarse | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 5 | Estar tan inquieta que es difícil permanecer sentada tranquilamente | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 6 | Molestarse o ponerse irritable fácilmente | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| 7 | Sentir miedo como si algo terrible pudiera pasar | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

# HADS

Iniciales | | | | Folio | | | |

**Nombre:** _____
(Apellido paterno) (Apellido materno) (Nombres)

**Fecha:** _____
(dd-MMM-aaaa)

## Escala Hospitalaria de Ansiedad y Depresión

Esta prueba está dirigida a determinar cómo te has sentido en la última semana a pesar de que las preguntas están formuladas en presente. Debes elegir entre una de cuatro posibilidades con respecto a la pregunta realizada, marcando así ☒ la respuesta elegida.

1. Me siento tenso o nervioso
☐ (0) Nunca
☐ (1) A veces
☐ (2) Muchas veces
☐ (3) Todos los días

2. Todavía disfruto con lo que antes me gustaba
☐ (0) Como siempre
☐ (1) No lo bastante
☐ (2) Sólo un poco
☐ (3) Nada

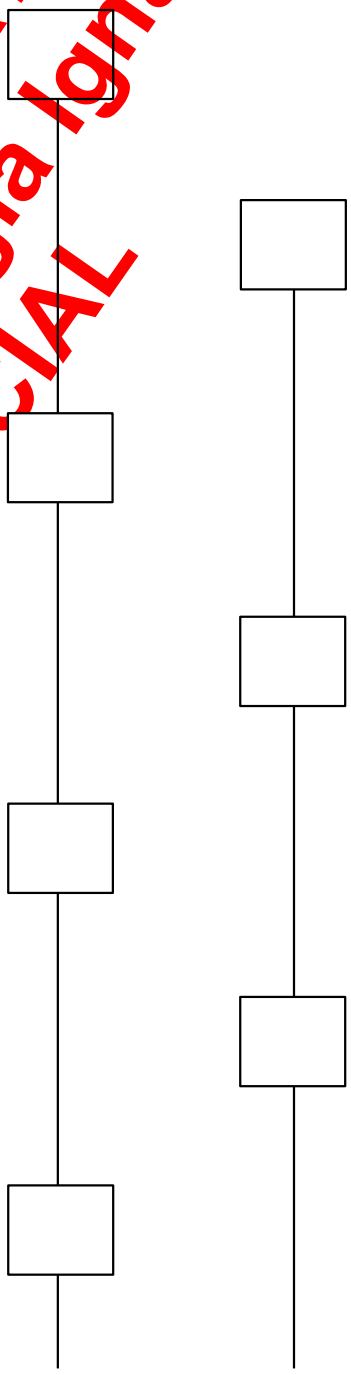
3. Tengo una sensación de miedo, como si algo horrible me fuera a suceder
☐ (0) Nada
☐ (1) Un poco, pero me preocupa
☐ (2) Sí, pero no es muy fuerte
☐ (3) Definitivamente, y es muy fuerte

4. Puedo reírme y ver el lado divertido de las cosas
☐ (0) Al igual que siempre lo hice
☐ (1) No tanto ahora
☐ (2) Casi nunca
☐ (3) Nunca

5. Tengo mi mente llena de preocupaciones
☐ (0) Sólo en ocasiones
☐ (1) A veces, aunque no muy a menudo
☐ (2) Con bastante frecuencia
☐ (3) La mayoría de las veces

6. Me siento alegre
☐ (0) Casi siempre
☐ (1) A veces
☐ (2) No muy a menudo
☐ (3) Nunca

7. Puedo estar sentado tranquilamente y sentirme relajado
☐ (0) Siempre
☐ (1) Por lo general
☐ (2) No muy a menudo
☐ (3) Nunca



PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

8. Me siento como si cada día estuviera más lento
☐ (0) Nunca
☐ (1) A veces
☐ (2) Muy a menudo
☐ (3) Por lo general en todo momento

9. Tengo una sensación extraña, como de “aleteo” en el estómago
☐ (0) Nunca
☐ (1) En ciertas ocasiones
☐ (2) Con bastante frecuencia
☐ (3) Muy a menudo

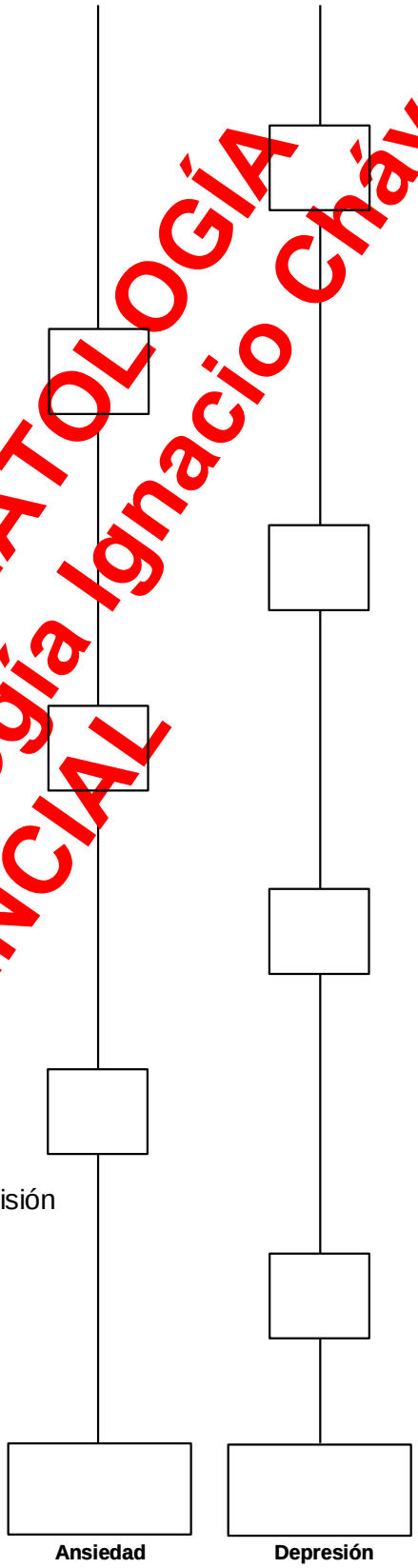
10. He perdido interés por mi aspecto personal
☐ (0) Me preocupo al igual que siempre
☐ (1) Podría tener un poco más cuidado
☐ (2) No me preocupo tanto como debiera
☐ (3) Totalmente

11. Me siento inquieto, como si no pudiera parar de moverme
☐ (0) Nada
☐ (1) No mucho
☐ (2) Bastante
☐ (3) Mucho

12. Me siento optimista respecto al futuro
☐ (0) Igual que siempre
☐ (1) Menos de lo que acostumbraba
☐ (2) Mucho menos de lo que acostumbraba
☐ (3) Nada

13. Me asaltan sentimientos repentinos de pánico
☐ (0) Nada
☐ (1) No muy a menudo
☐ (2) Bastante a menudo
☐ (3) Muy frecuentemente

14. Me divierto con un buen libro, la radio o un programa de televisión
☐ (0) A menudo
☐ (1) A veces
☐ (2) No muy a menudo
☐ (3) Rara vez




PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

INTERPRETACIÓN

Subescala ansiedad: sumar el resultado de las respuestas a las 7 preguntas impares (0-21)
Subescala depresión: sumar el resultado de las respuestas a las 7 preguntas pares (0-21)
Puntuaciones:

Inferior o igual a 7 = no caso
8-10 = caso dudoso
Igual o superior a 11 = caso

**IPAQ**

Iniciales | | | | Folio | | | |

**Nombre:** _____
(Apellido paterno) (Apellido materno) (Nombre-s)

**Fecha:** _____
(dd-MMM-aaaa)

# CUESTIONARIO INTERNACIONAL DE ACTIVIDAD FÍSICA

Estamos interesados en saber acerca de la clase de actividad física que la gente hace como parte de su vida diaria. Las preguntas se referirán acerca del tiempo que usted utilizó siendo físicamente activo(a) en los **últimos 7 días**. Por favor responda cada pregunta aún si usted no se considera una persona activa. Por favor piense en aquellas actividades que usted hace como parte del trabajo, en el jardín y en la casa, para ir de un sitio a otro, y en su tiempo libre de descanso, ejercicio o deporte.

Piense acerca de todas aquellas actividades **vigorosas** que usted realizó en los **últimos 7 días**. Actividades **vigorosas** son las que requieren un esfuerzo físico fuerte y le hacen respirar mucho más fuerte que lo normal. Piense *solamente* en esas actividades que usted hizo por lo menos 10 minutos continuos.

1. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días realizó usted actividades físicas **vigorosas** como levantar objetos pesados, excavar, aeróbicos, o pedalear rápido en bicicleta?

_____ **días por semana**

☐ Ninguna actividad física vigorosa → ***Pase a la pregunta 3***

2. ¿Cuánto tiempo en total usualmente le tomó realizar actividades físicas **vigorosas** en uno de esos días que las realizó?

