



TESIS DOCTORAL

Efectos del reishi (*Ganoderma lucidum*) en pacientes con fibromialgia.

Autor: **D. Francesco Pazzi**

Departamento de Didáctica de la Expresión Musical, Plástica y Corporal

2015

TESIS DOCTORAL

Titulo: Efectos del reishi (*Ganoderma lucidum*) en pacientes con fibromialgia.

Autor: D. Francesco Pazzi.

Departamento de Didáctica de la Expresión Musical, Plástica y Corporal.

Conformidad del Director: Dr. D. JOSÉ CARMELO ADSUAR SALA, profesor del Área de Educación Física y Deportiva del departamento de Didáctica de la Expresión Musical, Plástica y Corporal de la Universidad de Extremadura,

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral realizada por **D. Francesco Pazzi**, con el título: “**Efectos del reishi (*Ganoderma lucidum*) en pacientes con fibromialgia**”, bajo mi dirección, reúne los requisitos necesarios de calidad, originalidad y presentación para optar al grado de Doctor, y está en condiciones de ser sometida a valoración de la Comisión encargada de juzgarla.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo la presente en Cáceres, a 23 de Octubre de 2015.

Dr. D. JOSÉ CARMELO ADSUAR SALA



2015

MÉRITOS CIENTÍFICOS DE ESTA TESIS DOCTORAL

La producción científica relacionada con la presente tesis doctoral es:

- Collado-Mateo D., Pazzi F., Dominguez-Muñoz F.J., Martin-Martinez J.P., Olivares P.R., Adsuar J.C., Gusi N. (2015). **El *Ganoderma lucidum* mejora la condición física en mujeres con fibromialgia.** Nutrición Hospitalaria 32(5).

DOI: <http://dx.doi.org/10.3305%2Fnih.2015.32.5.9601>

- Collado-Mateo D., Dominguez-Muñoz F.J., Pazzi F., Garcia-Gordillo M.A., Olivares P.R., Gusi N., Adsuar J.C. **Effects of *Ganoderma lucidum* on pain in women with fibromyalgia.** Enviado para su publicación.

- Pazzi F., Collado-Mateo D., Dominguez-Muñoz F.J., Garcia-Gordillo M.A., Olivares P.R., Oria de Rueda J.A., Gusi N., Adsuar J.C. ***Ganoderma lucidum* improves happiness in patients with fibromyalgia.** Enviado para su publicación.

Collado-Mateo D., Pazzi F., Dominguez-Muñoz F.J., Garcia-Gordillo M.A., Olivares P.R., Oria de Rueda J.A., Gusi N., Adsuar J.C. **Effects of *Ganoderma lucidum* and *Ceratonia siliqua* on blood glucose, lipid profile and body composition in women with fibromyalgia.** Enviado para su publicación.

Comunicaciones a Congresos

Adsuar J.C., Parraca J.A., Collado D., Pazzi F., Domínguez F.J., Garcia-Gordillo M., Gusi N., Martinez J., Sousa A. **Efectos del reishi (*Ganoderma lucidum*) y de la harina de algarrobo (*Ceratonia siliqua*) en la condición física de mujeres**

con fibromialgia. I Jornadas Internacionais: Exercício Físico e Terapêuticas Complementares nas Doenças Reumatológicas. Instituto Superior de Ciências Educativas (ISCE). Odivelas, 15-16 mayo 2015.

Parraca J.A., Adsuar J.C., Pazzi F., Collado D., Domínguez F.J., Garcia-Gordillo M., Gusi N., Martinez J., Barroso M., Marques I.F. **Efectos del reishi (*Ganoderma lucidum* y de la harina de algarrobo (*Ceratonia siliqua*) en la felicidad de mujeres con fibromialgia.** I Jornadas Internacionais: Exercício Físico e Terapêuticas Complementares nas Doenças Reumatológicas. Instituto Superior de Ciências Educativas (ISCE). Odivelas, 15-16 mayo 2015.

Collado D., Adsuar J.C., Pazzi F., Domínguez F.J. **Los efectos del reishi en pacientes con fibromialgia.** Jornada de Fibromialgia y Síndrome de Fatiga Crónica. Federación de Fibromialgia y Fatiga Crónica de Castilla y León (FFISCYL). León, 9 mayo 2015.

Pazzi F. ***Ganoderma lucidum* y fibromialgia.** Primera Jornada Sobre Medicina Alternativa y Fibromialgia. Asociación de Fibromialgia y Síndrome de Fatiga Crónica de Salamanca (AFIBROSAL). Salamanca, 1 marzo 2015.

Collado D., Adsuar J.C., Pazzi F., Domínguez F.J. **Efectos de 6 gramos de Ganoderma lucidum en pacientes con fibromialgia.** Jornada sobre Fibromialgia, Fatiga Crónica y Reishi. Asociación de Fibromialgia y Fatiga Crónica. Afectado en CYL (AFACYL). Palencia, 28 febrero 2015.

