

Regulación por el ejercicio físico del estado inflamatorio alterado: respuesta en pacientes con fibromialgia

María E. Bote, Eduardo Ortega

Grupo Inmunofisiología. Departamento de Fisiología. Facultad de Ciencias. Universidad de Extremadura.

Recibido: 26.11.2014
Aceptado: 22.12.2014

Resumen

Introducción: Las pacientes con fibromialgia (FM) presentan una alteración de la retroalimentación entre la respuesta inflamatoria y la respuesta de estrés. La hipótesis anti-inflamatoria del ejercicio hace a éste especialmente interesante como ayuda terapéutica en el tratamiento de patologías inflamatorias tales como la FM. No obstante, los efectos del ejercicio pueden ser diferentes en personas con estados inflamatorios alterados respecto a personas sanas. Para testar esta hipótesis, el objetivo ha sido conocer los efectos de una sesión de ejercicio sobre la respuesta inflamatoria y de estrés en pacientes con FM comparados con un grupo control de personas sanas.

Métodos: 8 mujeres diagnosticadas con FM y 8 mujeres sanas fueron incluidas en el estudio. Tanto en situación basal como tras una sesión de ejercicio sobre cicloergómetro (45 min al 55% de VO_{2max}) se determinó por ELISA la concentración circulante de serotonina y por Bioplex LUMINEX la liberación espontánea de IL-18, IL-6 e IL-10 por monocitos, así como la capacidad fagocítica y microbiciada de neutrófilos.

Resultados y conclusiones: Las pacientes con FM presentan menores niveles circulantes de serotonina y un estado activado de monocitos y neutrófilos. Mientras que el ejercicio aumentó la liberación espontánea de las citoquinas IL-18, IL-6 e IL-10 en las mujeres sanas, se observó, contrariamente, un descenso en la liberación de las mismas por los monocitos de pacientes con FM. Un efecto dual también fue observado en los niveles circulantes de serotonina (elevando los niveles de las pacientes con FM). Sin embargo, en ambos grupos el ejercicio indujo una estimulación de la capacidad fagocítica-microbiciada de los neutrófilos. El ejercicio agudo moderado mejora el estado inflamatorio de las pacientes con FM sin perjudicar su capacidad de defensa frente a patógenos. También podemos concluir que la capacidad antiinflamatoria del ejercicio se manifiesta fundamentalmente frente a estados inflamatorios elevados o desregulados.

Palabras clave:

Ejercicio. Inflamación.
Neutrófilos. Monocitos.
Citoquinas. Fibromialgia.

Regulation by exercise of the altered inflammatory status: response in fibromyalgia patients

Summary

Introduction: Patients with fibromyalgia (FM) have an altered feedback between the inflammatory response and the stress response. The anti-inflammatory hypothesis of exercise makes this particularly interesting as a therapeutic aid in the treatment of inflammatory diseases such as FM. However, the effects of exercise may be different in people with altered inflammatory conditions regarding the effects in healthy people. To test this hypothesis, the aim of this investigation was to determine the effects of an acute exercise session on the inflammatory response and the stress response in FM patients compared to those observed in a control group of healthy people.

Methods: 8 women diagnosed with FM and 8 healthy women were included in the investigation. Both in basal condition and immediately after a single session of moderate exercise (cycling for 45 min at 55% of VO_{2max}) the circulating level of serotonin (by ELISA) and the spontaneous release of IL-18, IL-6, and IL-10 by isolated monocytes from blood were determined by Bioplex LUMINEX. Phagocytic and microbicidal capacity against *C. albicans* by neutrophils were also evaluated.

Results and conclusions: FM patients have lower circulating levels of serotonin and an activated state of monocytes and neutrophils. While the exercise increased the spontaneous release of IL-18, IL-6, and IL-10 in healthy women, the exercise decreased this release by the monocytes from FM patients. A dual effect was also observed in the levels of circulating serotonin (in this case by raising levels of patients with FM). However, in both groups, exercise induced a stimulation of the phagocytic-microbicidal capacity of neutrophils.

Key words:

Exercise. Inflammation.
Neutrophils. Monocytes.
Cytokines. Fibromyalgia.

The acute moderate exercise improves the inflammatory status of FM patients without impairing its ability to defend against pathogens. We can also conclude that the anti-inflammatory capacity of exercise is manifested primarily against high or dysregulated inflammatory conditions.

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por Junta de Extremadura-FEDER (GR10020 y beca doctoral de ME Bote PRE-07045) Y MICINN-FEDER (DEP2009-10041).

Trabajo premiado con el Premio a la Mejor Comunicación Oral del XV Congreso Nacional de Medicina del Deporte. A Coruña, noviembre 2014