_____ **horas por día**

_____ **minutos por día**

☐ No sabe/No está seguro(a)

Piense acerca de todas aquellas actividades **moderadas** que usted realizo en los **últimos 7 días**. Actividades **moderadas** son aquellas que requieren un esfuerzo físico moderado y le hace respirar algo más fuerte que lo normal. Piense *solamente* en esas actividades que usted hizo por lo menos 10 minutos continuos.

3. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días hizo usted actividades físicas **moderadas** tal como cargar objetos livianos, pedalear en bicicleta a paso regular, o jugar dobles de tenis? No incluya caminatas.

_____ **días por semana**

☐ Ninguna actvidad física moderada → ***Pase a la pregunta 5***

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

4. Usualmente, ¿Cuánto tiempo dedica usted en uno de esos días haciendo actividades físicas **moderadas**?

_____ **horas por día**

_____ **minutos por día**

☐ No sabe/No está seguro(a)

Piense acerca del tiempo que usted dedicó a caminar en los **últimos 7 días**. Esto incluye trabajo en la casa, caminatas para ir de un sitio a otro, o cualquier otra caminata que usted hizo únicamente por recreación, deporte, ejercicio, o placer.

5. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días caminó usted por al menos 10 minutos continuos?

_____ **días por semana**

☐ No caminó → ***Pase a la pregunta 7***

6. Usualmente, ¿Cuánto tiempo gastó usted en uno de esos días **caminando**?

_____ **horas por día**

_____ **minutos por día**

☐ No sabe/No está seguro(a)

La última pregunta se refiere al tiempo que usted permaneció **sentado(a)** en la semana en los **últimos 7 días**. Incluya el tiempo sentado(a) en el trabajo, la casa, estudiando, y en su tiempo libre. Esto puede incluír tiempo sentado(a) en un escritorio, visitando amigos(as), leyendo o permanecer sentado(a) o acostado(a) mirando television.

7. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuánto tiempo permaneció **sentado(a)** en un **día en la semana**?

_____ **horas por día**

_____ **minutos por día**

☐ No sabe/No está seguro(a)

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

**EuroQol**

**Nombre:** _____ Iniciales ☐☐☐ Folio ☐☐☐

(Apellido paterno) (Apellido materno) (Nombre-s)

Debajo de cada enunciado, marque UNA casilla, la que mejor describa su salud HOY.

**Fecha:** _____ (dd-MMM-aaaa)

## MOVILIDAD

- No tengo problemas para caminar ☐
- Tengo problemas leves para caminar ☐
- Tengo problemas moderados para caminar ☐
- Tengo problemas graves para caminar ☐
- No puedo caminar ☐

## CUIDADO PERSONAL

- No tengo problemas para lavarme o vestirme ☐
- Tengo problemas leves para lavarme o vestirme ☐
- Tengo problemas moderados para lavarme o vestirme ☐
- Tengo problemas graves para lavarme o vestirme ☐
- No puedo lavarme o vestirme ☐

## ACTIVIDADES COTIDIANAS *(ej. trabajar, estudiar, hacer tareas domésticas, actividades familiares o recreativas)*

- No tengo problemas para realizar mis actividades cotidianas ☐
- Tengo problemas leves para realizar mis actividades cotidianas ☐
- Tengo problemas moderados para realizar mis actividades cotidianas ☐
- Tengo problemas graves para realizar mis actividades cotidianas ☐
- No puedo realizar mis actividades cotidianas ☐

## DOLOR / MALESTAR

- No tengo dolor ni malestar ☐
- Tengo dolor o malestar leves ☐
- Tengo dolor o malestar moderados ☐
- Tengo dolor o malestar fuertes ☐
- Tengo dolor o malestar extremos ☐

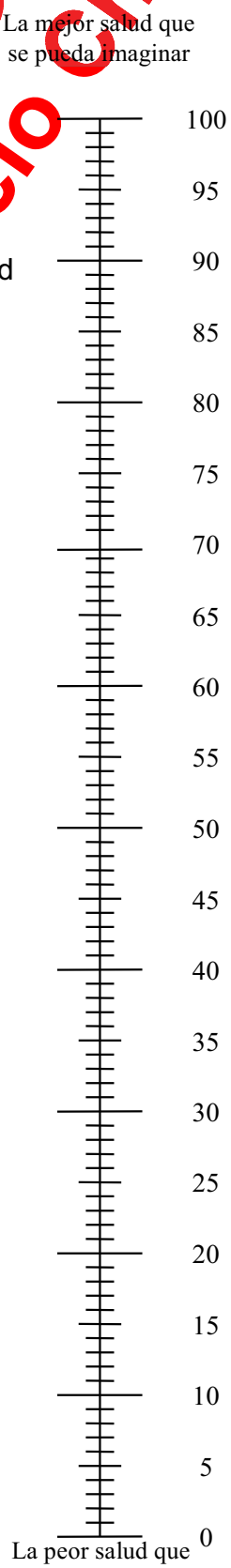
## ANSIEDAD / DEPRESIÓN

- No estoy ansioso ni deprimido ☐
- Estoy levemente ansioso o deprimido ☐
- Estoy moderadamente ansioso o deprimido ☐
- Estoy muy ansioso o deprimido ☐
- Estoy extremadamente ansioso o deprimido ☐

PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

- Nos gustaría conocer qué tan buena o mala es su salud el día de HOY.
- La escala está numerada del 0 al 100.
- 100 representa la mejor salud que se pueda imaginar. 0 representa la peor salud que se pueda imaginar.
- Marque con una X en la escala para indicar su estado de salud el día de HOY.
- Ahora, escriba en la casilla que encontrará a continuación el número que ha marcado en la escala.

SU ESTADO DE SALUD HOY =




PROTOCOLO 17-1010 REUMATOLOGÍA
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
CONFIDENCIAL

GOBIERNO DE MÉXICO

Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
*Renacimiento de la excelencia*

**Comité de Ética en Investigación**

INCAR-DG-DI-CEI-106-2021.

**ASUNTO:**
Reporte anual y re aprobación.

Ciudad de México a 03 de marzo, 2021.

**DRA. LAURA ALINE MARTINEZ MARTINEZ**
Investigador Responsable del Proyecto
Departamento de Reumatología
Presente.

Estimada Dra. Martínez:

El Comité de Ética en Investigación, agradece su reporte anual del protocolo **17-1010** Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 3.0 del 24 de enero de 2017.

Se toma nota y se concede por esta ocasión la re aprobación anual, a partir del 7 de abril de 2020 al 7 de abril de 2021 y se le sugiere solicitarla en tiempo y forma.

Atentamente,

**Dr. Ángel Buenaventura Romero Cárdenas**
Presidente del Comité Ética en Investigación.

c.c.p. Archivo

ABRC'PARL'mhj



México 2021 Año de la Independencia

**Comité de Ética en Investigación**

INCAR-DG-DI-CEI-235-2019.

**ASUNTO:**
Reporte anual y re aprobación.

Ciudad de México a 21 de mayo, 2019.

**DRA. LAURA ALINE MARTINEZ MARTINEZ**
Investigador Responsable del Proyecto
Departamento de Reumatología
Presente.

Estimada Dra. Martínez:

El Comité de Ética en Investigación, agradece su reporte anual del protocolo **17-1010** Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 3.0 del 24 de enero de 2017.

Se toma nota y se concede la re aprobación anual, a partir del 6 de abril de 2019 al 6 de abril de 2020.

Atentamente,

**Dr. Ángel Buenaventura Romero Cárdenas**
Presidente del Comité Ética en Investigación.

c.c.p. Archivo

ABRC'PARL'mhj



Juan Badiano 1, Col. Sección XVI, Alcaldía Tlalpan, C.P. 14080, Ciudad de México
Tel.: 5573-2911 ext. 26207 email: combioeticainc@yahoo.com.mx

**Comité de Ética en Investigación.**

INCAR-DG-DI-CEI-335-2018.

**ASUNTO:**
Reporte anual y re aprobación.

Ciudad de México a 04 de julio, 2018.

**DRA. LAURA ALINE MARTINEZ MARTINEZ**
Investigador Responsable del Proyecto
Departamento de Reumatología
Presente.

Estimada Dra. Martínez:

El Comité de Ética en Investigación, agradece su reporte anual del protocolo **17-1010** Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 3.0 del 24 de enero de 2017.

Se toma nota y se concede la re aprobación anual, a partir del 5 de abril de 2018 al 5 de abril de 2019, sugiriendo que se solicite en tiempo la re aprobación siguiente en el mes de abril.