Pazzi F., Collado D., Oria de Rueda J.A., Adsuar J.C., Domínguez F.J., García-Gordillo M., Mendoza M., Hernández-Mocholi M., Olivares P.R., Gusi N.

Seguridad y coste-efectividad del reishi en pacientes con fibromialgia. 8º Congreso Europeo de Pacientes, Innovación y Tecnología. Instituto Europeo de Salud y Bienestar Social. Madrid, 18-19 noviembre 2014.

Mendoza M., Pazzi F., Collado D., Oria de Rueda J.A., Adsuar J.C., Domínguez F.J., García-Gordillo M., Hernández-Mocholi M., Olivares P.R., Gusi N.

Relación entre el nivel de conocimiento de la fibromialgia, nivel de incapacidad y los síntomas depresivos. 8º Congreso Europeo de Pacientes, Innovación y Tecnología. Instituto Europeo de Salud y Bienestar Social. Madrid, 18-19 noviembre 2014.

Pazzi F. **Aplicaciones de los alimentos funcionales para la salud humana: seguridad y coste-efectividad del reishi (setas de *Ganoderma lucidum*) en paciente con fibromialgia.** XXV Jornadas Micológicas Forestales, 2014. Las setas saludables, tesoro para nuestra naturaleza. Cátedra de Micología. Universidad de Valladolid. Palencia, 10-16 noviembre 2013.

Estancias de investigación

Estancia de Investigación en Chimete Srl, laboratorio de investigación y desarrollo en el sector de la síntesis químico-orgánica.

Rivalta Scrivia. Tortona (AL). Italia.

Fecha: desde el 01/06/2015 al 11/09/2015

Estancia de Investigación en la Cátedra de Micología, ETSIIAA. Campus
Palencia. Universidad de Valladolid. España.

Fecha: desde el 01/10/2014 al 31/03/2015

A Laura, pasado, presente y futuro.....

A todas las mujeres que padecen fibromialgia,
para que encuentren un remedio para sus dolores.....

La preocupación lleva al esfuerzo y el esfuerzo puede llevar al éxito.....en todo caso acuérdate que nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa.

J.C. Adsuar & Mahatma Gandhi

INDICE

INDICE DE TABLAS	1
INDICE DE FIGURAS	3
LISTA DE ABREVIATURAS.....	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	7
RIASSUNTO.....	9
INTRODUCCIÓN.....	11
1. La fibromialgia	11
1.1. Posibles causas y síntomas	15
2. El género Ganoderma	19
3. Reishi y fibromialgia	24
3.1 Reishi y dolor.....	26
3.2 Reishi y sueño.....	29
3.3 Reishi e incapacidad de pacientes con FM	31
4. Otras propiedades del reishi	32
4.1 Efectos protectores	32
4.2 Reishi y enfermedades.....	33
4.3 Reishi y cáncer.....	33
5. Las moléculas bioactivas	33
6. Posología y contraindicaciones	36
OBJETIVOS	38
HIPÓTESIS	40
MATERIAL Y MÉTODOS	42
1. Diseño del estudio	42
2. Participantes	42
2.1 Criterios de inclusión.....	42
2.2 Cálculo de la muestra	43
2.3 Lugar de obtención de la muestra y medición de datos.....	43
2.4 Características de la muestra y tipología de intervención	43
2.5 El placebo activo	45
3. Medidas principales y secundarias	50

3.1 Medidas principales	50
3.2 Medidas secundarias	51
3.3 Medidas de seguridad.....	56
4. Método estadístico utilizado	58
5. Aspectos éticos.....	59
RESULTS	60
1. Safety and effects of <i>G. lucidum</i> on pain, sleep and impact on fibromyalgia...	60
2. Effects of <i>G. lucidum</i> on happiness, depression, HRQoL and global improvement.	70
3. Effects of <i>G. lucidum</i> on physical fitness.....	74
4. Effects of <i>G. lucidum</i> on blood glucose, lipid profile and body composition. .	80
DISCUSSION	84
1. Safety and effects of <i>G. lucidum</i> on pain, sleep and impact on fibromyalgia...	84
2. Effects of <i>G. lucidum</i> on happiness, depression, HRQoL and global improvement.	86
3. Effects of <i>G. lucidum</i> on physical fitness.....	89
4. Effects of <i>G. lucidum</i> on blood glucose, lipid profile and body composition. .	90
5. Limitations.	91
CONCLUSIONES	92
CONCLUSION	95
CONCLUSIONI.....	97
BIBLIOGRAFIA	103

