

PERFIL DE CITOCINAS NA FIBROMIALGIA

Fernandes, I. ; Mareco, R. ; Jaleco, A.

Resumo

A fibromialgia é uma síndrome de dor crónica generalizada comum na prática clínica, cujos sintomas associados incluem fadiga, *stress* e distúrbios do sono. Até à data não se alcançou um consenso entre investigadores no que se refere à patogénese da fibromialgia, nem quanto ao papel das citocinas na síndrome, as quais podem participar na modulação de sintomas como a hiperalgesia e a fadiga. Vários artigos que abordam esta temática relatam achados discrepantes, alguns deles indicando um aumento de citocinas pró- e/ou anti-inflamatórias e outros declarando a sua diminuição em doentes com fibromialgia. Esta revisão propõe-se descrever e sintetizar os resultados de várias investigações focadas no perfil de citocinas na fibromialgia, com o intuito de examinar o estado atual da ciência no que refere a esta matéria e discutir o potencial uso das citocinas como biomarcadores da fibromialgia. Este trabalho poderá assim conduzir a uma melhor compreensão da síndrome e à elaboração de diagnósticos mais rigorosos, contribuindo eventualmente para o desenvolvimento de melhores intervenções terapêuticas e proporcionando ao doente uma melhor qualidade de vida.

Abstract

Fibromyalgia is a common Chronic pain Syndrome, whose symptoms include fatigue, stress and sleep disorders. To date no consensus has been achieved among researchers regarding the pathogenesis of fibromyalgia and the specific role of cytokines in this disease, which may participate in the modulation of symptoms such as fatigue and hiperalgesia. Several articles that discuss this topic, reported discrepant findings, some indicating an increase of pro- and/or anti-inflammatory cytokines whereas others declaring its decline in patients with fibromyalgia. The aim of this article is to describe and summarize the results of several investigations focused on the cytokine profile in fibromyalgia in order to examine the current state of science in this matter and discuss the potential use of cytokines as biomarkers of disease. This work may therefore lead to a better understanding of this syndrome along with promoting more accurate diagnosis, possibly contributing to the development of better therapeutic approaches, which might offer the patient a better life quality.

Palavras-chave

Citocinas, fibromialgia, sintomas

Introdução

A fibromialgia é uma síndrome de dor crónica comum definida em 1990 como uma dor difusa verificada nos quatro quadrantes corporais, com duração superior a 3 meses,

segundo os critérios do *American College of Rheumatology* (ACR), tendo os doentes que apresentar, pelo menos, 11 de 18 pontos dolorosos pré-definidos [1,2]. Esta doença, caracterizada por alodinia (resposta dolorosa a um estímulo normalmente inócuo) e

hiperalgesia (reação extremamente dolorosa a um estímulo geralmente doloroso) [3,4], verifica-se essencialmente em indivíduos do sexo feminino [5,6,7] para os quais a prevalência da doença aumenta de forma proporcional à idade, existindo também uma aparente predisposição genética para a sua transmissão [8]. Em Portugal estima-se que a prevalência da doença se encontre entre os 2,0 e os 5,4% da população total, o que perfaz uma média de 3,6% de doentes no país [9].

Fadiga extrema, *stress*, distúrbios do sono, parestesias, rigidez matinal e dores de cabeça fazem parte do leque de sintomas de doentes com fibromialgia [10], os quais auxiliam no diagnóstico da doença, uma vez que, com exceção da identificação de sintomas e da deteção dos pontos dolorosos, há uma ausência de sinais objetivos no exame físico dos doentes e os resultados dos exames laboratoriais e testes de imagem são normais ou negativos [2,3].

Até à data não se alcançou nenhum consenso entre investigadores sobre a etiologia e patogénese da doença, não existindo uma explicação concreta para as manifestações clínicas apresentadas o que condiciona a intervenção [3,4].

Assim, e apesar de a fibromialgia ser tida em conta como um processo não inflamatório, é sabido que a origem de toda a dor deriva de uma resposta inflamatória, na qual as citocinas estão envolvidas [11]. Neste sentido, uma disfunção imunológica do organismo, nomeadamente um distúrbio no perfil de citocinas pró- e anti-inflamatórias, tem sido apontada, desde 1988, como uma possível causa da doença, mediante os sinais clínicos de dor exorbitante apresentados pelos doentes [12].