Atentamente,

**Dr. Pedro A. Reyes López**
Secretario del Comité de Ética en Investigación.

c.c.p. Archivo

PARL'mhj



Juan Badiano No. 1, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, C.P. 14080, México, D.F.,
Tel.: (55) 5573 2911 Ext. 1223, email: combioeticainc@yahoo.com.mx

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ

DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

**"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"**

**Datos del Protocolo**

| | |
|---|---|
| No. de protocolo | **17-1010** |
| Fecha de recepción | 29-marzo-2017 |
| Fecha de aprobación | 04-abril-2017 |
| Patrocinador: (Si aplica) | Instituto Nacional de Cardiología |
| Razón Social y la dirección del Centro de Investigación donde se llevará a cab el Protocolo de Investigación | Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. Juan Badiano No. 1 Col. Sección XVI Deleg. Talpan 14080 México D.F. |

Título del Protocolo:
**Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variablidad de la frecuencia cardiaca. Versión 3.0 del 24 de enero de 2017.**

Investigador principal (responsable del protocolo):
**Dra. Laura Aline Martínez Martínez**

| **Descripción de los documentos revisados y aprobados, que Incluye descripción detallada de la versión y fecha.** | **Incluye documentos en** | |
|---|---|---|
| | **Español** | **Inglés** |
| Protocolo Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 3.0 del 24 de enero de 2017 en formato institucional. | ✓ | |
| Formato de Consentimiento Informado para el protocolo Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 1.0 del 24 de enero de 2017. | ✓ | |
| Formato de envío al Servicio de Córnea del Hospital Dr. Luis Sánchez Bulnes. | ✓ | |
| Ficha de identificación, datos clínicos y procedimientos. | ✓ | |
| Registro de actividades o eventos de Holter con cita para retiro de Holter. | ✓ | |
| Criterios de fibromialgia 2010, 2011 y 2016. | ✓ | |
| Cuestionario Revisado de Impacto de la Fibromialgia (FIQR) | ✓ | |
| Composite Autonomic Symptom Score de 31 preguntas (COMPASS-31) | ✓ | |
| Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs pain scale (S-LANSS) | ✓ | |
| Cuestionario de dolor neuropático (DN4) | ✓ | |
| Encuesta de síntomas de neuropatía de fibras finas (SFSS) | ✓ | |
| Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9) y Generalized Anxiety Disorder-7 (GAD-7) | ✓ | |
| Escala de ansiedad y depresión hospitalaria (HADS) | ✓ | |
| Cuestionario de actividad física internacional (IPAQ) | ✓ | |

| **RESOLUCIÓN** | | **Observaciones** |
|---|---|---|
| **Aprobado** | ✓ | Se aprueba, por unanimidad, vigencia por un año. |
| **Condicionado** | | |
| **Rechazado** | | |

Cubre los principios bioéticos fundamentales: autonomía beneficencia, no maleficencia y justicia.

Atentamente

**Dr. Ángel Buenaventura Romero Cárdenas**
Presidente del Comité de Ética en Investigación.

c.c.p. Archivo.

ABRC'mhj.

*"2017, Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"*

**Dictamen del Comité de Investigación**

| | |
|---|---|
| **No. de protocolo en el INCar:** | **17-1010** |
| **Nombre del estudio:** | Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopía confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 3.0 del 24 de enero de 2017. |
| **Número del estudio:** | ---- |
| **Sitio donde se realizará el estudio:** | Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez |
| **Domicilio del sitio donde se realizará el estudio:** | Juan Badiano No. 1, Colonia Sección XVI, C.P. 14080. Tlalpan, Ciudad de México. |

Ciudad de México, a 28 de marzo de 2017.

**Dra. Laura Aline Martínez Martínez**
Investigadora Responsable del Proyecto
Departamento de Reumatología
Presente.

Dra. Martínez:

Le informamos que los documentos que se mencionan a continuación, han sido revisados y aprobados por el Comité de Investigación del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, sito en Juan Badiano No. 1, Col. Sección XVI, C.P. 14080, Tlalpan, Ciudad de México.

1. Protocolo Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopía confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 3.0 del 24 de enero de 2017 en formato institucional, en español.
2. Formato de Consentimiento Informado ara el protocolo Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopía confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 1.0 del 24 de enero de 2017, en español.
3. Formato de envío al Servicio de Córnea del Hospital Dr. Luis Sánchez Bulnes, en español.
4. Ficha de identificación, datos clínicos y procedimientos, en español.
5. Registro de actividades o eventos de Holter con cita para retiro de Holter, en español.
6. Criterios de fibromialgia 2010, 2011, 2016, en español.
7. Cuestionario Revisado de Impacto de la Fibromialgia (FIQR), en español.
8. Composite Autonomic Symptom Score de 31 preguntas (COMPASS-31), en español.
9. Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs pain scale (S.LANSS), en español.
10. Cuestionario de dolor neuropático (DN4), en español.
11. Encuesta de síntomas de neuropatía de fibras finas (SFSS), en español.
12. Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9) y Generalized Anxiety Disorder-7 (GAD-7), en español.
13. Escala de ansiedad y depresión hospitalaria (HADS), en español.
14. Cuestionario de actividad física internacional (IPAQ), en español.

El Comité de Investigación no sella ningún documento, sólo emite dictamen.

Le envío un cordial saludo.

Atentamente,

EL PRESIDENTE DEL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

**Dr. Gilberto Vargas Alarcón**
Subdirector de Investigación Básica y Tecnológica.

c.c.p. Expediente

GVA'ehg

*"2017, Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"*

## Carta de Aceptación de Proyecto de Investigación

| | |
|---|---|
| **No. de protocolo en el INCar:** | **17-1010** |
| **Nombre del estudio:** | Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopía confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 3.0 del 24 de enero de 2017. |
| **Número del estudio:** | ---- |
| **Sitio donde se realizará el estudio:** | Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez |
| **Domicilio del sitio donde se realizará el estudio:** | Juan Badiano No. 1, Colonia Sección XVI, C.P. 14080. Tlalpan, Ciudad de México. |

Ciudad de México, a 17 de abril de 2017.

**Dra. Laura Aline Martínez Martínez**
Investigadora Responsable del Proyecto
Departamento de Reumatología
Presente.

Dra. Martínez:

Me permito informar a usted, que su propuesta de proyecto de investigación, ha sido revisada y aprobada por los Comités de Investigación y de Ética en Investigación en sus sesiones ordinarias del 28 de marzo y 4 de abril de 2017, respectivamente.

Ambos Comités revisaron a aprobaron la siguiente documentación:

1. Protocolo Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopía confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 3.0 del 24 de enero de 2017 en formato institucional, en español.
2. Formato de Consentimiento Informado ara el protocolo Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopía confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 1.0 del 24 de enero de 2017, en español.
3. Formato de envío al Servicio de Córnea del Hospital Dr. Luis Sánchez Bulnes, en español.
4. Ficha de identificación, datos clínicos y procedimientos, en español.
5. Registro de actividades o eventos de Holter con cita para retiro de Holter, en español.
6. Criterios de fibromialgia 2010, 2011, 2016, en español.
7. Cuestionario Revisado de Impacto de la Fibromialgia (FIQR), en español.
8. Composite Autonomic Symptom Score de 31 preguntas (COMPASS-31), en español.
9. Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs pain scale (S.LANSS), en español.
10. Cuestionario de dolor neuropático (DN4), en español.
11. Encuesta de síntomas de neuropatía de fibras finas (SFSS), en español.
12. Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9) y Generalized Anxiety Disorder-7 (GAD-7), en español.
13. Escala de ansiedad y depresión hospitalaria (HADS), en español.
14. Cuestionario de actividad física internacional (IPAQ), en español.

Le envío un cordial saludo.

Atentamente,

**Dr. Jesús Vargas Barrón**
Director de Investigación.

c.c.p. Subdirección de Investigación Clínica
Jefatura de Trabajo Social.
Expediente

JVB'ehg

Comité de Ética en Investigación.

**" Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"**

INC/CEI/430/2017

**ASUNTO:**
Aprobación de documentos.

Ciudad de México a 14 de noviembre, 2017.

**DRA. LAURA ALINE MARTINEZ MARTINEZ**
Investigador Responsable del Proyecto
Departamento de Reumatología
Presente.

Estimada Dra. Martínez:

El Comité de Ética en Investigación revisó y aprobó los siguientes documentos aplicables al protocolo **17-1010** Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 3.0 del 24 de enero de 2017.

- Formato de Consentimiento Informado para el protocolo Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 2.0 del 20 de octubre de 2017.

Atentamente,

**Dr. Ángel Buenaventura Romero Cárdenas**
Presidente del Comité Ética en Investigación.

c.c.p. Archivo

ABRC'PARL'mhj



Juan Badiano No. 1, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, C.P. 14080, México, D.F.,
Tel.: (55) 5573 2911 Ext. 1223, email: combioeticainc@yahoo.com.mx

## Comité de Ética en Investigación.

**" Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"**

INC/CEI/438/2017

**ASUNTO:**
Notificación.

Ciudad de México a 22 de noviembre, 2017.