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Efectos terapéuticos y moléculas bioactivas del <i>G. lucidum</i>	35
Tabla 2. Clasificación taxonómica del <i>G. lucidum</i>	46
Tabla 3. Valor nutricional (por 100g) del <i>G. lucidum</i> utilizado en el estudio.	47
Tabla 4. Características organolépticas del <i>G. lucidum</i> utilizado en el estudio...	47
Tabla 5. Características físicas del <i>G. lucidum</i> utilizado en el estudio.	47
Tabla 6. Características microbiológicas del <i>G. lucidum</i> utilizado en el estudio. 48	
Tabla 7. Características genéticas del <i>G. lucidum</i> utilizado en el estudio.	48
Tabla 8. Clasificación taxonómica de la <i>Ceratonia siliqua</i>	49
Tabla 9. Valor nutricional (por 100g) de la <i>Ceratonia siliqua</i>	49
Tabla 10. Herramientas y cronograma de las medidas de la presente tesis.	57
Table 11: Symptoms of participants who did not complete the minimum 80% of the treatment.....	60
Table 12. Characteristics of women with FM from both groups at baseline.	62
Table 13. Effects of 6 weeks of treatment on pain, impact of fibromyalgia and HRQoL. Efficacy analysis.	64
Table 14. Effects of 6 weeks of treatment on pain, impact of fibromyalgia and HRQoL. Intent-to-treat analysis.....	69
Table 15. Effects of 6-week treatment with <i>G. lucidum</i> or <i>C. siliqua</i> on happiness, depression, satisfaction with life and GIIS in women with fibromyalgia.....	71

Table 16. Effects of 6-week treatment with <i>Ganoderma lucidum</i> or <i>Ceratonia siliqua</i> on HRQoL in women with fibromyalgia. Efficacy analysis.....	72
Table 17. Effects of 6-week treatment with <i>Ganoderma lucidum</i> or <i>Ceratonia siliqua</i> on HRQoL in women with fibromyalgia. Intent-to-treat analysis.....	73
Table 18. Effects of 6-week treatment with <i>G. lucidum</i> or <i>C. siliqua</i> on physical conditioning. Efficacy analysis.....	76
Table 19. Effects of 6-week treatment with <i>G. lucidum</i> or <i>C. siliqua</i> on physical conditioning. Intent-to-treat analysis.....	78
Table 20. Effects of 6-week treatment with <i>G. lucidum</i> or <i>C. siliqua</i> on blood glucose, lipid profile and body composition. Intra-group analysis.....	82
Table 21. Effects of 6-week treatment with <i>G. lucidum</i> or <i>C. siliqua</i> on blood glucose, lipid profile and body composition. Between-group analysis.....	83

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Nuevos criterios de diagnóstico de la fibromialgia del 2010	14
Figura 2. Forma de cultivo y detalles macroscópicos del reishi.	20
Figura 3. Detalles microscópicos del reishi.	20
Figura 4. Variabilidad morfológica del <i>G. lucidum</i> encontrada en varias colecciones Chinas.....	22
Figura 5. Varias especies comerciales de <i>Ganoderma</i>	24
Figure 6. Flow diagram of participants.	61
Figure 7. Pain reported every day at morning by the 2 groups.	65
Figure 8. Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ) profile for <i>G. lucidum</i> Group (GLG; n=26) and <i>C. siliqua</i> Group (CSG; n=24) at baseline and after treatment.	66
Figure 9. 15D profile for <i>G. lucidum</i> Group (GLG; n=26) and <i>C. siliqua</i> Group (CSG; n=24) at baseline and after treatment.....	67
Figure 10. Flow diagram of participants for the physical fitness test.	74
Figure 11. Flow diagram of participants for body composition.....	80

LISTA DE ABREVIATURAS

ACR	American College of Rheumatology
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AMPK	AMP-activated protein kinase
ANOVA	Analysis of Variance
ANZCTR	Australian New Zealand Clinical Trials Registry
BDI	Beck's Depression Inventory
CGRP	Calcitonin Gene Related Peptide
CIF	Cuestionario de Impacto de la Fibromialgia
CIFR	Cuestionario de impacto de la Fibromialgia revisado
CS	<i>Ceratonia siliqua</i>
CSG	Ceratonia Siliqua Group
CVRS	Calidad de Vida Relacionada con la Salud
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
FIQ	Fibromyalgia Impact Questionnaire
FM	Fibromialgia; Fibromyalgia.
GDS	Geriatric Depression Scale
GHS	General Happiness Scale
GIIS	Global Impression of Improvement Scale
GL	<i>Ganoderma lucidum</i>
GLG	Ganoderma Lucidum Group
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
HRQoL	Health-Related Quality of Life
ITS	Internal Transcribed Spacer
No-REM	Non Rapid Eye Movement
PCR	Polymerase Chain Reaction
PET	Polyethylene Terephthalate
PI3K	Phosphoinositide 3-Kinase
REM	Rapid Eye Movement
SLS	Satisfaction with Life Scale
SNC	Sistema Nervioso Central
SSC	Síndrome de Sensibilidad Central
SNP	Sistema Nervioso Periférico
TFN	Tumor Necrosis Factor (TNF)
VAS	Visual Analogue Scale
WHR	Waist-Hip Ratio

RESUMEN

La fibromialgia es un síndrome crónico de etiología desconocida que se caracteriza por dolor musculo-esquelético generalizado que afecta entre el 2% y el 5% de la población mundial. Los síntomas principales de la fibromialgia son fatiga, disminución de la condición física, sueño no reparador y depresión, entre otros muchos. Así mismo, los pacientes con fibromialgia suelen tener problemas de obesidad, siendo esto a su vez un factor de riesgo para sufrir varios problemas cardiovasculares como hipertensión y mayor probabilidad de sufrir diabetes tipo 2. Estos síntomas pueden conllevar la disminución de la Calidad de Vida Relacionada con la Salud y un nivel elevado de incapacidad.