Este é um tema de particular interesse, tendo sido efetuados diversos estudos relacionados com o equilíbrio de citocinas pró- e anti-inflamatórias no contexto da

fibromialgia os quais apresentaram, no entanto, resultados discrepantes [13-16] continuando por esclarecer de forma inequívoca o envolvimento das citocinas no desenvolvimento da doença.

É sabido que as condições de dor crónica são as causas mais comuns para o abandono do emprego [6]. A ocorrência de fibromialgia, como condição clínica associada a dor crónica, reflete-se de forma indireta não só nos custos para a sociedade mas também na economia individual, social, e educacional, não permitindo ao indivíduo doente uma boa qualidade de vida [6,17].

Neste cenário é de importância fundamental alcançar um maior entendimento em torno das alterações que podem conduzir a este estado patológico, o qual possibilite diagnósticos mais rigorosos e, conseqüentemente, uma abordagem terapêutica mais adequada e eficaz, proporcionando ao doente uma qualidade de vida superior.

Citocinas

As citocinas (do Grego *cyto* = célula; *Kinos* = movimento) são pequenas proteínas não estruturais, secretadas por células específicas do sistema imunológico em resposta a um estímulo [18,19], que atuam como mensageiros químicos entre células, e que estão, também, envolvidas em outros processos tais como o crescimento e a diferenciação celulares, a reparação de tecidos, e a modulação de respostas imunológicas agudas e crónicas [18,20,21]. Assim, tendo-se noção da fisiologia das citocinas é possível controlar o efeito prejudicial da inflamação e algumas reações imunológicas nefastas ao organismo [19].

As citocinas são necessárias para a estimulação de linfócitos B e T [19]. As células apresentadoras de antígeno segregam a citocina IL-1 que aumenta a ativação das células T [19]. As células TH1 produzem, entre

outras citocinas, a IL-2 e o IFN- γ que estimulam as células citotóxicas e os macrófagos [19]. Em contraste com estas células, existem as TH2 que produzem as citocinas IL-4 e IL-10 que estimulam os linfócitos B e a produção de anticorpos [19]. O IFN- γ inibe a proliferação das células TH2, enquanto que a IL-10 inibe o desenvolvimento das células TH1 [19].

As citocinas tradicionalmente identificadas como pró-inflamatórias, das quais se destacam a Interleucina-1 α (IL-1 α), a Interleucina-1 β (IL-1 β), a Interleucina-2 (IL-2), a Interleucina-6 (IL-6) e o Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α), ou anti-inflamatórias, das quais se destacam a Interleucina-4 (IL-4), a Interleucina-10 (IL-10) e a Interleucina-13 (IL-13) [21], induzem determinados sintomas consoante a sua concentração, tais como fadiga, febre, sono, dor e mialgia, todos eles observados em pacientes com fibromialgia [10,20,22-24]. Neste contexto, a IL-6 e a IL-8 parecem desempenhar os papéis mais importantes, uma vez que a primeira tem sido associada a uma hipersensibilidade à dor e a última promove uma dor transmitida pelo sistema nervoso simpático [13,25]. Por outro lado outras citocinas pró-inflamatórias, tais como a IL-1 β e o TNF- α , podem induzir outros sintomas característicos da fibromialgia tais como *stress*, fadiga, e sintomas depressivos, enquanto que a citocina anti-inflamatória IL-10 aparenta ter um efeito bloqueador da dor [7,11,20,22].

Com base na suposição de que a origem de toda a dor é a inflamação e a resposta inflamatória [11,14] e na observação de que a dor é um sintoma primário da fibromialgia [13], tem sido atribuída especial atenção à hipótese de a fibromialgia derivar de um processo inflamatório, o qual implicaria o envolvimento de citocinas inflamatórias na síndrome sendo que estas produziriam efeitos profundos nas funções do sistema nervoso

central [7,18,21]. No entanto, estudos anteriormente realizados demonstraram resultados não coincidentes entre si pois em alguns deles as citocinas circulantes em doentes com fibromialgia permaneceram inalteradas [14,26], enquanto em outros se revelaram aumentadas [7,15,22] e ainda noutros se apresentaram diminuídas [27,28] em comparação com controlos saudáveis.