**DRA. LAURA ALINE MARTINEZ MARTINEZ**
Investigador Responsable del Proyecto
Departamento de Reumatología
Presente.

Estimada Dra. Martínez:

El Comité de Ética en Investigación agradece su notificación de que se han implementado y actualizado los siguientes documentos que se utilizarán durante el protocolo **17-1010** Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 3.0 del 24 de enero de 2017.

Formatos nuevos implementados:

1. Formato de envío al Departamento de Reumatología del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.
2. Formato para Capilaroscopia.
3. Checklist para criterios de inclusión y exclusión.

Formatos que han ameritado actualizaciones operativas:

4. Formato de envío al Servicio de Córnea del Hospital Dr. Luis Sánchez Bulnes actualizado.
5. Ficha de identificación, datos clínicos y procedimientos actualizados.
6. Registro de actividades o eventos de hoter con cita pera retiro de Holter actualizada.

Se anexa notificación al expediente.

Atentamente,

**Dr. Ángel Buenaventura Romero Cárdenas**
Presidente del Comité Ética en Investigación.

c.c.p. Archivo

ABRC'PARL'mhj



Juan Badiano No. 1, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, C.P. 14080, México, D.F.,
Tel.: (55) 5573 2911 Ext. 1223, email: combioeticainc@yahoo.com.mx

Comité de Ética en Investigación.

**" Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"**

INC/CEI/430/2017

**ASUNTO:**
Aprobación de documentos.

Ciudad de México a 14 de noviembre, 2017.

**DRA. LAURA ALINE MARTINEZ MARTINEZ**
Investigador Responsable del Proyecto
Departamento de Reumatología
Presente.

Estimada Dra. Martínez:

El Comité de Ética en Investigación revisó y aprobó los siguientes documentos aplicables al protocolo **17-1010** Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 3.0 del 24 de enero de 2017.

- Formato de Consentimiento Informado para el protocolo Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 2.0 del 20 de octubre de 2017.

Atentamente,

**Dr. Ángel Buenaventura Romero Cárdenas**
Presidente del Comité Ética en Investigación.

c.c.p. Archivo

ABRC'PARL'mhj



Juan Badiano No. 1, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, C.P. 14080, México, D.F.,
Tel.: (55) 5573 2911 Ext. 1223, email: combioeticainc@yahoo.com.mx

APROBADO
COMITÉ DE ETICA EN INVESTIGACIÓN
Instituto Nacional de Cardiología
Ignacio Chávez
Protocolo 17-1010
Aprobado ☑
Unanimidad ☐
Mayoría
Fecha 14-Nov-2017

# CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO "Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca."

Investigadores principales:
**Dr. Manuel Ramírez Fernández, Hospital Luis Sánchez Bulnes de la Asociación para Evitar la Ceguera en México.**
**Dr. Manuel Martínez Lavín, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.**

Nombre de la participante: _____

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento por duplicado y se le entregará uno de los originales firmado y fechado.

## 1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Las causas de la fibromialgia no se conocen. Se ha propuesto que los nervios encargados de transmitir dolor están irritados lo que provoca dolor constante. Se ha propuesto también que estos nervios están irritados porque hay demasiada adrenalina en su cuerpo. Una forma de definir si los pequeños nervios que transmiten dolor están dañados es mediante un examen de los ojos con un microscopio especial que permite ver los pequeños nervios de la parte externa del ojo. Una forma de investigar cuanta adrenalina hay en su cuerpo es mediante una grabadora portátil de electrocardiograma y la medición en sangre de una sustancia relacionada con el dolor desencadenado por estrés.

## 2. OBJETIVO DEL ESTUDIO

A usted, se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como meta observar a través de un microscopio la estructura de los nervios de la parte superficial de sus ojos y su posible relación con la producción excesiva de adrenalina.

## 3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Usted no obtendrá ningún beneficio directo por este examen, sin embargo, este estudio permitirá que en un futuro otros pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido

## 4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre su enfermedad. Después mediante un microscopio especial llamado "confocal", se tomarán fotografías de la parte superficial del ojo. Para evitar molestias cuando el microscopio se ponga en contacto con el ojo, se le aplicará en el ojo una gota de anestesia. Además, se le pedirá que conteste unos cuestionarios relacionados con la fibromialgia. En otro momento, con el fin de conocer cuanta adrenalina está produciendo su cuerpo, se le conectará una grabadora portátil de los latidos cardiacos que deberá usted usar durante 24 horas y se tomará una muestra de sangre con volumen equivalente de dos a tres cucharadas soperas. Esa muestra de sangre servirá tanto para medir sustancias relacionadas con el dolor como para extraer material genético de tipo DNA y RNA para estudiar mecanismos responsables del dolor en fibromialgia. Como procedimiento anexo, se realizará la observación directa de la estructura de sus vasos sanguíneos del lecho ungueal con un capilaroscopio en los dedos de las manos para descartar la presencia de alteraciones.

## 5. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO

No existen riesgos mayores asociados a esta investigación. La molestia del examen por el oculista y la punción de una vena son procedimientos con un riesgo mínimo. La colocación de la grabadora de los latidos cardiacos y la capilaroscopia tienen un riesgo menor al mínimo. Algunos medicamentos usados para fibromialgia requerirán ser eliminados de su cuerpo previo al registro de los latidos cardiacos por lo que se le pedirá que suspenda sólo un breve tiempo su medicación en caso necesario y será reiniciado en cuanto terminé el proceso de grabación de los latidos cardiacos. Esta maniobra es de riesgo mínimo ya que ningún medicamento vital cuya falta de apego ponga en riesgo su vida o la función de su cuerpo será suspendido durante este estudio, sólo su manejo para fibromialgia.

## 6. ACLARACIONES

Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria. En caso de no aceptar la invitación, no habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted. No recibirá pago por su participación. La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores. Los resultados del estudio genético no estarán disponibles de manera personal, ni a disposición de compañías de seguros, empleadores, familiares, médicos o cualquier otro médico que lo trate ahora o en un futuro. Sólo sus datos de contacto podrán ser compartidos para futuras investigaciones científicas sin fines comerciales con su consentimiento.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

## 7. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado del carácter genético de algunos estudios y entiendo que los datos obtenidos pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. De ser necesario, acepto el breve periodo de tiempo sin medicamentos para fibromialgia. Podrán contactarme para futuras investigaciones relacionadas. Recibiré uno de los originales de esta forma de consentimiento que se firman y fechan por duplicado.

_____ _____
**Firma del participante** **Fecha**

_____ _____
**Testigo 1 (Nombre y firma)** **Fecha**

_____ _____
**Dirección** **Teléfono**

_____ _____
**Testigo 2 (Nombre y firma)** **Fecha**

_____ _____
**Dirección** **Teléfono**

APROBADO
COMITE DE ETICA EN INVESTIGACIÓN
Instituto Nacional de Cardiología
Ignacio Chavez
Protocolo 17-1010
Aprobado
Unanimidad ☑
Mayoría ☐
Fecha 14-Nov-2017

**Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):**

He explicado a _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento en original por duplicado y se entregó uno de los ejemplares a la participante para su archivo personal.

_____ _____
**Nombre y firma de la persona que realiza el procedimiento de consentimiento informado** **Fecha**

## Comité de Ética en Investigación.

**" Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"**

INC/CEI/438/2017

**ASUNTO:**
Notificación.

Ciudad de México a 22 de noviembre, 2017.

**DRA. LAURA ALINE MARTINEZ MARTINEZ**
Investigador Responsable del Proyecto
Departamento de Reumatología
Presente.

Estimada Dra. Martínez:

El Comité de Ética en Investigación agradece su notificación de que se han implementado y actualizado los siguientes documentos que se utilizarán durante el protocolo **17-1010** Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca. Versión 3.0 del 24 de enero de 2017.

Formatos nuevos implementados:

1. Formato de envío al Departamento de Reumatología del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.
2. Formato para Capilaroscopia.
3. Checklist para criterios de inclusión y exclusión.

Formatos que han ameritado actualizaciones operativas:

4. Formato de envío al Servicio de Córnea del Hospital Dr. Luis Sánchez Bulnes actualizado.
5. Ficha de identificación, datos clínicos y procedimientos actualizados.
6. Registro de actividades o eventos de hoter con cita pera retiro de Holter actualizada.

Se anexa notificación al expediente.

Atentamente,

**Dr. Ángel Buenaventura Romero Cárdenas**
Presidente del Comité Ética en Investigación.

c.c.p. Archivo

ABRC'PARL'mhj



Juan Badiano No. 1, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, C.P. 14080, Mexico, D.F.,
Tel.: (55) 5573 2911 Ext. 1223, email: combioeticainc@yahoo.com.mx

**Dr. Manuel Ramírez Fernández.**
**Profesor Titular del Curso de Imagenología Corneal.**
**Hospital Dr. Luis Sánchez Bulnes de la**
**Asociación para Evitar la Ceguera en México A.C.**
**Servicio de Cornea.**
**Presente.**

**Asunto: Protocolo 17-1010.**

Estimado Dr. Ramírez:

Por medio de la presente hacemos constar que el protocolo **Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca Versión 3.0 del 24 de enero de 2017 (número interno 17-1010)** se encuentra aprobado en nuestro Instituto desde el 28 de marzo de 2017 por el Comité de Investigación y desde el 4 de abril de 2017 por nuestro Comité de Ética en Investigación.