Correspondencia: Eduardo Ortega

E-mail: orincon@unex.es

Introducción

Basado en la hipótesis de los efectos anti-inflamatorios del ejercicio físico, éste se ha considerado especialmente como una ayuda terapéutica en el tratamiento de patologías inflamatorias¹. No obstante, tanto la hipótesis anti-inflamatoria del ejercicio como su relevancia fisiológica no han sido esclarecidas. Incluso, no ha sido probado formalmente si un efecto anti-inflamatorio inducido por el ejercicio en personas sanas, con un "feedback" neuroendocrino e inflamatorio óptimo, es bueno o no para una óptima regulación de la homeostasis. Es por tanto posible especular que los efectos anti-inflamatorios del ejercicio sean fundamentalmente o únicamente positivos en personas con estados inflamatorios altos o desregulados, como los individuos que sufren patologías asociadas a la inflamación crónica, entre las que podemos incluir a la fibromialgia². Aunque la biofisiología de la fibromialgia (FM) permanece sin esclarecer, las hipótesis más recientes incluyen desórdenes inflamatorios acompañados por cambios en la regulación neuro-inmunoendocrina³, entre los que se incluyen una desregulación de la retroalimentación entre las respuestas de estrés e inflamatoria⁴. Dado que el ejercicio físico, sobre todo si se realiza en sesiones puntuales, induce sus efectos a través de mediadores de estrés⁵⁻⁷, generalmente estimulando las respuestas innata/inflamatoria, la FM puede constituir un buen modelo para conocer los efectos pro-/anti-inflamatorios del ejercicio y su relevancia fisiológica dependiendo del estado basal o punto de ajuste inflamatorio en cada individuo o patología. Este hecho es especialmente relevante puesto que los ejercicios puntuales estimulan la respuesta inflamatoria en personas sanas, especialmente en mujeres⁸. Así, mientras que una estimulación controlada de la respuesta inflamatoria durante sesiones de ejercicio puede inducir beneficios frente a la infección en personas sanas, es plausible especular que la sobreactivación de la respuesta inflamatoria pudiera ser perjudicial en individuos con patologías inflamatorias exacerbando sus síntomas^{9,10}. Por tanto, el objetivo biomédico de la utilización del ejercicio en estas personas será conocer las modalidades, duraciones e intensidades que consigan respuestas anti-inflamatorias que restauren una óptima regulación inmunoneuroendocrina, que a su vez provoque una mejor regulación homeostática. No debemos olvidar tampoco que la respuesta inflamatoria se enmarca dentro de la respuesta innata para la defensa del organismo frente a patógenos. Es, por tanto, necesario que los potenciales efectos anti-inflamatorios del ejercicio no inmunocomprometan a quien los lleve a cabo, es decir, que se consiga la disminución de la liberación de mediadores inflamatorios fisiológicamente innecesarios y potencialmente causantes de daños a los tejidos pero sin que las células inflamatorias pierdan su capacidad de destruir a los patógenos.

Estudios previos en nuestro laboratorio han demostrado que, comparado con mujeres sanas, las mujeres con FM presentan una mayor liberación espontánea de citocinas inflamatorias por monocitos, un mayor estado de activación de los neutrófilos y unos menores niveles circulantes del neuromodulador serotonina⁴. Así, utilizando como modelo de estado inflamatorio desregulado a la FM, el objetivo de la presente investigación ha sido testar la hipótesis de que los efectos anti-inflamatorios del ejercicio se producen únicamente de forma fisiológicamente relevante cuando quien lo lleva a cabo presenta un estado

inflamatorio basal elevado o desregulado. Para ello, hemos comparado el efecto de una sesión de ejercicio sobre los parámetros indicados entre un grupo de mujeres diagnosticadas con fibromialgia frente a un grupo control de mujeres sanas.

Material y método

Diseño del estudio y pacientes con fibromialgia

Voluntarias con FM

8 mujeres diagnosticadas de FM por un reumatólogo (con al menos dos años de diagnóstico antes del inicio de la investigación) según los criterios del ACR¹¹ participaron en el estudio. Todas las pacientes pertenecían a la Asociación de Fibromialgia de Badajoz (España). Las características antropométricas, demográficas y clínicas generales están recogidas en la Tabla 1. Las voluntarias cumplieron un cuestionario sobre estilo de vida (dieta, hábitos, etc.), medicación y enfermedades actuales o previas. También respondieron las preguntas de la versión española del Rpar-Q (*"Physical Activity Readiness Questionnaire"*) que identifica individuos que deben someterse a una revisión médica más exhaustiva antes de realizar ejercicio, y el cuestionario sobre el impacto de la fibromialgia sobre la calidad de vida ("FIQ" según sus siglas en inglés), el cual es un cuestionario de salud específico que evalúa el estado de salud actual de pacientes con FM, siendo 0 su resultado óptimo. El dolor fue evaluado dentro del cuestionario SF-36, para el cual la puntuación óptima es 100. Todas las voluntarias fueron aptas para realizar el ejercicio evaluado. Los resultados obtenidos en FIQ (62 ± 5) y en la valoración del dolor (24 ± 5) se encontraban dentro del rango habitual determinado previamente en pacientes con FM en nuestro laboratorio. Todos los procedimientos se llevaron a cabo bajo consentimiento por escrito de las voluntarias. Entre los criterios de exclusión se incluyeron: enfermedades neoplásicas, infecciones, enfermedades internas (cardiopulmonares, vasculares, o de otro tipo) así como el uso de corticoesteroides orales o sistémicos, o el uso de terapia anti-citoquinas los cuales podrían influir en la determinación de las citoquinas. De acuerdo con los criterios de clasificación de Müller *et al.*,¹² todas las voluntarias pertenecían al grupo de pacientes con FM

Tabla 1. Datos antropométricos, demográficos y clínicos de las voluntarias.

	Sanas	Fibromiálgicas
Edad (años)	47 ± 4	49 ± 7
Peso (kg)	67 ± 6	69 ± 7
Índice de masa corporal (kg·m ⁻²)	25 ± 1	27 ± 2
Índice cintura-cadera	0,78 ± 0,03	0,80 ± 0,02
Porcentaje grasa (%)	38 ± 3	39 ± 2
Tiempo desde el diagnóstico (años)	-	>2
Empleo		
No cualificado	2	3
Cualificado	4	2
Desempleada	2	3

primaria (sin ningún factor orgánico que desencadene el síndrome), específicamente al Grupo I (FM con sensibilidad al dolor pero sin depresión u otro desorden psiquiátrico relevante).

Grupo control

8 mujeres sanas del mismo rango de edad (sin desórdenes del dolor o enfermedades infecciosas en el momento de la extracción de sangre) fueron tomadas como control. Se le aplicaron los mismos requerimientos y criterios de exclusión que al grupo de pacientes con FM.