Perfil de citocinas na fibromialgia

A tabela 1 resume os achados relacionados com as alterações dos níveis de citocinas em pessoas com fibromialgia, encontrados nos 21 artigos selecionados. Catorze trabalhos avaliaram a expressão de citocinas em amostras de soro [7,15,16,22,24,27-35], 5 em amostras de plasma [13,14,22,36,37], 3 em células mononucleares do sangue periférico (PBMC) [22,25,26], 1 em biópsia de pele [38] e 1 em Líquido cefalorraquidiano (LCR) [32]. Os níveis de citocinas foram investigados segundo o método de ELISA (*Enzyme linked immunosorbent assay*) em 12 estudos [7,13,14,22,24,25,29,30,32-35], outro tipo de imunoensaios foi usado em 8 trabalhos [15,16,27,31,34,36-38], 1 estudo utilizou a citometria de fluxo [26], e outro optou pela PCR (Polymerase Chain Reaction) em tempo real [28]. Como se verifica, existe pouca sobreposição entre materiais e métodos utilizados entre os diferentes estudos que investigaram os níveis de citocinas pro- e/ou anti-inflamatórias em pacientes com fibromialgia.

Soro

Catorze estudos determinaram os níveis de citocinas em amostras de soro de doentes com fibromialgia através de diferentes métodos que possibilitaram a pesquisa de diversas citocinas,

designadamente IL-1 [30], IL-2r [22,30], IL-6 [7,15,22,24,27,30-35], IL-8 [7,15,16,22,27,28,30-34], IL-4 [7,15,28,31], IL-10 [7,15,22,27,28,31,32,34], TNF- α [7,15,22,24,27,28,31,32,34,35], IL-1 β [7,22,24,31-34], IL-2 [7,22,28], IFN- γ [7,22,31], IL-5 [32], IL-1 α [29,34] e IL-1Ra [22,31,34]. Desta vasta gama de citocinas, algumas foram dadas como significativamente aumentadas no grupo de doentes, nomeadamente a IL-8 [7,15,16,30,32-34], IL-2r [30], TNF- α [15,31,35], IFN- γ [7], IL-6 [24,31,34], IL-1 α [29,34] e IL-1Ra [22,31]. Porém existiram de igual modo diminuições de algumas delas, particularmente da IL-1 β [24,32], TNF- α [24,27,32], IL-5 [32], IL-8 e IL-6 [27], IL-4 e IL-10 [28]. Mediante estes resultados verifica-se que a IL-8, a IL-1Ra e a IL-6 são predominantemente expressas no soro de indivíduos doentes, apesar de existir maior controvérsia quanto aos níveis da citocina IL-6 uma vez que se encontra aumentada em três estudos [24,31,34],

normalizada em sete estudos [7,15,22,30,32,33,35] e diminuída em um estudo [27].

Plasma

As citocinas presentes no plasma de doentes com fibromialgia foram quantificadas por cinco grupos de investigadores [13,14,22,36,37] que estudaram um vasto leque de citocinas tais como a IL-1 β [22,36,37], IL-6, IL-8 e TNF- α [13,14,22,36,37], IL-10 [13,14,22,36], IL-2, IFN- γ , IL-1Ra e IL-2r [22,37], IL-1 [13, 14], MCP-1, eotaxina, IP-10, IL-13, IL-5, IL-4, IL-7, IL-15, IL-17, IFN- α , GM-CSF, MIG, MIP-1 α , MIP-1 β [37].