A día de hoy aún no ha sido identificada una terapia estándar eficaz para este síndrome. La mejor estrategia de tratamiento hasta la fecha ha sido una terapia de carácter multidisciplinar basada en el tratamiento farmacológico, la actividad física y la terapia psicológica. En los últimos años se ha empezado también a evaluar la funcionalidad de ciertos alimentos con el objetivo de complementar las actuales estrategias de lucha contra la fibromialgia.

Reishi es el nombre común de la seta producida por el hongo denominado *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. Esta seta ha demostrado ser útil para mejorar la calidad y cantidad de horas de sueño, elevar los niveles de defensas, disminuir el peso, los niveles de colesterol, los niveles de triglicéridos, la tensión arterial, los valores de glucosa y aumentar el rendimiento físico, en estudios tanto en ratones como en humanos. Hasta la fecha, según nuestro conocimiento, no ha sido realizado ningún estudio que evalúe los efectos del reishi en personas con fibromialgia.

El objetivo principal del estudio ha sido evaluar la seguridad y los efectos de 6 gramos de polvo micromolido de reishi suministrado por vía oral sobre sobre las siguientes variables: dolor, calidad y cantidad de sueño e incapacidad de las pacientes con fibromialgia. Secundariamente se han evaluado los efectos de 6 gramos de polvo micromolido de reishi en comparación con 6 gramos de harina de algarrobo (*Ceratonia siliqua*), sobre las siguientes variables: felicidad, depresión, calidad de vida relacionada con la salud, percepción de mejora, condición física, niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos en sangre, tensión arterial y composición corporal.

Setenta personas con fibromialgia fueron reclutadas y sometidas a un ensayo clínico aleatorizado con un grupo experimental y un grupo con placebo activo para la variable de dolor. Al grupo experimental se le suministró 2 dosis de 3 gramos de reishi al día, una durante el desayuno y la otra durante la cena, durante 42 días. Al grupo con placebo activo se le suministró la misma dosis de harina de algarrobo.

Los resultados han mostrado que 6 gramos de reishi al día disminuyen la incapacidad provocada por la fibromialgia y mejoran las siguientes variables: sueño, felicidad, percepción de mejora clínica global, resistencia aeróbica, velocidad y flexibilidad de los miembros inferiores. Además, el reishi podría disminuir el grado de dolor y el nivel de depresión.

En conclusión, con este estudio se abre una nueva línea de investigación en el tratamiento no farmacológico de la fibromialgia, ya que la ingesta de reishi podría ser útil para luchar contra algunos de los síntomas de la fibromialgia, pudiendo complementar las estrategias de lucha contra este síndrome.

Palabras clave: Fibromialgia; Dolor; *Ganoderma lucidum*; *Ceratonia siliqua*, Medicina alternativa; Alimentos funcionales.

ABSTRACT

Fibromyalgia is a chronic syndrome of unknown etiology characterized by widespread musculoskeletal pain which affects between 2% and 5% of the world population. The main symptoms are fatigue, decreased physical fitness, poor sleep and depression, among many others. Likewise, patients with fibromyalgia often suffer obesity problems, that represent a risk factor for the onset of other cardiovascular problems as hypertension and type 2 diabetes. These symptoms can lead to decreased Health Related Quality of Life and a high level of impediment.

To date, it has not been identified an effective treatment for this syndrome yet. The best therapeutic strategy involves a multidisciplinary approach based on drug treatment, physical activity and psychological therapy. Recent studies have also started to assess functional food in order to complement the actual therapy.

Reishi is the common name of a mushroom produced by the fungus called *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. This mushroom has proven to be useful to improve the quality and quantity of sleep, raise the defense levels of the organism, reduce cholesterol, triglycerides, glucose, weight and blood pressure and, finally, increase physical performance, both in mice and humans. To date, to our knowledge, there are no studies aimed to assess the effect of reishi on the fibromyalgic population.

The main objective of the study was to evaluate the effects of 6 grams of micro-milled *Ganoderma lucidum* powder administered by oral route on the following variables: pain, quality and quantity of sleep and the inability of patients with fibromyalgia. Secondly, we have evaluated the effects of 6 grams of micro-milled

Ganoderma lucidum powder in comparison with 6 grams of Carob (*Ceratonia siliqua*) flour on the following variables: happiness, depression, health related quality of life, perception of improvement, fitness, blood glucose, cholesterol and triglycerides, blood pressure and body composition.

Seventy fibromyalgic patients were included in a randomized clinical trial with an experimental group and an active placebo group for the pain variable. The experimental group took 2 doses of 3 grams of reishi daily, one at breakfast and another at dinner, for 42 days. The active placebo group took the same dose of carob flour.