Todas las voluntarias (pacientes y controles) eran físicamente inactivas (no habían participado en ningún programa de ejercicio durante los 24 meses previos), no fumadoras y no eran consumidoras habituales de alcohol. La sesión de ejercicio se llevó a cabo a las 9 a. m. (hora local) habiendo estado las voluntarias en reposo durante al menos una hora antes de su inicio. El ejercicio se realizó en una bicicleta ergométrica (Egometrix mod. Ergo 800 S) durante 45 min al 55% de VO_2 max de cada individuo, según el nomograma de Astrand y Ryhming¹³, el cual ha sido previamente validado en nuestro laboratorio mediante métodos estándar - espirometría y un monitor de frecuencia cardíaca (Polar 5720) con una interfaz (*Polar Advantage interface*). La frecuencia cardíaca fue monitorizada en cada voluntaria durante el ejercicio. A las voluntarias se les permitió beber agua *ad libitum* durante el ejercicio.

Las muestras de sangre periférica se extrajeron de la vena antecubital mediante punción estéril. A cada voluntaria se le extrajeron muestras antes (estado basal) e inmediatamente después de la realización de la sesión de ejercicio de forma individual. No se observaron cambios significativos en el hematocrito entre antes y después de la prueba en ninguna de las voluntarias participantes en el estudio. El estudio fue aprobado por el Comité Ético de la Universidad de Extremadura (España) de acuerdo con las guías de la Directivas Europeas y la Declaración de Helsinki.

Aislamiento del suero y determinación de los niveles de serotonina

Tras la extracción, las muestras de sangre destinadas a la obtención de suero se mantuvieron a temperatura ambiente durante 15-20 min. A continuación, las muestras fueron centrifugadas a 700 g durante 10 minutos. El suero resultante fue alicuotado y almacenado a -80 °C hasta el momento del ensayo. Las concentraciones séricas de serotonina se determinaron mediante un kit comercial de ELISA (DRG) según las instrucciones del fabricante.

Aislamiento de células inflamatorias

Las muestras de sangre se centrifugaron en un gradiente de densidad (Histopaque, Sigma) en el que se obtuvieron dos halos: un primer halo que contiene monocitos y linfocitos y un segundo halo que contiene neutrófilos. Las dos suspensiones celulares se lavaron con PBS. Los neutrófilos aislados se ajustaron a 10^6 cel/ml en medio Hank's para evaluar su capacidad para fagocitar y eliminar patógenos (*Candida albicans*). Los monocitos procedentes del halo de células mononucleares fueron purificados usando el "Monocyte Isolation Kit II" (Miltenyi biotec GmbH). Los monocitos se ajustaron a 10^6 cel/ml de

medio (Iscove –GIBCO- suplementado con 10% de suero bovino fetal, 1% de penicilina/estreptomicina y 1% de L-glutamina) para evaluar su capacidad de liberar citoquinas. Los monocitos son aislados por depleción de las células no monocitarias (selección negativa). Las células no monocitarias (células T, NK, células B, células dendríticas y basófilos) fueron marcadas magnéticamente con un coctel de anticuerpos monoclonales conjugados con biotina (contra CD3, CD7, CD16, CD19, CD56, CD123 y glicoforina A) como primer reactivo de marcaje, y anticuerpos monoclonales anti-biotina conjugados con microbolas como marcaje secundario. Las células no monocitarias marcadas magnéticamente fueron retenidas por la columna MACS® (Miltenyi Biotec GmbH, Alemania) en un campo magnético generado por el separador Midi-MACS (Miltenyi Biotec GmbH, Alemania), mientras que los monocitos eluyen a través de la columna. De esta forma, se obtiene una suspensión altamente purificada (>90%, determinado mediante citometría de flujo) de monocitos no marcados. La viabilidad celular (>98%) fue evaluada mediante el método de exclusión del azul tripan.

Determinación de la liberación espontánea de citoquinas inflamatorias por monocitos

Los monocitos fueron cultivados durante 24h (a 37 °C, 5% CO_2 y 100% HR) en placas de 48 pocillos (Falcon, Becton Dickinson Labware). La viabilidad celular fue evaluada con el método del azul tripan, encontrando al menos un 98% de células viables. Tras la incubación los sobrenadantes fueron alicuotados en tubos Eppendorf y almacenados a -80 °C hasta su utilización. La liberación constitutiva o espontánea (en ausencia de estímulo antigénico) de IL-18, IL-6 e IL-10 fue evaluada mediante el sistema Bio-Plex® (LUMINEX, BioRad). Dicho sistema utiliza bolas fluorescentemente marcadas, un citómetro de flujo y algunos ópticos asociados, así como un procesador de señal digital de alta velocidad.

Cultivo de *Cándida albicans*

Los inóculos de *C. albicans* (ATCC 10231) se cultivaron en placas Petri con medio Glucosa Sabourand Agar, sembrándose mediante asa de siembra en zigzag e incubándose a temperatura ambiente durante 24-48 horas. Comprobada la capacidad de filamentar que presenta *C. albicans* en cultivos de más de 72 horas, se utilizaron siempre cultivos frescos para evitar alteraciones que pudiesen interferir en el estudio. La concentración deseada se consiguió resuspendiendo inóculos de *C. albicans* en medio Hank's, ajustándose a 1×10^6 cándidas/ml de medio en un Hemocitómetro de Neubauer, con microscopio de contraste de fase (x40), antes de cada determinación.

Capacidad de ingestión de *C. albicans* por los neutrófilos

Para el estudio de la capacidad de ingestión (fagocitosis) de *C. albicans* por los neutrófilos se utilizó la técnica descrita por Ortega *et al*¹⁴. Para ello, se incubaron (en baño con agitación constante y suave, a 37 °C y durante 60 minutos), en tubos de ensayo de polipropileno, 500 μ l de la suspensión ajustada de neutrófilos (1×10^6 neutrófilos/ml) junto con 500 μ l de la suspensión ajustada de *C. albicans* (1×10^6 cándidas/ml) y 50 μ l de suero, de la propia voluntaria, como fuente de opsoninas. Tras

el periodo de incubación, las muestras se centrifugaron a 300 g durante 10 minutos a temperatura ambiente, retirándose 2/3 del sobrenadante. El resto de la muestra se agitó y homogenizó para efectuar el recuento de las candidas fagocitadas por los neutrófilos en un hemocitómetro de Neubauer con el microscopio de contraste de fase (x40).