Pacientes com fibromialgia exibiram elevados níveis de IL-8 [13,22], IL-10 [13,36], TNF- α [13], eotaxina e MCP-1 [37]. Bazzichi et al observaram uma diminuição estatisticamente significativa da IL-1 nas amostras de plasma

Tabela 1. Características e resultados dos estudos incluídos na revisão

1.º Autor / Data	Amostra	Método	Citocinas	Aumento	Diminuição
Wallace, 2001	Soro, Plasma, PBMC	ELISA	IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α , IL-1Ra, IL-2r	IL-8, IL-1Ra, IL-6	-
Gur, 2002	Soro	ELISA	IL-1, IL-2r, IL-6, IL-8	IL-8, IL-2r	-
Amel Kashipaz, 2003	PBMC	Citometria de Fluxo	TNF- α , IL-1 α , IL-6, IL-10	-	-
Uçeyler, 2006	Soro	Real-Time PCR, ELISA	IL-2, IL-4, IL-8, IL-10, TNF- α	-	IL-4, IL-10 (não significativo)
Ardıç, 2006	Soro	ELISA	IL-1 α	IL-1 α	-
Bazzichi, 2007a	Plasma	ELISA	IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α	IL-8, IL-10, TNF- α	IL-1, IL-6 (não significativo)
Bazzichi, 2007b	Plasma	ELISA	IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α	-	-
Zhang, 2008	Plasma	Human Cytokine Twenty-Five-Plex Antibody Bead Kit	MCP-1, eotaxina, IP10, IL-13, IL-5, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-2r, IL-15, IL-17, TNF- α , IFN- α , IFN- γ , GM-CSF, MIG, MIP-1 α , MIP-1 β , IL-1Ra, IL-2r	Eotaxina, MCP-1	-
Wang, 2008	Soro	Bio-Plex Cytokine assay	IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α	IL-8, TNF- α	-
García-Lozano, 2008	Soro	Luminex-xMAP	IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α	-	IL-8, IL-6 e TNF- α (nos mais idosos)
Togo, 2009	Plasma	Beadlyte Human Multi-Cytokine assay	IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , IL-10	IL-10 (durante o sono)	-
Ortega, 2009	Soro	ELISA	IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α	IL-8, IFN- γ	-
Wang, 2009	Soro	Bio-Plex Cytokine assay	IL-8	IL-8	-
Hernandez, 2010	Soro	ELISA	IL-1 β , TNF- α , IL-6	IL-6	IL-1 β , TNF- α
Ianuccelli, 2010	Soro	Multiplex Bead-Based Sandwich Immunoassay	IL-1 β , IL-1Ra, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , IFN- γ	IL-6, IL-1Ra, TNF- α , IL-10	-
Ortega, 2010	PBMC	ELISA	IL1 β , TNF- α , IL-6, IL-10	IL-6, IL-1 β , IL-10, TNF- α	-
Ross, 2010	Soro	Bead-Based Immunofluorescence assay	IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α	IL-8, IL-6, IL-1 α	-
Kim, 2010	Soro	ELISA	IL-1 β , IL-6, IL-8	IL-8	-
Blanco, 2010	Pele	Sandwich Enzyme Immunoassay	MCP-1, TNF- α	-	MCP-1
Topal, 2011	Soro	ELISA	IL-6, TNF- α	TNF- α	-
Kadetoff, 2011	Soro, LCR	ELISA	LCR: IL-1 β , IL-8. Soro: IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α	IL-8 (Soro e LCR)	IL-1 β , IL-5, TNF- α (Soro)

dos doentes, verificando-se também uma diminuição nos níveis de IL-6, embora não significativos em termos estatísticos [13]. Contrariamente aos resultados expressos, Bazzichi et al num outro estudo não encontraram alterações significativas nos níveis das citocinas entre o grupo de doentes e o grupo de controlo [14]. Resultados discrepantes são descritos especialmente para a IL-8 que em dois dos cinco estudos se apresenta aumentada [13,22], estando normal nos outros três [14,36,37].

PBMC

Três estudos avaliaram a quantidade de citocinas produzidas por células mononucleares do sangue periférico (monócitos e linfócitos) de doentes com fibromialgia [22,25,26]. Várias citocinas foram procuradas no decorrer destas investigações, das quais a IL-6, IL-10 e TNF- α [22,25,26], IL-1 β [22, 25], IL-2, IL-8, IFN- γ , IL-1Ra e IL-2r [22] e IL-1 α [26].

Não foram detetadas diminuições dos níveis de citocinas. Todavia em dois dos trabalhos mencionados foram encontrados aumentos de IL-6 [22,25], IL-1Ra [22], IL-1 β , IL-10 e TNF- α [25], contrariamente ao estudo realizado por Amel Kashipaz [26] et al que não demonstrou diferenças entre o grupo doente e o grupo controlo.