Aprovechamos esta comunicación para agradecer infinitamente su colaboración para hacer posible el desarrollo de esta investigación tanto con infraestructura como recursos humanos a su cargo. Agradecemos también de manera especial la participación activa del Dr. Arturo Guerra Juárez, becario del Curso de Imagenología Corneal.

Anexo los dictámenes correspondientes y la carta final de aprobación para compartir con su Departamento de Enseñanza, Jefes de Departamento o autoridades regulatorias a las que Usted requiera informar.

Sin más por el momento, enviamos un saludo cordial.

Atentamente,

Dr. Manuel Martínez-Lavín
Jefe del Departamento de Reumatología.
Director de proyecto.

Dra. Laura Aline Martínez Martínez.
Investigadora en Ciencias Médicas C.

## CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO

**"Neuropatía de fibras finas en pacientes con fibromialgia: relación entre biomicroscopia confocal corneal y variabilidad de la frecuencia cardiaca."**

APROBADO
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN
Instituto Nacional de Cardiología
Ignacio Chávez
Protocolo 17-1010
Aprobado
Unanimidad ☑
Mayoría ☐
Fecha 4-Abril-2017

Investigadores principales:
**Dr. Manuel Ramírez Fernández, Hospital Luis Sánchez Bulnes de la Asociación para Evitar la Ceguera en México.**
**Dr. Manuel Martínez Lavín, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.**

Nombre de la persona participante: _____

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento por duplicado y se le entregará uno de los originales firmado y fechado.

**1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO:** Las causas de la fibromialgia no se conocen. Se ha propuesto que los nervios encargados de transmitir dolor están irritados lo que provoca dolor constante. Se ha propuesto también que estos nervios están irritados porque hay demasiada adrenalina en su cuerpo. Una forma de definir si los pequeños nervios que transmiten dolor están dañados es mediante un examen de los ojos con un microscopio especial que permite ver los pequeños nervios de la parte externa del ojo. Una forma de investigar cuanta adrenalina hay en su cuerpo es mediante una grabadora portátil de electrocardiograma y la medición en sangre de una sustancia relacionada con el dolor desencadenado por estrés.

**2. OBJETIVO DEL ESTUDIO**

A usted, se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como meta observar a través de un microscopio la estructura de los nervios de la parte superficial de sus ojos y su posible relación con la producción excesiva de adrenalina.

**3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO**

Usted no obtendrá ningún beneficio directo por este examen, sin embargo, este estudio permitirá que en un futuro otros pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido

**4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO**

En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre su enfermedad. Después mediante un microscopio especial llamado "confocal", se tomarán fotografías de la parte superficial del ojo. Para evitar molestias cuando el microscopio se ponga en contacto con el ojo, se le aplicará en el ojo una gota de anestesia. Además se le pedirá que conteste unos cuestionarios relacionados con la fibromialgia. Más adelante, con el fin de conocer cuanta adrenalina está produciendo su cuerpo, se le conectará una grabadora portátil de los latidos cardiacos que deberá usted usar durante 24 horas y se tomará una muestra de sangre con volumen equivalente de dos a tres cucharadas soperas. Para descartar la presencia de alteraciones en la estructura de sus vasos sanguíneos del lecho ungueal como procedimiento anexo se realizará la observación directa con un capilaroscopio en los dedos de las manos.

**5. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO**

No existen riesgos mayores asociados a esta investigación. La molestia del examen por el oculista y la punción de una vena son procedimientos con un riesgo mínimo. La colocación de la grabadora de los latidos cardiacos y la capilaroscopia tienen un riesgo menor al mínimo.

**6. ACLARACIONES**

Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria. En caso de no aceptar la invitación, no habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted. No recibirá pago por su participación. La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

**7. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré uno de los originales de esta forma de consentimiento que se firman y fechan por duplicado.

_____ _____

**Firma del participante** **Fecha**

_____ _____

**Testigo 1 (Nombre y firma)** **Fecha**

_____ _____

**Dirección** **Teléfono**

_____

**Testigo 2 (Nombre y firma)**

_____ _____

**Dirección** **Teléfono**

APROBADO
COMITE DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN
Instituto Nacional de Cardiología
Ignacio Chávez
**Fecha**
Protocolo 17-1010
Aprobado
Unanimidad ☑
Mayoría ☐
Fecha 4-Abril-2017

**Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):**

He explicado al Sr(a). _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.
Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento en original por duplicado y se entregó un ejemplar a la participante para su archivo personal.

_____ _____

**Nombre y firma de la persona que realiza el procedimiento de consentimiento informado** **Fecha**

# ANEXO 4

## LISTA DE MEDICAMENTOS QUE REQUIEREN PERIODO DE LAVADO

### Medicamentos frecuentemente utilizados en fibromialgia.

Periodos de lavado requeridos para la colocación del HOLTER del protocolo 17-1010:

| **Medicamento** | **Periodo de lavado previo a HOLTER** |
|---|---|
| Paracetamol | 20 horas |
| Tramadol | 30 horas |
| Pregabalina | 31.5 horas |
| Duloxetina | 85 horas |
| Milnacipran | 40 horas |
| Clonacepam | 150 horas |
| Loracepam | 65 horas |
| Sertralina | 120 horas |
| Paroxetina | 105 horas |
| Venlafaxina | 55 horas |
| Amitriptilina | 250 horas |
| Complementos herbolarios o vitamínicos | 5 vidas medias de acuerdo a principio activo |
| Cualquier otro medicamento, AINE o analgésico para fibromialgia | 5 vidas medias de acuerdo a principio activo |

Se permiten pacientes con tratamiento para hipotiroidismo que se encuentren controladas con TSH en adecuados rangos de sustitución confirmada en los últimos 30 días.

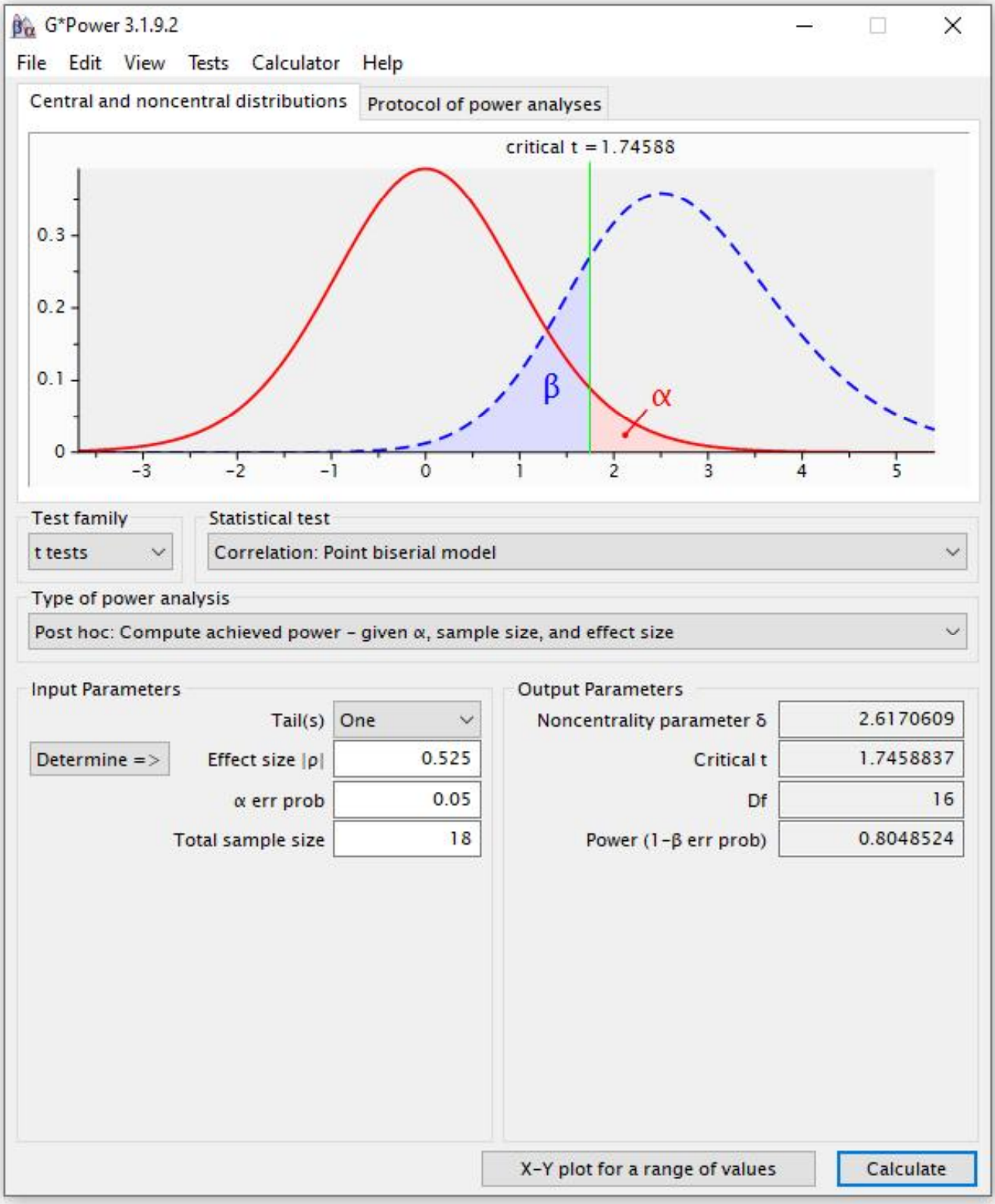
Anticonceptivos se permiten.