Los resultados se expresan tanto en valor absoluto (el número total de candidas ingeridas por 100 neutrófilos -índice de fagocitosis-), como porcentuados (considerando 100% el valor basal).

Capacidad microbicida

El estudio de la capacidad microbicida sigue básicamente la misma metodología que la indicada para la capacidad de ingestión de *C. albicans*, si bien a los 50 minutos de incubación se le añade a la muestra 2 ml de azul de metileno al 0,01% durante 10 minutos. El azul de metileno es un colorante vital que tiñe de azul sólo las células muertas. De este modo, las candidas fagocitadas muertas quedan teñidas de azul, pudiéndose distinguir de las células fagocitadas vivas translúcidas y refringentes. Tras el recuento en hemocitómetro de Neubauer con el microscopio de contraste de fase (x40), los resultados se expresan como el número total de candidas fagocitadas y muertas por 100 neutrófilos (índice candidicida). También se expresan porcentualmente considerando el valor 100% al determinado en situación basal.

Estudio estadístico

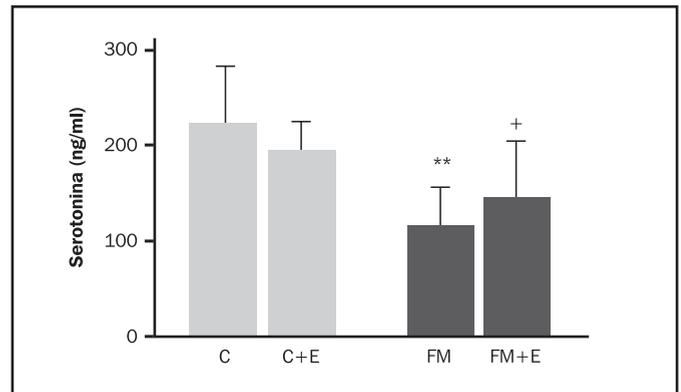
Los valores se expresan como la media \pm EEM. Se estudió la normalidad de las variables con el test de Kolmogorov Smirnov. Para evaluar el efecto del ejercicio de forma independiente y separada tanto en el grupo control como en las voluntarias con fibromialgia se utilizó el test *t* de Student (muestras con distribución normal) para muestras apareadas o el test de Wilcoxon (muestras sin distribución normal). El test ANOVA fue utilizado para evaluar diferencias entre los grupos control en estado basal, el grupo de fibromialgia en estado basal y el grupo de fibromialgia tras ejercicio, todo ello con el objetivo de estudiar también que la sesión de ejercicio evaluada no inmunocomprometía a las pacientes con fibromialgia. El mínimo nivel de significación se estableció en $p < 0,05$.

Resultados

El efecto de una sesión de ejercicio agudo sobre los niveles circulantes de serotonina tanto en mujeres controles sanas (C) como en pacientes con fibromialgia (FM) está recogido en la Figura 1. Las mujeres con FM presentan niveles circulantes de serotonina más bajos ($p < 0,01$) que las mujeres sanas en situación basal (C). Además, mientras que no se observaron diferencias significativas en las mujeres sanas (aunque sí un ligero descenso), el ejercicio (E) indujo un aumento significativo ($p < 0,05$) en los niveles de serotonina en las mujeres con FM, alcanzando valores estadísticamente similares a los observados en el grupo control en situación basal.

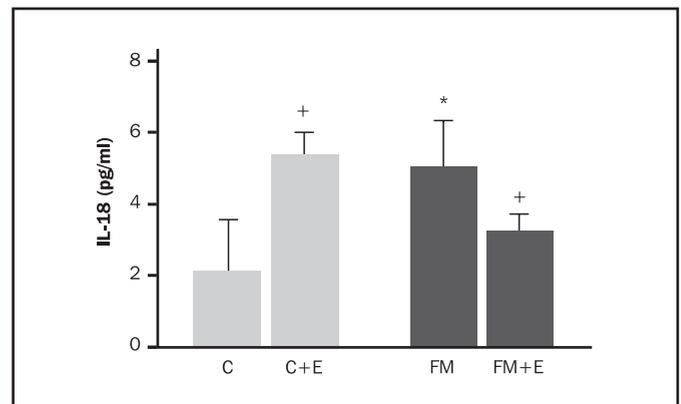
Las Figuras 2, 3 y 4 muestran los resultados relativos al efecto de la sesión de ejercicio agudo sobre la liberación constitutiva por monocitos

Figura 1. Efecto de una sesión aguda de ejercicio moderado (+E) sobre la concentración sérica de serotonina en mujeres sanas controles (C) y pacientes con fibromialgia (FM). Los resultados se presentan como la media \pm EEM de 8 experimentos realizados por duplicado (un experimento por voluntaria).



** $p < 0,01$ respecto a C; + $p < 0,05$ respecto a FM.

Figura 2. Efecto de una sesión aguda de ejercicio moderado (+E) sobre la liberación espontánea de IL-18 por monocitos procedentes de mujeres controles sanas (C) y mujeres con fibromialgia (FM). Los resultados se presentan como la media \pm EEM de 8 experimentos realizados por duplicado (un experimento por voluntaria).