Results showed that 6 daily grams of reishi decrease the impact of fibromyalgia and improve the following variables: sleep quality, happiness, perception of global clinical improvement, aerobic endurance, speed and flexibility of the lower limb. In addition, the reishi may lower pain and depression levels.

In conclusion, this study opens a new line of investigation for the fibromyalgia treatment, since the intake of reishi could complement the actual strategy to combat the symptoms of fibromyalgia.

Keywords: Fibromyalgia; Pain; *Ganoderma lucidum*; *Ceratonia siliqua*; Alternative medicine; Functional food.

RIASSUNTO

La fibromialgia è un sindrome cronico le cui cause rimangono ad oggi ancora sconosciute che causa dolore muscolo-scheletrico diffuso e generalizzato. Si stima che tra il 2 e il 5% della popolazione mondiale sia affetto dal sindrome. I principali sintomi della malattia sono: fatica, diminuzione delle capacità fisicomotorie, alterazioni del sonno e stadi depressivi. Inoltre, la fibromialgia è spesso associata a problemi di obesità che a loro volta possono causare gravi affezioni cardiovascolari come ipertensione e diabete tipo 2. Tutti questi sintomi possono anche causare la diminuzione della qualità di vita associata alla salute e provocare livelli elevati di incapacità psico-fisica.

Al giorno d'oggi non esiste ancora nessun trattamento efficace contro la malattia. La strategia di lotta attuale si basa in un approccio multidisciplinare che prevede l'utilizzo di farmaci, dell'attività fisica e della terapia psicologica. Recentemente si è iniziato anche a studiare l'effetto degli alimenti funzionali con il fine di complementare le attuali strategie di lotta contro i sintomi del sindrome.

Reishi è il nome comune del fungo appartenente alla specie *Ganoderma lucidum* (Curt .: Fr.) P. Karst. Diversi studi scientifici condotti sia su cavie che su umani, hanno dimostrato che questo fungo può migliorare la quantità e qualità del sonno, aumentare le difese dell'organismo, ridurre i livelli di colesterolo, trigliceridi e glucosio nel sangue, il peso corporale e la pressione sanguinea, e incrementare le performance fisiche. Nonostante tutti i potenziali benefici del fungo per le persone affette dal sindrome, in base alle nostre conoscenze non sono mai stati condotti studi per valutare gli effetti del *Ganoderma lucidum* in pazienti con fibromialgia.

L'obiettivo principale di questa tesi è stato quello di valutare gli effetti derivanti dall'ingestione giornaliera di 6 grammi di reishi amministrati per via orale sul grado di dolore, la qualità e quantità del sonno e l'incapacità delle persone affette da fibromialgia. Secondariamente sono stati valutati gli effetti di 6 grammi di reishi in comparazione con 6 grammi di farina di carrubo (*Ceratonia siliqua*) sulle seguenti variabili: felicità, depressione, qualità di vita relativa alla salute, percezione di miglioramento globale, condizione fisica, livelli di glucosio, colesterolo e trigliceridi nel sangue, composizione corporea e pressione sanguinea.

Settanta pazienti affetti da fibromialgia sono stati sottomessi a uno studio clinico randomizzato con gruppo sperimentale e gruppo placebo attivo per la variabile del dolore. Al gruppo sperimentale sono stati somministrati per via orale 2 dosi al giorno di 3 grammi di reishi, una a colazione e un'altra a cena, durante 42 giorni. Al gruppo placebo, invece, sono state somministrate le stesse dosi di farina di carrubo.

I risultati hanno mostrato che 6 grammi al giorno di reishi possono aiutare a combattere i sintomi della fibromialgia, visto che sono in grado di diminuire il impatto della fibromialgia e migliorare la qualità del sonno, la felicità, la percezione di miglioramento globale, la resistenza aerobica, la velocità e la flessibilità degli arti inferiori. Inoltre, il consumo di reishi potrebbe diminuire il grado di dolore e il livello di depressione.

In conclusione, questo studio apre una nuova linea di ricerca per il trattamento della fibromialgia, visto che il consumo di reishi può essere utile per integrare le attuali strategie di lotta contro i sintomi della fibromialgia.

Parole chiave: Fibromialgia; Dolore; *Ganoderma lucidum*; *Ceratonia siliqua*, Medicina alternativa; Alimenti funzionali.

INTRODUCCIÓN

1. La fibromialgia

La fibromialgia (FM) es un síndrome crónico de etiología desconocida que se caracteriza por dolor musculo-esquelético generalizado, rigidez y sensibilidad a la palpación en los puntos gatillos. El síndrome se manifiesta con una gran variedad de síntomas, entre los cuales destacan: la fatiga persistente, el sueño no reparador, la rigidez generalizada y los síntomas ansioso-depresivos. Se ha estimado que aproximadamente entre un 2-5% de la población mundial padece esta enfermedad [1]. En España y en los países de la unión Europea se estima que entre un 2,9-4,7% de la población padece FM [2].