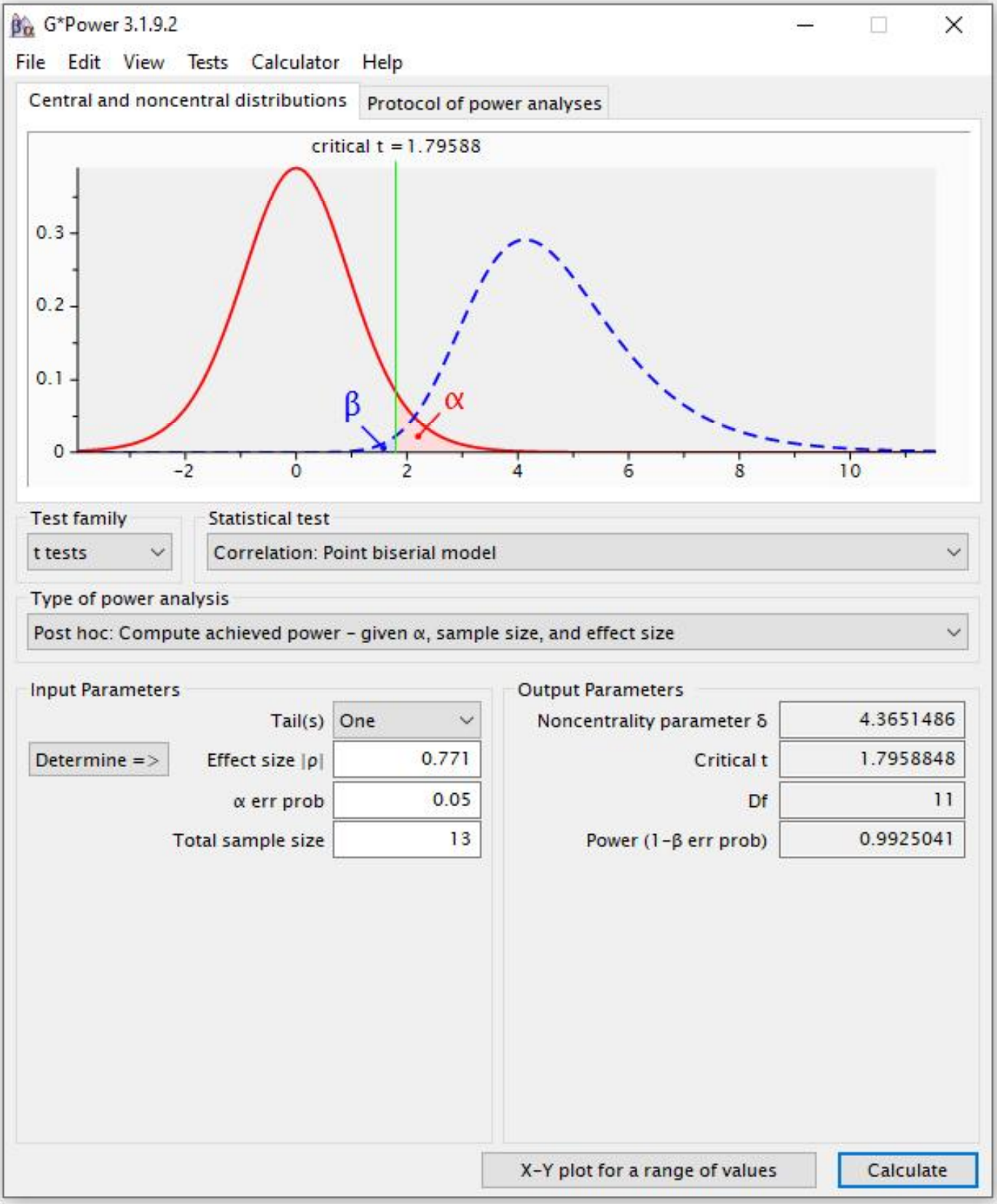
Las preparaciones herbales de Cannabis no son permitidas, se excluyen del holter.

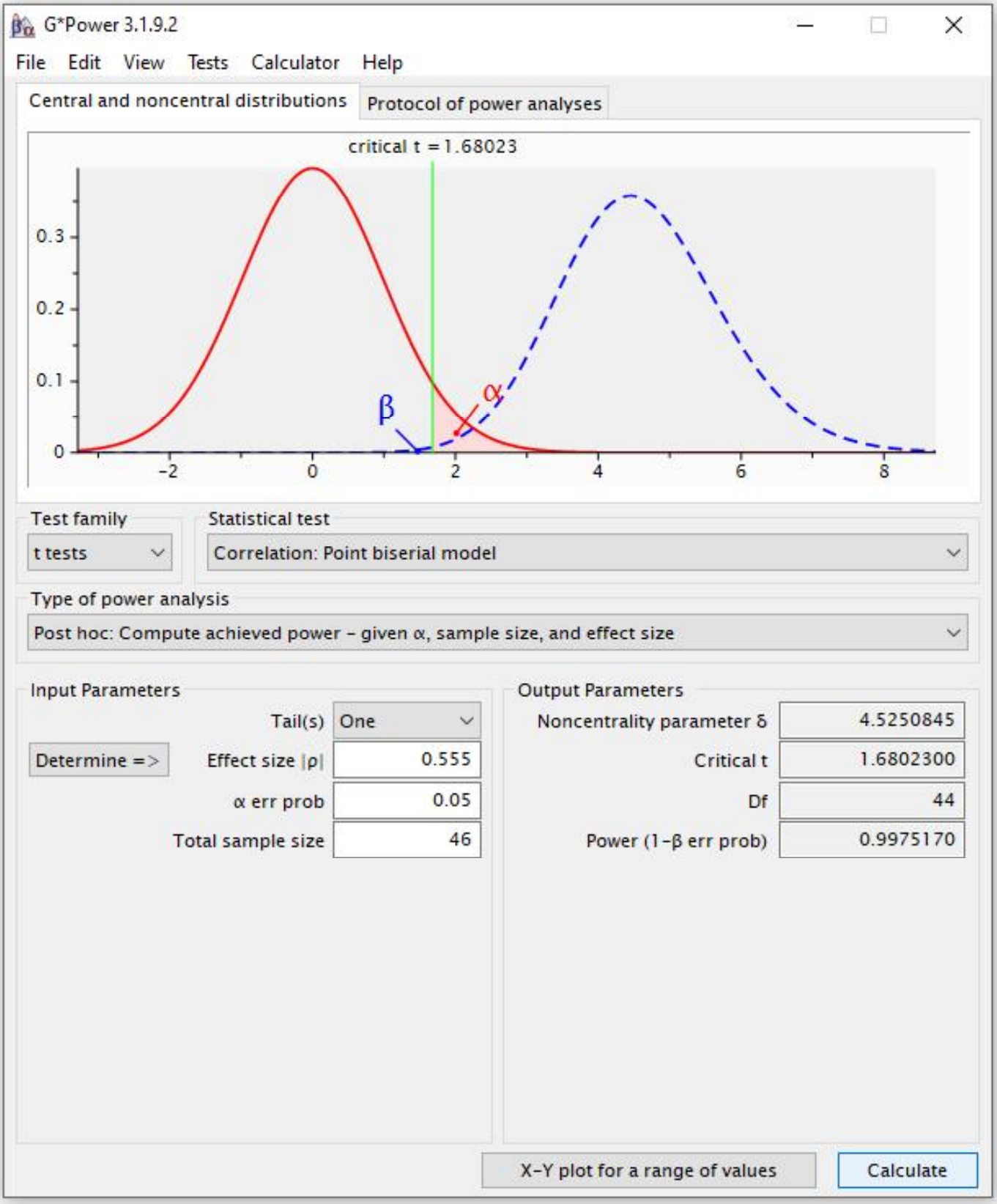
El estudio de microscopia confocal NO requiere lavado de medicamentos.