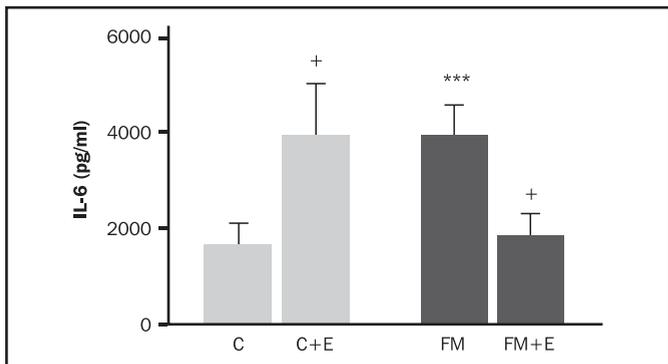


* $p < 0,05$ respecto a C; + $p < 0,05$ respecto a sus correspondientes valores basales (C o FM).

de las citoquinas IL-18, IL-6 e IL-10. En primer lugar podemos apreciar que los monocitos de las mujeres con fibromialgia (FM) presentan mayor liberación espontánea de IL-18 ($p < 0,05$; Figura 2), IL-6 ($p < 0,001$; Figura 3) e IL-10 ($p < 0,001$; Figura 4) que las mujeres sanas (C). Además, en las tres gráficas puede observarse que mientras la sesión puntual de ejercicio indujo un aumento ($p < 0,05$) en la liberación de citoquinas inflamatorias por monocitos de mujeres sanas (C+E versus C), tras el ejercicio puntual se observó una disminución ($p < 0,05$) de dicha liberación por los monocitos de pacientes con fibromialgia (FM+E versus FM). Los valores determinados tras el ejercicio en las pacientes con FM fueron estadísticamente similares a los observados en el grupo control de mujeres sanas en situación basal.

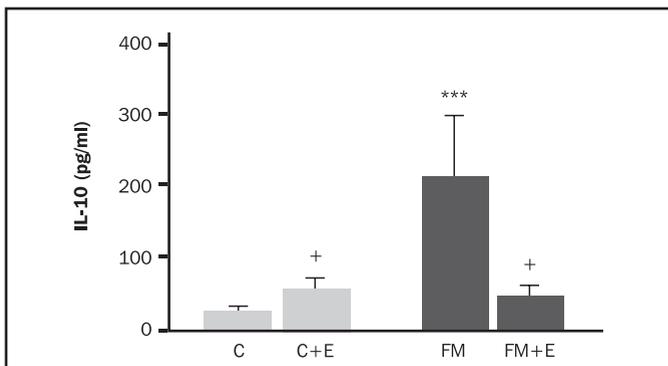
Finalmente, el efecto de la sesión puntual de ejercicio agudo sobre la capacidad funcional de los neutrófilos se muestra en las Figuras 5

Figura 3. Efecto de una sesión aguda de ejercicio moderado (+E) sobre la liberación espontánea de IL-6 por monocitos procedentes de mujeres controles sanas (C) y mujeres con fibromialgia (FM). Los resultados se presentan como la media ± EEM de 8 experimentos realizados por duplicado (un experimento por voluntaria).



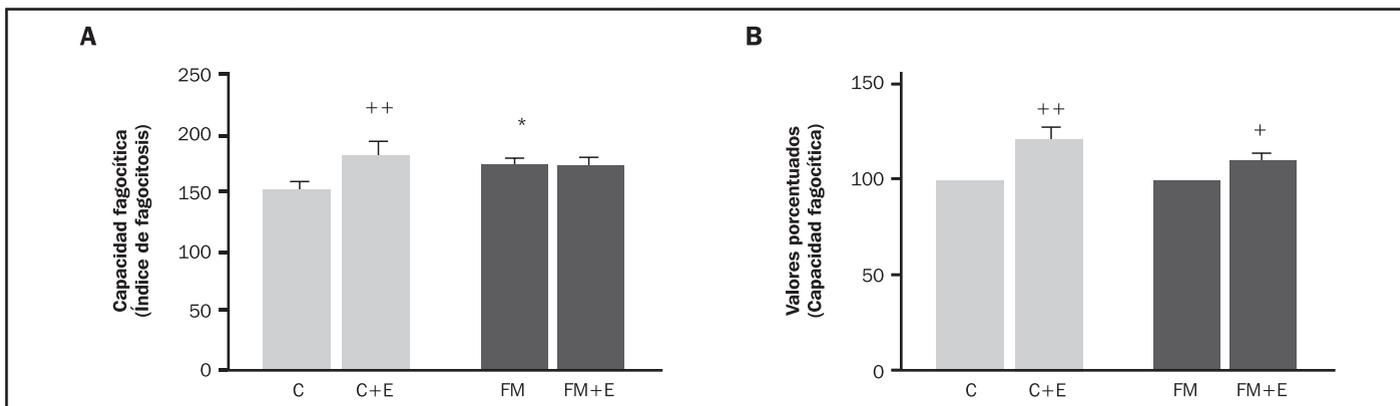
***p<0,001 respecto a C; +p<0,05 respecto a sus correspondientes valores basales (C o FM).

Figura 4. Efecto de una sesión aguda de ejercicio moderado (+E) sobre la liberación espontánea de IL-10 por monocitos procedentes de mujeres controles sanas (C) y mujeres con fibromialgia (FM). Los resultados se presentan como la media ± EEM de 8 experimentos realizados por duplicado (un experimento por voluntaria).



***p<0,001 respecto a C; +p<0,05 respecto a sus correspondientes valores basales (C o FM).

Figura 5. Efecto de una sesión aguda de ejercicio moderado (+E) sobre la capacidad fagocítica de neutrófilos procedentes de mujeres controles sanas (C) y mujeres con fibromialgia (FM). Los resultados se presentan de forma absoluta (índice de fagocitosis) como la media ± EEM de 8 experimentos realizados por duplicado (un experimento por voluntaria), y de forma relativa dando el valor 100 al obtenido en situación basal tanto en mujeres sanas (C) como con fibromialgia (FM).