El nombre deriva de la palabra latina "fibro" que significa (tejido fibroso) y de las palabras griega "mio", que significa músculo o muscular y "algos", que significa dolor. Gower fue el primero en utilizar el término “fibrositis” para describir aquella inflamación que provocaba dolor muscular [2]. También Traut utilizó el término “fibrositis” para describir el dolor musculo-esquelético asociados a fatiga, sueño no reparador y sensibilidad en los puntos gatillos [3]. El primer estudio clínico que tuvo también el mérito de llevar a la luz el problema fue publicado por Yunus et al. [4]. En este estudio se demostró que los pacientes que sufrían FM padecían más síntomas múltiples con respecto a los grupos de control (dividido por edad, sexo y raza), entre los cuales se encontraban los siguientes: dolor, sueño no reparador, cansancio, parestesia, síndrome del intestino irritable, migrañas, y mayor sensibilidad en los puntos gatillos. Hench y Mitler utilizaron por primera vez el término “fibromialgia” en el 1976 para resaltar la existencia de fenómenos dolorosos musculares y la ausencia de signos inflamatorios, con lo que se abandonó el término de fibrositis utilizado hasta

entonces [5, 6]. La existencia del síndrome fue definitivamente validada por el estudio multicéntrico refrendado por el *American College of Rheumatology* (ACR), donde se definieron los primeros criterios de diagnóstico que aún permanecen vigentes. En 1992, en la Declaración de Copenhague [7], la FM fue reconocida por la Organización Mundial de la Salud tipificándola con el código M79.0 en el manual de Clasificación Internacional de Enfermedades (ICD-10) [8]. En 1994 la FM fue reconocida por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor clasificándola con el código X33.X8a [9].

En el contexto nacional español, se publicó en el 2002 el primer documento de consenso sobre el diagnóstico y tratamiento de la FM [10], en el cual se define la FM como: “un estado doloroso generalizado no articular, que afecta principalmente a las zonas musculares y raquis, y que presenta una exagerada sensibilidad en múltiples puntos predefinidos”. Posteriormente, en el 2004, el Ministerio de Sanidad y Consumo publicó un documento de consenso [12] en el que se marcan las directrices para:

- el correcto diagnóstico de la FM;
- el estudio de su impacto vital, familiar, laboral y sobre el sistema sanitario;
- las estrategias terapéuticas a utilizar.

En España, actualmente, a los afectados por FM se les puede reconocer:

- la incapacidad temporal, por el médico facultativo;
- la incapacidad permanente de diversos grados, cuyo reconocimiento compete al director de la delegación provincial competente del Instituto Nacional de la Seguridad Social.

Según los criterios del ACR del 1990 el síndrome se diagnostica en presencia de dolor difuso de más de 3 meses de evolución y sensibilidad al dolor

aumentada a la palpación digital en al menos 11 de 18 localizaciones anatómicas propuestas [11]. La presión digital debe ejercerse con una fuerza aproximada de 4 kg/cm². En base a estos criterios se ha estimado que 9 de cada 10 personas que padecen FM son mujeres. En el 2010 el ACR ha propuesto unos nuevos criterios de diagnóstico [12] que fueron sucesivamente modificados en el 2011 [13]. Si los criterios del 1990 se basaban exclusivamente en el dolor, estos nuevos criterios se centran también en la evaluación sistémica de los síntomas (figura 1). Teniendo en cuenta los criterios del 2010 la prevalencia del síndrome entre mujeres y hombres alcanza un equivalencia de 2:1 con respecto a los 9:1 anteriores [14].

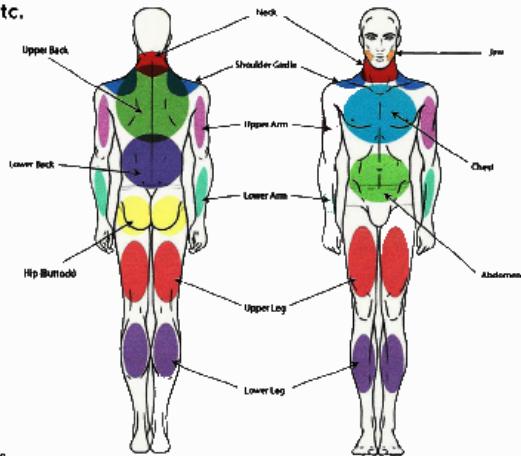
Determining Your Widespread Pain Index (WPI): Part 1
To answer the following questions, patients should take into consideration:

- how you felt the past week
- while taking your current therapies and treatments
- and exclude your pain or symptoms from other known illnesses such as arthritis, Lupus, Sjogren's, etc.

The WPI Index score is between 0 and 19.

Check each area you have felt pain in over the past week.