Pele

A expressão de citocinas em biópsias de pele de pacientes com fibromialgia foi investigada num só estudo [38]. Neste, Blanco et al, que pesquisaram as citocinas MCP-1 e TNF- α encontraram uma fraca expressão de MCP-1 em doentes, não tendo sido verificadas diferenças para o TNF- α entre o grupo de doentes e o grupo de controlos [38].

Líquido cefalorraquidiano

Kadetoff et al foram a única equipa de investigadores que averiguou os níveis de citocinas no líquido cefalorraquidiano, especificamente os níveis de IL-1 β e IL-8 [32]. Doentes com fibromialgia revelaram possuir um aumento da citocina IL-8, apresentando níveis normais de IL-1 β [32].

Discussão

Na presente revisão pretendemos clarificar o perfil de citocinas em pacientes com fibromialgia através da análise de artigos publicados até à data.

Em suma, somente a IL-8, a IL-6 e a IL-1Ra revelaram uma expressão aumentada no soro destes doentes, não tendo sido encontradas diferenças estatisticamente relevantes para as outras citocinas. A IL-8 é a citocina que gera maior concordância entre os estudos, tanto em amostras de soro como em amostras de plasma, estando aumentada no grupo de doentes com fibromialgia em vários deles [7,13,15,16,22,30,32,33,34]. Contudo num dos trabalhos foi descrita uma diminuição da mesma [27]. A citocina IL-6 gera alguma controvérsia pois verifica-se o seu aumento em cinco investigações, três delas efetuadas em amostras de soro [24,31,34] e duas em PBMC [22,25], embora exista um outro estudo que afirma que esta citocina se encontra diminuída no plasma do grupo doente [13]. É ainda de salientar que para além destas alterações nos níveis de citocinas pró-inflamatórias, um dos grupos de investigadores detetou uma diminuição dos níveis de citocinas anti-inflamatórias IL-10 e IL-4 no soro dos doentes com fibromialgia [28]. Quanto aos estudos realizados em PBMC, biópsias de pele e LCR, podem-se tirar apenas conclusões preliminares uma vez que a quantidade de trabalhos executados com estas amostras é, atualmente,

mínima. Aparentemente verifica-se um aumento da citocina IL-6 em culturas de PBMC [22,25], um aumento da citocina IL-8 em amostras de LCR [32] e uma diminuição da MCP-1 em amostras de biópsia de pele [38].

Desta forma, os resultados sugerem que uma resposta inadequada do sistema imunitário a fatores extrínsecos pode estar presente na fibromialgia. Contudo, as discrepâncias observadas no perfil de citocinas destes doentes podem estar relacionadas com prováveis variações nos critérios de inclusão e exclusão dos indivíduos em estudo, com a pesquisa de várias citocinas em diferentes trabalhos, com o tamanho da amostra, com os diferentes métodos utilizados e com as diferenças de idade entre os indivíduos o que afeta os níveis de citocinas. Todas estas variáveis tornam difícil a comparação direta entre os resultados obtidos. Para obtenção de resultados fiáveis e uniformes entre estudos, é fundamental a escolha de um único método suficientemente sensível que detete as citocinas de interesse.

De igual modo, alguns fatores de confusão não controlados na maioria dos estudos podem ter também influenciado o nível de citocinas, como por exemplo a sua produção circadiana, depressão, medicação, atividade física, infeções correntes, estações do ano e alterações climatéricas.

Conclusão

A presente revisão mostra que as diversas investigações consultadas para determinação do perfil de citocinas em indivíduos com fibromialgia têm apresentado resultados conflituosos, não sendo possível, até agora, demonstrar um padrão claro de citocinas comuns nestes doentes. Como tal, e apesar de os mediadores inflamatórios aparentemente desempenharem um importante papel na fibromialgia, as citocinas não podem,

atualmente, ser consideradas como biomarcadores fiáveis da condição clínica, permanecendo o seu diagnóstico dependente dos sintomas clínicos apresentados pelos doentes.