ANEXO 5.

Ejemplos representativos del cálculo de la potencia de algunas correlaciones encontradas de acuerdo a la n de cada una.



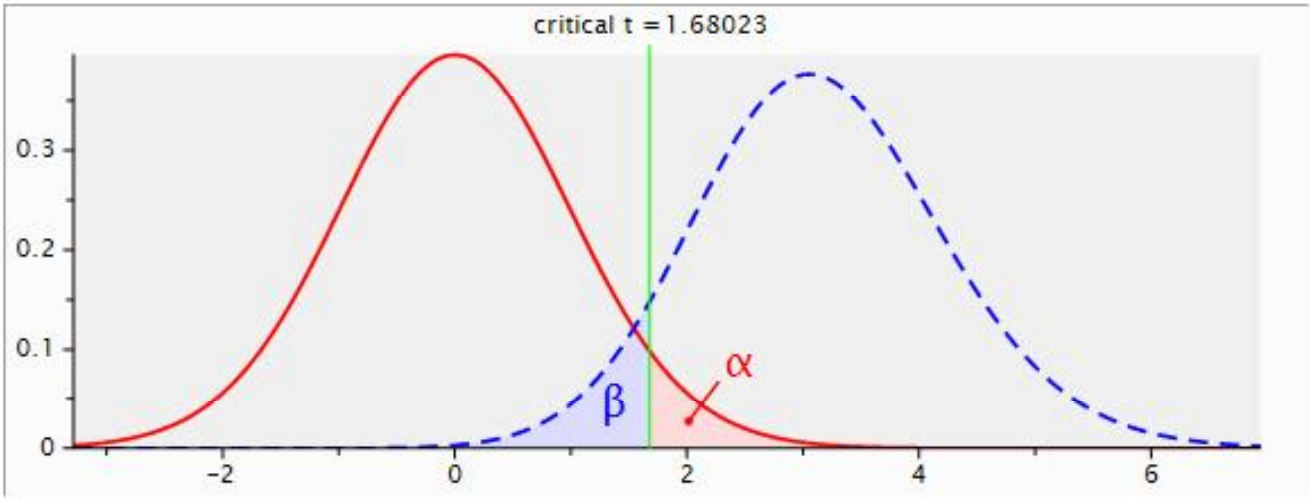

G*Power 3.1.9.2
File Edit View Tests Calculator Help
Central and noncentral distributions
Protocol of power analyses
critical t = 1.79588
0.3
0.2
0.1
0
β
α
-2
0
2
4
6
8
10
Test family
t tests
Statistical test
Correlation: Point biserial model
Type of power analysis
Post hoc: Compute achieved power – given α, sample size, and effect size
Input Parameters
Tail(s) One
Determine =>
Effect size |ρ| 0.771
α err prob 0.05
Total sample size 13
Output Parameters
Noncentrality parameter δ 4.3651486
Critical t 1.7958848
Df 11
Power (1-β err prob) 0.9925041
X-Y plot for a range of values
Calculate


G*Power 3.1.9.2
File Edit View Tests Calculator Help
Central and noncentral distributions
Protocol of power analyses
critical t = 1.68023
0.3
0.2
0.1
0
−2
0
2
4
6
8
β
α
Test family
t tests
Statistical test
Correlation: Point biserial model
Type of power analysis
Post hoc: Compute achieved power – given α, sample size, and effect size
Input Parameters
Tail(s)
One
Determine =>
Effect size |ρ|
0.555
α err prob
0.05
Total sample size
46
Output Parameters
Noncentrality parameter δ
4.5250845
Critical t
1.6802300
Df
44
Power (1−β err prob)
0.9975170
X-Y plot for a range of values
Calculate

G*Power 3.1.9.2

File Edit View Tests Calculator Help

Central and noncentral distributions | Protocol of power analyses




Test family: t tests

Statistical test: Correlation: Point biserial model

Type of power analysis: Post hoc: Compute achieved power – given α, sample size, and effect size

Input Parameters

| | |
|---|---|
| Tail(s) | One |
| Determine => Effect size \|ρ\| | 0.416 |
| α err prob | 0.05 |
| Total sample size | 46 |

Output Parameters

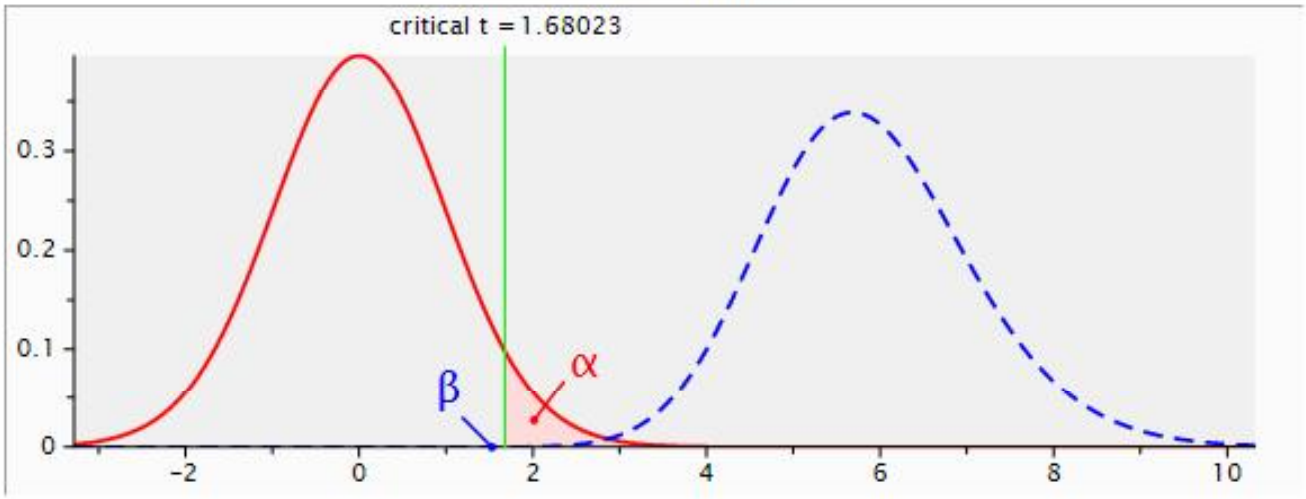
| | |
|---|---|
| Noncentrality parameter δ | 3.1026601 |
| Critical t | 1.6802300 |
| Df | 44 |
| Power (1-β err prob) | 0.9206632 |

X-Y plot for a range of values | Calculate

G*Power 3.1.9.2

File Edit View Tests Calculator Help

Central and noncentral distributions | Protocol of power analyses




Test family: t tests

Statistical test: Correlation: Point biserial model

Type of power analysis: Post hoc: Compute achieved power – given α, sample size, and effect size

Input Parameters

| | | |
|---|---|---|
| | Tail(s) | One |
| Determine => | Effect size \|ρ\| | 0.648 |
| | α err prob | 0.05 |
| | Total sample size | 46 |

Output Parameters

| | |
|---|---|
| Noncentrality parameter δ | 5.7703743 |
| Critical t | 1.6802300 |
| Df | 44 |
| Power (1-β err prob) | 0.9999726 |

X-Y plot for a range of values | Calculate

COLEGIO MEXICANO DE REUMATOLOGÍA, A.C.

Ciudad de México, a 29 de noviembre de 2018.

Dra. Laura Aline Martínez Martínez
Presente

Es un privilegio comunicarle que su trabajo: **Aplicación de la Encuesta de Neuropatía de Fibras Finas en fribromialgía.,** con clave C244, ha sido aceptado para ser presentado en el 47 Congreso Mexicano de Reumatología a celebrarse del 14 al 19 de febrero de 2019, en sesión de Carteles III, que se llevará el lunes 18 de febrero, en el Salón Figlosnte 27 del Mazatlán International Center (MIC), ubicado en Av. del Delfín 6303, Fraccionamiento Marina Mazatlán, 82103 Mazatlán, Sinaloa.

Su cartel tendrá las siguientes dimensiones: 1.00 m. de ancho por 2.44 m. de alto como máximo (orientación vertical). Ubicará usted las mamparas numeradas en el ángulo superior derecho con el número de clave correspondiente. Le solicitamos que su cartel sea colocado el mismo día de su presentación de 8:00 a 9:00 horas.

Es importante hacer notar que: Su cartel únicamente será exhibido el día indicado, por lo que le pedimos sea montado en tiempo y forma, enfatizando que su presencia es indispensable para la discusión en la fecha señalada arriba. El desmontaje será el mismo día de 19:00 a 20:00 horas. Agradeceremos hacer esto ya que la mampara será utilizada al día siguiente (el CMR, no se hará responsable del montaje o desmontaje de los carteles, favor de llevar su material para el pegado de su cartel).