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Shoulder girdle, left | <input type="checkbox"/> Lower leg, left |
| <input type="checkbox"/> Shoulder girdle, right | <input type="checkbox"/> Lower leg, right |
| <input type="checkbox"/> Upper arm, left | <input type="checkbox"/> Jaw, left |
| <input type="checkbox"/> Upper arm, right | <input type="checkbox"/> Jaw, right |
| <input type="checkbox"/> Lower arm, left | <input type="checkbox"/> Chest |
| <input type="checkbox"/> Lower arm, right | <input type="checkbox"/> Abdomen |
| <input type="checkbox"/> Hip (buttock), left | <input type="checkbox"/> Neck |
| <input type="checkbox"/> Hip (buttock), right | <input type="checkbox"/> Upper back |
| <input type="checkbox"/> Upper leg, left | <input type="checkbox"/> Lower back |
| <input type="checkbox"/> Upper leg, right | <input type="checkbox"/> None of these areas |



Count up the number of areas checked and enter your Widespread Pain Index or WPI score here: _____

Symptom Severity Score (SSS)- Part 2a

Fatigue: _____

- 0 = No problem
- 1 = Slight or mild problems; generally mild or intermittent
- 2 = Moderate; considerable problems; often present and/or at a moderate level
- 3 = Severe: pervasive, continuous, life disturbing problems

Waking unrefreshed: _____

- 0 = No problem
- 1 = Slight or mild problems; generally mild or intermittent
- 2 = Moderate; considerable problems; often present and/or at a moderate level
- 3 = Severe: pervasive, continuous, life disturbing problems

Cognitive symptoms: _____

- 0 = No problem
- 1 = Slight or mild problems; generally mild or intermittent
- 2 = Moderate; considerable problems; often present and/or at a moderate level
- 3 = Severe: pervasive, continuous, life disturbing problems

Tally your score for Part 2a (not the number of checkmarks) and enter it here: _____

Figura 1. Nuevos criterios de diagnóstico de la fibromialgia del 2010 [15]¹

¹Permiso otorgado por Elsevier Limited el 02 de octubre de 2015.

Un estudio estadounidense ha estimado que los costes directos de un paciente que padece de FM grave pueden suponer un coste sanitario trimestral extra de 2.329 dólares, mientras que los costes indirectos pueden llegar a los 8.285 dólares [16], por un total trimestral de 10.614 dólares que corresponden a 42.456 dólares anuales. Otra investigación hecha en España ha estimado que la FM supone un coste sanitario extra de 5.010 euros/año por paciente [17].

Todavía no existe un tratamiento universalmente aceptado para la reducción de los síntomas; la terapia que se ha visto más eficaz hasta la fecha utiliza un enfoque interdisciplinario basado en la educación del paciente, el ejercicio, las terapias conductuales y el consumo de ciertos fármacos como: antidepresivos, inhibidores selectivos de la recaptación de neurotransmisores, antidepresivos, antiinflamatorios, antiepilepticos, y relajantes musculares [18].

De esta breve introducción se puede ver que la FM representa un problema sanitario con implicaciones socio-económicas muy relevantes que, actualmente, se recomienda tratar a través de una estrategia multidisciplinar. En este sentido es importante seguir investigando para buscar mejores estrategias de lucha contra este síndrome.

1.1. Posibles causas y síntomas

Como ya se ha adelantado, para poder comprender mejor esta investigación es necesario hacer un resumen sobre las posibles causas de la FM y de sus síntomas.

A día de hoy la hipótesis más aceptada es considerar la FM un Síndrome de Sensibilidad Central (SSC) [15]. En el 1994, por primera vez, Yunus engloba en el SSC distintos procesos con características comunes [19]. Todos ellos eran de causa desconocida, tenían una fisiopatología semejante y unos síntomas comunes.

Dentro de los SSC se incluyeron: la migraña o la cefalea tensional, el síndrome de colon irritable, el síndrome de fatiga crónica, el síndrome de piernas inquietas y los movimientos paradójicos de miembros inferiores, el síndrome de la articulación temporo-mandibular, el síndrome químico múltiple, el síndrome uretral femenino, la cistitis intersticial, la dismenorrea primaria, el dolor pélvico crónico, el trastorno por estrés postraumático y la depresión [20]. Todas estas compartían una serie de síntomas generales y crónicos: fatiga, alteraciones cognitivas importantes (falta de concentración, memoria y lentitud mental), infecciones, alteraciones gastro-intestinales, hipersensibilidad química, dolor y alteraciones en el sueño. Estas manifestaciones eran también más frecuentes en mujeres que en hombres y no se objetivaba patología estructural que las justificara. En general, en los SSC existe una hiper-excitabilidad de las neuronas del sistema nervioso central a los distintos estímulos periféricos como: dolor, olor, ruidos, alimentos, productos químicos, campos electromagnéticos, cambios de tiempo, estrés, infecciones, uso de fármacos, etc., que provoca una hiper-respuesta a éstos, y que se mantiene en el tiempo a pesar de la desaparición del estímulo.

La FM ha sido clasificada como primaria y concomitante [21]. Se define primaria cuando no hay otras manifestaciones que pueden haber contribuido a la aparición del dolor. Mientras que se define concomitante cuando están presentes otras condiciones médicas debilitantes que conjuntamente a la FM son las responsables de causar el dolor o la fatiga, como por ejemplo: osteoartritis, artritis reumatoide, lupus eritematoso o hipotiroidismo. No existen diferencias específicas entre la FM primaria y secundaria. Se considera que el término “FM secundaria” no se debería utilizar y se recomienda el uso del término “FM concomitante” [22].