Para um melhor entendimento desta condição clínica, será importante desenvolver investigação em torno desta temática de modo a perceber qual o papel exato das citocinas na fibromialgia e/ou se estas podem, efetivamente, ser utilizadas como biomarcadores da síndrome. Dada a existência de uma ampla gama de estudos que avaliaram o perfil de citocinas dos indivíduos com fibromialgia num momento pontual, será ainda fundamental realizar estudos prospetivos que permitam observar possíveis variações nos níveis de citocinas dos doentes. Sugerimos ainda a realização de meta-análise para avaliação estatística das diferenças e semelhanças observadas nos vários estudos.

Referências

1. 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: 160-172.
2. Wolfe F, Claw 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: 600-610.
3. Branco JC. State-of-the-art on fibromyalgia mechanism. *Acta Reumatol Port* 2010; 35: 10-15.
4. Okifuji A, Bradshaw DH, Olson C. Evaluating obesity in fibromyalgia: neuroendocrine biomarkers symptoms and functions. *Clin Rheumatol* 2009; 28: 475-478.
5. Feng J, Zhang Z, Li W, Shen X, Song W, Yang C, et al. Missense mutations in the MEFV gene are associated with fibromyalgia syndrome and correlate with elevated IL-1beta plasma levels. *PLoS One* 2009; 4: e8480.
6. Henriksson CM, Liedberg GM, Gerdle B. Women with fibromyalgia: work and rehabilitation. *Disabil Rehabil* 2005; 27: 685-694.