Le solicitamos haga del conocimiento de sus coautores esta notificación. Reciba un saludo atento y felicitaciones por la selección de su trabajo.

Atentamente,

Dr. José Luis García Figueroa
Presidente

Dr. César Francisco Pacheco Tena
Vicepresidente

Dr. Sergio Ramón Gutiérrez Ureña
Tesorero

Dr. Conrado García García
Secretario

2018 - 2020

**Dr. José Luis García Figueroa**
Presidente

**Dr. César Francisco Pacheco Tena**
Vicepresidente

**Dr. Sergio Ramón Gutiérrez Ureña**
Tesorero

**Dr. Conrado García García**
Secretario

**Dr. Francisco Javier Aceves Ávila**
Tesorero suplente

**Dr. José Francisco Moctezuma Ríos**
Secretario suplente



Paseo del Río No. 157 Col. Barrio Oxtopulco Universidad, Delegación Coyoacán,
Cd. México, CP 04318 Tel. 5662.5983 / 6382.9894

COLEGIO MEXICANO DE REUMATOLOGÍA, A.C.

Ciudad de México, a 28 de noviembre de 2018.

Dra. Laura Aline Martínez Martínez
Presente

Es un privilegio comunicarle que su trabajo: **Neuropéptidos y variabilidad de la frecuencia cardiaca en fibromialgia.,** con clave C170, ha sido aceptado para ser presentado en el 47 Congreso Mexicano de Reumatología a celebrarse del 14 al 19 de febrero de 2019, en sesión de Carteles II, que se llevará el domingo 17 de febrero, en el Salón Figlosnte 27 del Mazatlán International Center (MIC), ubicado en Av. del Delfín 6303, Fraccionamiento Marina Mazatlán, 82103 Mazatlán, Sinaloa.

Su cartel tendrá las siguientes dimensiones: 1.00 m. de ancho por 2.44 m. de alto como máximo (orientación vertical). Ubicará usted las mamparas numeradas en el ángulo superior derecho con el número de clave correspondiente. Le solicitamos que su cartel sea colocado el mismo día de su presentación de 8:00 a 9:00 horas.

Es importante hacer notar que: Su cartel únicamente será exhibido el día indicado, por lo que le pedimos sea montado en tiempo y forma, enfatizando que su presencia es indispensable para la discusión en la fecha señalada arriba. El desmontaje será el mismo día de 19:00 a 20:00 horas. Agradeceremos hacer esto ya que la mampara será utilizada al día siguiente (el CMR, no se hará responsable del montaje o desmontaje de los carteles, favor de llevar su material para el pegado de su cartel).

Le solicitamos haga del conocimiento de sus coautores esta notificación. Reciba un saludo atento y felicitaciones por la selección de su trabajo.

Atentamente,

Dr. José Luis García Figueroa
Presidente

Dr. César Francisco Pacheco Tena
Vicepresidente

Dr. Sergio Ramón Gutiérrez Ureña
Tesorero

Dr. Conrado García García
Secretario

2018 - 2020

**Dr. José Luis García Figueroa**
Presidente

**Dr. César Francisco Pacheco Tena**
Vicepresidente

**Dr. Sergio Ramón Gutiérrez Ureña**
Tesorero

**Dr. Conrado García García**
Secretario

**Dr. Francisco Javier Aceves Ávila**
Tesorero suplente

**Dr. José Francisco Moctezuma Ríos**
Secretario suplente



Paseo del Río No. 157 Col. Barrio Oxtopulco Universidad, Delegación Coyoacán,
Cd. México, CP 04318 Tel. 5662.5983 / 6382.9894

COLEGIO MEXICANO DE REUMATOLOGÍA, A.C.

Ciudad de México a 04 de diciembre de 2019.

LAURA ALINE MARTÍNEZ MARTÍNEZ
alinemtz2@yahoo.es
DEPARTAMENTO DE REUMATOLOGÍA DEL
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ
Presente.

**Dr. César Francisco Pacheco Tena**
Presidente

**Dr. Francisco Javier Aceves Ávila**
Tesorero

**Dr. José Francisco Moctezuma Ríos**
Secretario

Es un honor comunicarle que su trabajo: **Correlación entre síntomas de neuropatía de fibras-finas y microscopia corneal.**, con clave **P22**, ha sido aceptado para ser presentado en el 48 Congreso Mexicano de Reumatología a celebrarse del 13 al 18 de febrero de 2020, en **Sesión Plenaria IV**, que se llevará a cabo el martes 18 de febrero de 09:30 a 10:30 horas, en el Salón A301c del Poliforum, León, ubicado en Blvd. Adolfo López Mateos S/N, Oriental, 37500 León, Guanajuato.

Para ello, contará usted con 10 minutos de presentación, quedando 5 minutos para preguntas y comentarios. Mucho le agradeceremos ajustarse al tiempo ya que habrá otras presentaciones en esta misma sesión, así mismo solicitamos entregar su presentación en formato Power Point con fondo blanco y letra negra (para mejor visualización), 15 minutos antes de su presentación, al Ing. Saúl Morales, esto con el fin de coordinar las ponencias de dicha sesión.

Le solicitamos haga del conocimiento de sus coautores esta notificación. Reciba un saludo atento y felicitaciones por la selección de su trabajo.

Atentamente,

Dr. César Francisco Pacheco Tena
Presidente

Dr. Francisco Javier Aceves Ávila
Tesorero

Dr. José Francisco Moctezuma Ríos
Secretario



Paseo del Río No. 157, Colonia Barrio Oxtopulco Universidad, Alcaldía Coyoacán,
CP 04318, Ciudad de México, Tel. 5662.5983 / 6382.9894

# 2019 ACR/ARP Final Poster Presentation Information

De: abstracts@rheumatology.org

Para: alinemtz2@yahoo.es

Fecha: miércoles, 16 de octubre de 2019 14:36 GMT-5

Dear Laura Aline Martínez-Martínez, Rheumatologist,

Congratulations on your acceptance as a poster presenter at the 2019 ACR/ARP Annual Meeting. The final details of your presentation are:

**Final Poster Number:** 0223
**Submission Number:** 699435
**Title:** Correlation Between Heart Rate Variability Parameters and Circulating Neuropeptides in Fibromyalgia
**Session:** Fibromyalgia & Other Clinical Pain Syndromes Poster
**Date:** Sunday November 10, 2019
**Presentation Time:** 9:00 AM - 11:00 AM
**Room:** Hall B5

Please check the author portal and make sure you have accepted or declined your presentations according to your plans. As of **Friday, October 25** declined abstracts will be marked as withdrawn within the Annual Meeting App. However, it is not possible to remove the abstract from acrabstracts.org.

**To accept or decline this invitation**, please follow the below steps to access your online portal:

1. **Click the following link** (or copy and paste it into your Web browser): https://www.conferenceharvester.com/harvester2/loginsso.asp?EventKey=CNJTLYSB
2. Click the **Login** button
3. **Enter your ACR login credentials**
   - **Username**: your username is the same email address at which you received this notification.
   - **Password**: if you do not remember your password or you have never logged into rheumatology.org, please select the **Forgot your password?** link to reset it. Enter the same email address at which you received this notification.. You will receive an email with instructions to reset your password. **After resetting your password**, you'll need to click the customized link in this email to access your speaker portal.
   - **DO NOT** create a new account! You will not be able to log into your portal as it is associated with your current ACR account on file.
4. When prompted, please complete and verify your profile information, including bio and photo (bio and photo will be displayed on ACR program materials).
5. After verifying and submitting your profile information, you will see your list of tasks.

**Browser Requirements:** Google Chrome is the recommended browser for accessing your speaker/moderator resource center. You may experience issues when using Internet Explorer or Microsoft Edge.

**GENERAL INFORMATION**

- 2019 ACR/ARP Annual Meeting abstracts have been published published at www.acrabstracts.org.
- Presenting authors will be notified by email when the abstracts are available online.
- ACR staff will be unable to answer phone or email inquiries regarding the exact abstract online publication launch date.

**PRESENTATION GUIDELINES**

Detailed instructions/guidelines for oral and poster session presentations are available in the Call for Abstracts brochure, Part II: Abstract Presentation.

**ANNUAL MEETING REGISTRATION**

- Acceptance of an abstract presentation does not automatically register for the Annual Meeting.
- If you have any registration questions, please contact the ACR/ARP 2019 Registration & Housing Support Center.
- Complete registration details are available on the Registration Page of our Annual Meeting website.

**ADDITIONAL RESOURCES**

- Embargo Policy
- Copyright/Permissions/Reprint Policies

Please visit our Annual Meeting Website for more details about the meeting. If you have specific questions regarding your abstract, please email us at abstracts@rheumatology.org. We look forward to seeing you the Annual Meeting!

Sincerely,

2019 ACR/ARP Annual Meeting Planning Committee