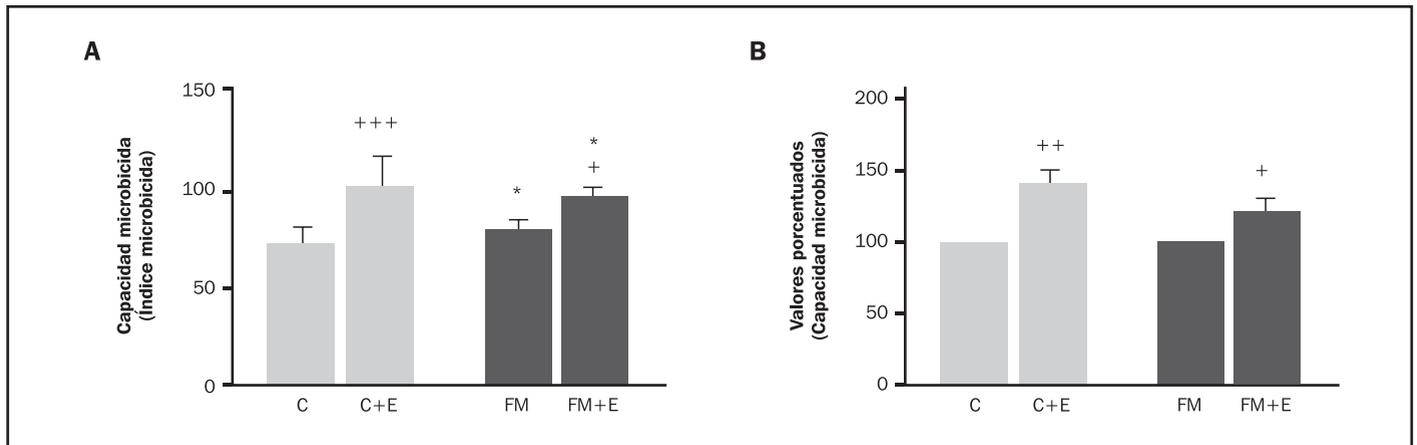
*p<0,05 con respecto a C; +p<0,05 y ++p<0,01 respecto a sus correspondientes valores basales (C o FM).

(fagocitosis de *C. albicans*) y 6 (capacidad microbicida). También los neutrófilos presentan un estado de activación elevado ($p<0,05$) para fagocitar y destruir *C. albicans* en las pacientes con fibromialgia (FM versus C). Tras la realización de la sesión puntual de ejercicio los neutrófilos de ambos grupos de voluntarias (C versus C+E y FM versus FM+E) mostraron un aumento ($p<0,05$) tanto en su capacidad para fagocitar *C. albicans* (siendo este aumento significativo en el grupo FM únicamente cuando los resultados se expresan porcentualmente) como en su capacidad candidicida. Lógicamente, la capacidad fagocítica/microbicida de las pacientes con FM tras el ejercicio también fue superior a la determinada en el grupo control de mujeres sanas en situación basal.

Discusión

La fibromialgia (FM) es una forma de reumatismo no articular definido por la presencia de dolor crónico diseminado y alodinia a la presión en más de 11 de 18 sitios específicos denominados puntos gatillo y que se da fundamentalmente en mujeres¹¹. Las pacientes con FM presentan fatiga y rigidez, además de una capacidad física reducida, por lo que el ejercicio es la principal intervención no farmacológica utilizada en estas personas para mejorar el dolor y la calidad de vida¹⁵. Aunque la etiología y biofisiología del síndrome de FM continúa sin esclarecer, se acepta que está caracterizada, al menos en parte, por un estado inflamatorio elevado, en el que subyace también una desregulación entre las respuestas inflamatoria y de estrés⁴. Esto hace a esta patología ser considerada como un buen modelo de desregulación inflamatoria y neuroendocrina para conocer y evaluar los potenciales efectos anti-inflamatorios del ejercicio¹⁰. Estudios previos en nuestro laboratorio han mostrado que las mujeres con FM presentan un estado inflamatorio acompañado por una respuesta alterada al estrés, que se manifiesta, entre otros biomarcadores, por niveles sistémicos de serotonina reducidos, una mayor liberación espontánea de citocinas inflamatorias por monocitos (incluyendo IL-6, IL-10, e IL-18) y una mayor capacidad fagocítica y microbicida de los neutrófilos frente al patógeno *C. albicans*⁴. Los resultados de la presente investigación confirman en los

Figura 6. Efecto de una sesión aguda de ejercicio moderado (+E) sobre la capacidad microbicida de neutrófilos procedentes de mujeres controles sanas (C) y mujeres con fibromialgia (FM). Los resultados se presentan de forma absoluta (índice microbicida) como la media \pm EEM de 8 experimentos realizados por duplicado (un experimento por voluntaria), y de forma relativa dando el valor 100 al obtenido en situación basal tanto en mujeres sanas (C) como con fibromialgia (FM).



* $p < 0,05$ con respecto a C; + $p < 0,05$, ++ $p < 0,01$ y +++ $p < 0,001$ respecto a sus correspondientes valores basales (C o FM).

mismos términos el estado inflamatorio (mayores niveles de liberación espontánea de citocinas inflamatorias por monocitos) y de estimulación de la respuesta innata frente a la infección (a través de una mayor capacidad fungicida de los neutrófilos). Coherente con investigaciones previas por otros grupos de investigación¹⁶ y con resultados previos de nuestro laboratorio⁴, las mujeres con FM presentaron menores niveles circulantes de serotonina, confirmando el papel que la serotonina juega en los desórdenes neuroendocrinos asociados al síndrome de FM. Los niveles circulantes bajos de serotonina se han relacionado con el dolor en las pacientes con fibromialgia, dado que está involucrada en la inhibición de los neurotransmisores implicados en el procesamiento del dolor, por lo que un tratamiento farmacológico actualmente utilizado son los inhibidores de la recaptación de la serotonina¹⁶. Nuestros resultados muestran un comportamiento diferente entre mujeres sanas y con FM en cuanto a los niveles circulantes de serotonina en respuesta a una sesión puntual de ejercicio moderado, elevándolos hasta niveles próximos a la situación basal de personas sanas en las pacientes con fibromialgia. Estos resultados confirman, además, una regulación neuroendocrina diferente en la respuesta al ejercicio cuando los mediadores neuroendocrinos (fundamentalmente aquéllos involucrados en las respuesta al estrés) e inflamatorios están desregulados en situación basal, como hemos observado previamente con la noradrenalina, el cortisol y la Hsp72 junto con la respuesta inflamatoria frente a estímulos antigénicos mediada por monocitos¹⁷. La cuestión ahora es conocer si el ejercicio agudo afecta de forma diferente también a la liberación espontánea (en ausencia de estímulo antigénico y, por tanto, no necesaria) de mediadores inflamatorios por los monocitos (IL-6, IL-10, IL-18) dependiendo de la situación basal de los donadores. Los resultados indican claramente que el ejercicio únicamente se comporta como anti-inflamatorio en las pacientes con FM, que parten de una respuesta inflamatoria basalmente elevada. Por el contrario, en personas sanas, el ejercicio induce una mayor liberación de los mediadores inflamatorios. Estos resultados ponen de manifiesto en primer lugar que la respuesta del organismo