7. 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: 46-65.
8. Carvalho LS, Correa H, Silva GC, Campos FS, Baião FR, Ribeiro LS, et al. May genetic factors in fibromyalgia help to identify patients with differentially altered frequencies of immune cells?. *Clin Exp Immunol* 2008; 154: 346-352.
9. Branco JC, Bannwarth B, Failde I, Abello Carbonell J, Blotman F, Spaeth M, et al. Prevalence of fibromyalgia: a survey in five European countries. *Semin Arthritis Rheum* 2010; 39: 448-453.
10. Macedo JA, Hesse J, Turner JD, Ammerlaan W, Gierens A, Hellhammer DH, et al. Adhesion molecules and cytokine expression in fibromyalgia patients: increased L-selectin on monocytes and neutrophils. *J Neuroimmunol* 2007; 188: 156-166.
11. Omoigui S. The biochemical origin of pain: the origin of all pain is inflammation and the inflammatory response. Part 2 of 3 – inflammatory profile of pain syndromes. *Med Hypotheses* 2007; 69: 1169-1178.
12. Wallace DJ, Margolin K, Waller P. Fibromyalgia and interleukin-2 therapy for malignancy. *Ann Intern Med* 1988; 108: 909
13. Bazzichi L, Rossi A, Massimetti G, Giannaccini G, Giuliano T, De Feo F, et al. Cytokine patterns in fibromyalgia and their correlation with clinical manifestations. *Clin Exp Rheumatol* 2007a; 25: 225-230.
14. Bazzichi L, Giacomelli C, De Feo F, Giuliano T, Rossi A, Doveri M, et al. Antipolymer antibody in Italian fibromyalgic patients. *Arthritis Res Ther* 2007b; 9: 1-5.
15. Wang H, Moser M, Schiltenswolf M, Buchner M. Circulating cytokine levels compared to pain in patients with fibromyalgia – a prospective longitudinal study over 6 months. *J Rheumatol* 2008; 35: 1366-1370.
16. Wang H, Buchner M, Moser MT, Daniel V, Schiltenswolf M. The role of IL-8 in patients with fibromyalgia: a prospective longitudinal study of 6 months. *Clin J Pain* 2009; 25: 1-4.
17. Penrod JR, Bernatsky S, Adam V, Baron M, Dayan N, Dobkin PL. Health services costs and their determinants in women with fibromyalgia. *J Rheumatol* 2004; 31: 1391-1398.
18. Bouguen G, Chevaux JB, Peyrin-Biroulet L. Recent advances in cytokines: therapeutic implications for inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 547-556.
19. Ikram N, Hassan K, Tufail S. Cytokines. *International Journal of Pathology* 2004; 2: 47-58.
20. Wallace DJ. Is there a role for cytokine based therapies in fibromyalgia. *Curr Pharm Des* 2006; 12: 17-22.
21. Webster JL, Tonelli L, Sternberg EM. Neuroendocrine regulation of immunity. *Annu Rev Immunol* 2002; 20: 125-163.
22. Wallace DJ, Linker-Israeli M, Hallegua D, Silverman S, Silver D, Weisman MH. Cytokines play a aetiopathogenetic role in fibromyalgia: a hypothesis and pilot study. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40: 743-749.
23. Gur A, Oktayoglu P. Status of immune mediators in fibromyalgia. *Curr Pain Headache Rep* 2008; 12: 175-181.
24. Hernandez ME, Becerril E, Perez M, Leff P, Anton B, Estrada S, et al. Proinflammatory cytokine levels in fibromyalgia patients are independent of body mass index. *BMC Res Notes* 2010; 3: 156-160.
25. Ortega E, Bote ME, Giraldo E, García JJ. Aquatic exercise improves the monocyte pro- and anti-inflammatory cytokines production balance in fibromyalgia patients. *Scand J Med Sci Sports* 2010; 22: 104-112.
26. Amel Kashipaz MR, Swinden D, Todd I, Powell RJ. Normal production of inflammatory cytokines in chronic fatigue and fibromyalgia syndromes determined by intracellular cytokine staining in short-term cultured blood mononuclear cells. *Clin Exp Immunol* 2003; 132: 360-365.
27. García-Lozano JR, Capilla-Sevilla C, García-López O, Moreno-Gallego I. *Reumatol Clin* 2008; 4: 136-139.
28. Uçeyler N, Valenza R, Stock M, Schedel R, Sprotte G, Sommer C. Reduced levels of antiinflammatory cytokines in patients with chronic widespread pain. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2656-2664.
29. Ardiç F, Ozgen M, Aybek H, Rota S, Cubukçu D, Gokgoz A. Effects of balneotherapy on serum IL-1, PGE2 and LTB4 levels in fibromyalgia patients. *Rheumatol Int* 2007; 27: 441-446.
30. Gur A, Karakoç M, Nas K, Remzi, Cevik, Denli A, et al. Cytokines and depression in cases with fibromyalgia. *J Rheumatol* 2002; 29: 358-361.
31. Iannuccelli C, Di Franco M, Alessandri C, Guzzo MP, Croia C, Di Sabato F, et al. Pathophysiology of fibromyalgia: a comparison with the tension-type headache, a localized pain Syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1193: 78-83.
32. Kadetoff D, Lampa J, Westman M, Andersson M, Kosek E. Evidence of central inflammation in fibromyalgia-increased cerebrospinal fluid interleukin-8 levels. *J Neuroimmunol* 2011; 242: 33-38.
33. Kim SK, Kim KS, Lee YS, Park SH, Choe JY. Arterial stiffness and proinflammatory cytokines in fibromyalgia syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 2010; 28: 71-77.
34. Ross RL, Jones KD, Bennett RM, Ward RL, Druker BJ, Wood LJ. Preliminary evidence of increased pain and elevated cytokines in fibromyalgia patients with defective growth hormone response to exercise. *Open Immunol J* 2010; 3: 9-18.

35. Topal G, Donmez A, Dogan BS, Kucur M, Cengiz DT, Berköz FB, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels are increased in patients with fibromyalgia: correlation with tumor necrosis factor- α (TNF- α) and 8-iso-prostaglandin F(2 α) (8-iso-PGF(2 α)). *Clin Biochem* 2011; 44: 364-367.
36. Togo F, Natelson BH, Adler GK, Ottenweller JE, Goldenberg DL, Struzik ZR, et al. Plasma cytokine fluctuations over time in healthy controls and patients with fibromyalgia. *Exp Biol Med* 2009; 234: 232-240.
37. Zhang Z, Cherryholmes G, Mao A, Marek C, Longmate J, Kalos M, et al. High plasma levels of MCP-1 and eoxatin provide evidence for an immunological basis of fibromyalgia. *Exp Biol Med* 2008; 233: 1171-1180.
38. Blanco I, Bérizte N, Arguelles M, Cárcaba V, Fernández F, Janciauskiene S, et al. Abnormal overexpression of mastocytes in skin biopsies of fibromyalgia patients. *Clin Rheumatol* 2010; 29: 1403-1412.