frente a una sesión de ejercicio físico puede ser diferente según el punto de partida basal del individuo que lo lleve a cabo, pudiéndose incluso considerar como positivas, aunque con respuestas contrapuestas, en ambos casos. Así, dado que la activación de las respuestas inmunitarias innatas y/o inflamatorias son indispensables para prevenir o combatir el ataque por patógenos, la relevancia fisiológica de la estimulación de dichas respuestas en las mujeres sanas puede interpretarse como un "estado de alerta" del organismo para prevenir a éste del ataque por patógenos en una situación en la que el organismo es más vulnerable^{8,18}. Por su parte, los efectos anti-inflamatorios inducidos por las sesiones de ejercicio moderado en una patología inflamatoria (como es el caso de la FM), y aunque contrapuestos a los observados en las mujeres sanas, también pueden ser considerados como efectos positivos del ejercicio para el reajuste de la homeostasia, efectos que paradójicamente parecen estar mediados por una regulación diferente de las interacciones entre la respuesta inflamatoria y la respuesta de estrés¹⁷.

Conviene reseñar en este momento que la respuesta inmunitaria innata/inflamatoria debe estar bien balanceada para conseguir los efectos deseados, esto es, la eliminación de los patógenos a través de la respuesta inflamatoria inicial y fagocítica/microbicida final, debiéndose restaurar en último término el equilibrio homeostático y la reparación de los tejidos en su caso. Así, es necesario no considerar los efectos de cada una de las "citocinas inflamatorias" de forma aislada, sino como una respuesta conjunta en el que la liberación de citocinas pro-inflamatorias participantes en la defensa tanto sistémica como local (por ejemplo la IL-18 que tiene especial relevancia en patologías inflamatorias¹⁹, se compense fisiológicamente con la posterior liberación de citocinas anti-inflamatorias (como la IL-10), todo ello bajo la coordinación de la citoquina reguladora de la inflamación IL-6. Considerar sesgadamente de forma aislada los resultados correspondientes a las citocinas pro-inflamatorias o anti-inflamatorias de forma exclusiva conduce a resultados erróneos que dificulta la obtención de conclusiones, como puede deducirse también de los resultados obtenidos en este trabajo.

Una vez conocido el efecto dual del ejercicio (que se manifiesta únicamente anti-inflamatorio en las pacientes con fibromialgia), y dado que estas pacientes muestran también un estado de activación en sus neutrófilos⁴, nos propusimos conocer también cómo afectaba el ejercicio a su capacidad fagocítica y microbicida, utilizando para ello *C. albicans*, pues se ha descrito que las mujeres con fibromialgia presentan una mayor susceptibilidad a la infección por este patógeno²⁰. Así, un potencial descenso de esta capacidad inducido durante los efectos anti-inflamatorios provocados por el ejercicio pudiera inmunocomprometer a las pacientes con FM. Como cabía esperar, una sesión puntual de ejercicio indujo una estimulación de la capacidad fagocítica y microbicida frente a *C. albicans* por los neutrófilos de mujeres sanas, confirmando los resultados previos obtenidos en nuestro laboratorio⁷. Además, y sorprendentemente, también provocó la estimulación de la capacidad fungicida en las pacientes con fibromialgia, por lo que el ejercicio no las inmunocompromete frente al patógeno sino que, más bien, las protege. La relevancia fisiológica de los resultados obtenidos se refiere a lo que podríamos denominar como "efecto biorregulador del ejercicio", esto es, con capacidad de estimular la respuesta inflamatoria en personas sanas y con la capacidad para disminuir los mediadores inflamatorios elevados en ausencia de estímulos antigénicos en personas con patologías inflamatorias, pero a su vez preservando y estimulando la capacidad de respuesta innata microbicida de los neutrófilos frente a la estimulación por patógenos.

Las reacciones inflamatorias provocan, en condiciones normales, la activación de las respuestas de estrés mediadas por el eje HHA y el SNS para proteger al organismo de una sobre-producción de citokinas inflamatorias²¹. Así, la disrupción de este *feedback* pueden agravar las patologías inflamatorias^{22,23}. Junto con investigaciones previas¹⁷, los efectos anti-inflamatorios observados en el presente estudio en las pacientes con fibromialgia parecen estar encaminados a restaurar el ajuste homeostático involucrando los mecanismos de retroalimentación entre las respuestas de estrés y las inflamatorias. Además, estudios recientes en nuestro laboratorio parecen indicar que estas respuestas agudas frente al ejercicio pueden inducir una adaptación anti-inflamatoria y anti-stress en pacientes con FM cuando el ejercicio se realiza de forma regular^{24,25}. No obstante, y dado que el ejercicio físico constituye una situación de estrés fisiológico, en el ámbito reciente del "ejercicio es medicina" es necesario optimizar las prescripciones y recomendaciones sobre la naturaleza del ejercicio para pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas, que confieran beneficios y que eviten la exacerbación de la inflamación y del estrés asociado a estas enfermedades.

Los resultados de esta investigación permiten establecer, a nuestro entender, las siguientes conclusiones relevantes:

- Que sesiones puntuales de ejercicio moderado (45 minutos en bicicleta aproximadamente al 55% de la capacidad aeróbica máxima) provocan una estimulación de las respuestas innatas/inflamatorias en individuos sanos y que únicamente provocan efectos anti-inflamatorios en individuos con estados inflamatorios elevados, todo ello sin inmunocomprometer su capacidad de respuesta innata de destrucción de patógenos.
- Paralelamente estos resultados muestran también que sesiones de ejercicio físico moderado pueden mejorar el estado inflama-

torio y de alteración neuroinmunoendocrina en pacientes con fibromialgia.

- Adicionalmente, también abre una ventana a la utilización del ejercicio como herramienta diagnóstica diferencial en patologías inflamatorias, sobre todo en las que existe una alteración en las respuestas inmunoneuroendocrinas al estrés, como es el caso de la fibromialgia.

Bibliografía

1. Petersen AMW, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol*. 2005;98:1154-62.
2. Ortega E, García JJ, Bote ME, Martín Cordero L, Escalante Y, Saavedra JM, et al. Exercise in fibromyalgia and related inflammatory disorders: Known effects and unknown chances. *Exerc Immunol Rev*. 2009;15:42-65.
3. Van West D, Maes M. Neuroendocrine and immune aspects of fibromyalgia. *Biodrugs*. 2001;15:521-31.
4. Bote ME, García JJ, Hinchado MD, Ortega E. Inflammatory/Stress feedback dysregulation in women with fibromyalgia. *Neuroimmunomodulation*. 2012;19:343-51.
5. Ortega, E. Neuroendocrine mediators in the modulation of phagocytosis by exercise: physiological implications. *Exerc Immunol Rev*. 2003;9:70-94.
6. Ortega E, Hinchado MD, Martín-Cordero, Asea A. The effect of stress-inducible extracellular Hsp72 on human neutrophil chemotaxis: a role during acute intense exercise. *Stress*. 2009;12:240-9.
7. Giraldo E, Martín-Cordero L, García JJ, Gerhmann M, Multhoff G, Ortega E. Exercise-induced extracellular 72 kDa heat shock protein (Hsp72) stimulates neutrophil phagocytic and fungicidal capacities via TLR-2. *Eur J Appl Physiol*. 2010;108:217-25.
8. Giraldo E, García JJ, Hinchado MD, Ortega E. Exercise intensity-dependent changes in the inflammatory response in sedentary women: role of neuroendocrine parameters in the neutrophil phagocytic process and the pro-/anti-inflammatory cytokine balance. *Neuroimmunomodulation*. 2009;16:237-44.
9. Ortega E. Mediadores de estrés en la modulación de la respuesta inflamatoria durante el ejercicio y el entrenamiento. Aplicaciones prácticas en enfermedades inflamatorias: Fibromialgia. *Arch Med Deporte*. 2011;28:121-35.
10. Ortega E. Mecanismos de efectividad del ejercicio físico en el tratamiento del síndrome de la fibromialgia: respuestas anti-inflamatorias y anti-estrés. *Arch Med Deporte*. 2013;30:108-13.
11. 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. Report of the Multicenter Criteria Committee. *Arthritis Rheum*. 1990;33:160-72.
12. Müller W, Schneider EM, Stratz T. The classification of fibromyalgia syndrome. *Rheumatol Int*. 2007;27:1005-10.
13. Astrand PO, Ryhming I. A nomogram for calculation of aerobic capacity (physical fitness) from pulse rate during sub-maximal work. *J Appl Physiol*. 1954;7:218-21.
14. Ortega E, Barriga C, De la Fuente M. Study of the phagocytic process in neutrophils from elite sports women. *Eur J Appl Physiol*. 1993;66:37-42.
15. Mannerkorpi K, Iversen MD. Physical exercise in fibromyalgia and related syndromes. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2003;21:513-34.
16. Di Franco M, Iannuccelli C, Atzeni F, Cazzola M, Salaffi F, Valesini G, et al. Pharmacological treatment of fibromyalgia. *Clin Exp Rheumatol*. 2010;28:110-16.
17. Bote ME, García JJ, Hinchado MD, Ortega E. Fibromyalgia: anti-inflammatory and stress responses after acute moderate exercise. *PLoS One*. 2013;4 doi: 10.1371/journal.pone.0074524.
18. Ortega-Rincón E. Physiological and biochemistry: influence of exercise on phagocytosis. *Int J Sports Med*. 1994;15:5172-8.
19. Dinarello CA, Novick D, Puren AJ, Fantuzzi G, Shapiro L, Mühl H, et al. Overview of interleukin-18: more than an interferon-gamma inducing factor. *J Leukoc Biol*. 1998; 63:658-64.
20. Garrison RL, Breeding PC. A metabolic basis for fibromyalgia and its related disorders: the possible role of resistance to thyroid hormone. *Med Hypotheses*. 2003;61:182-9.
21. Elenkov IJ, Iezzoni DG, Daly A, Harris AG, Chrousos GP. Cytokine dysregulation, inflammation and well-being. *Neuroimmunomodulation*. 2005;12:255-69.
22. Besedovsky HO, Del Rey A. Physiology of psychoneuroimmunology: a personal view. *Brain Behav Immun*. 2007;21:34-44.

23. Martín-Cordero L, García JJ, Hinchado MD, Ortega E. The interleukin-6 and noradrenaline mediated inflammation-stress feedback mechanism is dysregulated in metabolic syndrome: effect of exercise. *Cardiovasc Diabetol*. 2011; May 20;10:42. doi: 10.1186/1475-2840-10-42.
24. Ortega E, Bote ME, Giraldo E, García JJ. Aquatic exercise improves the monocytes pro and anti-inflammatory cytokine production balance in fibromyalgia patients. *Scand J Med Sci Sports*. 2012;22:104–12.
25. Bote ME, García JJ, Hinchado MD, Ortega E. An exploratory study of the effect of regular aquatic exercise on the function of neutrophils from women with fibromyalgia: role of IL-8 and noradrenaline. *Brain Behav Immun*. 2014;39:107-12.