Existen tres hipótesis sobre los mecanismos concomitantes que pueden estar involucrados en la pato-etiología de la FM [15]:

- la sensibilización central;
- el fracaso de las vías descendentes inhibidoras (antinociceptivas);
- una disfunción de los receptores opioides mu, posiblemente involucrada con el fracaso de las vías descendentes inhibidoras.

En conjunto estos factores provocarían un mantenimiento y un incremento de la sensibilidad a la amplificación de los impulsos periféricos, produciéndose un aumento progresivo de respuesta (fenómeno *wind-up*), así como su suma temporal. La sensibilización central sería la responsable de la disminución de umbrales a los distintos estímulos y por tanto del incremento de la sensibilidad, provocando el fenómeno *wind-up* y el dolor persistente a pesar de haber retirado el estímulo. El fenómeno *wind-up* puede ser además responsable de la hiper-excitabilidad o exceso de respuesta a los distintos estímulos, ya sean dolorosos o no dolorosos, y del aumento de la actividad espontánea. Esta sensibilización mantenida va a provocar cambios en la neuroplasticidad, que se pueden apreciar en pruebas de imagen como las resonancias magnéticas funcionales². En el SSC existe por tanto una desregulación neurosensorial que va a producir alteraciones neuroendocrinas y del sistema inmunológico, desarrollándose un círculo vicioso que es el origen de los múltiples síntomas y síndromes que aparecen en este proceso. La cronificación del proceso dará lugar, entre otras, a un aumento del estrés oxidativo y de los radicales libres, provocando un aumento de las sustancias proinflamatorias e inmunológicas y disfunciones mitocondriales. Fruto de la disfunción de todos estos sistemas íntimamente relacionados aparecerá una

²<http://www.shcmedical.es/es/sensibilidad-central> (visitado el 20/10/2015)

sintomatología compleja y variada, ya que no hay órgano que se libre de la regulación de estos sistemas. La riqueza sintomatológica de la FM, entonces, se podría explicar por la desregulación que se produce a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC), sistema inmunológico y sistema neuroendocrino.

Como ya hemos adelantado, el síndrome se caracteriza por dolor musculo-esquelético generalizado persistente (más de 3 meses), rigidez y sensibilidad a la palpación en los puntos gatillos. Otros síntomas muy comunes de la FM son: cansancio, dificultades para dormir y sueño no reparador, parestesia, trastornos psicológicos, problemas cognitivos y sensación de hinchazón de las extremidades inferiores. Además, un reciente artículo ha evidenciado que la parestesia de los miembros superiores, las hemorroides y la epistaxis se deberían considerar también entre los síntomas asociados a la FM, secundariamente a la laxitud del tejido conectivo [23]. El 50% de los afectados por FM reporta también neuritis, incluyendo parestesia (52%) y dolor lancinante (50%). Son síntomas comunes también el síndrome de las piernas inquietas (56%) y la migraña (60%) [24]. El cansancio, desde un nivel moderado a grave se encuentra en un 75-90% de los pacientes [4, 12]. Esto puede ser un síntoma secundario debido a la falta de sueño y de condición física o factores psicológicos [4, 25]. El sueño no reparador es asimismo un síntoma muy común. Aproximadamente el 75% de los pacientes que sufren el síndrome tienen problemas de sueño [26, 27]. El cansancio por la mañana está presente en el 75-90% de los pacientes [4, 12]. Los problemas del sueño se combinan frecuentemente con insomnio, despertares nocturnos múltiples, sueño ligero, síndrome de las piernas inquietas y movimientos anormales de los miembros [22]. Los problemas del sueño suelen también estar relacionados con los trastornos psicológicos, el cansancio y el dolor [4, 12, 22,

25]. Moldofsky notó unas variaciones diurnas en el grado de dolor. El grado de dolor mayor se manifestaba a las primeras horas de la mañana, al final de la mañana y por la tarde. Mientras que los pacientes se sentían mejor entre las 10 y las 14 horas. También se han notado variaciones estacionales del dolor siendo la primavera y el verano las estaciones donde el grado de dolor era menor [28]. Los trastornos psicológicos han sido asimismo relacionados con el aumento del grado de dolor [29]. Otros síntomas asociados a la FM suelen ser: migraña, síndrome de colon irritable, síndrome de piernas inquietas, el síndrome uretral femenino, la cistitis intersticial, desórdenes tiroideos (Hipotiroidismo) y dismenorrea primaria [12]. La FM ha sido también asociada a otras patologías como la artritis reumatoide, la osteoartritis, el lupus eritematoso y el síndrome de Sjögren. Aún se desconocen los motivos de la concomitancia entre estos síntomas y la FM. Cabe también la posibilidad que estos desordenes puedan ser el origen de los cambios neuroplásticos que están involucrados en la sensibilidad central que causa la amplificación de la señal del dolor en la FM [15].

2. El género *Ganoderma*

Reishi es el nombre común de la seta producida por el hongo denominado *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr) P. Karst (figura 2 y 3).

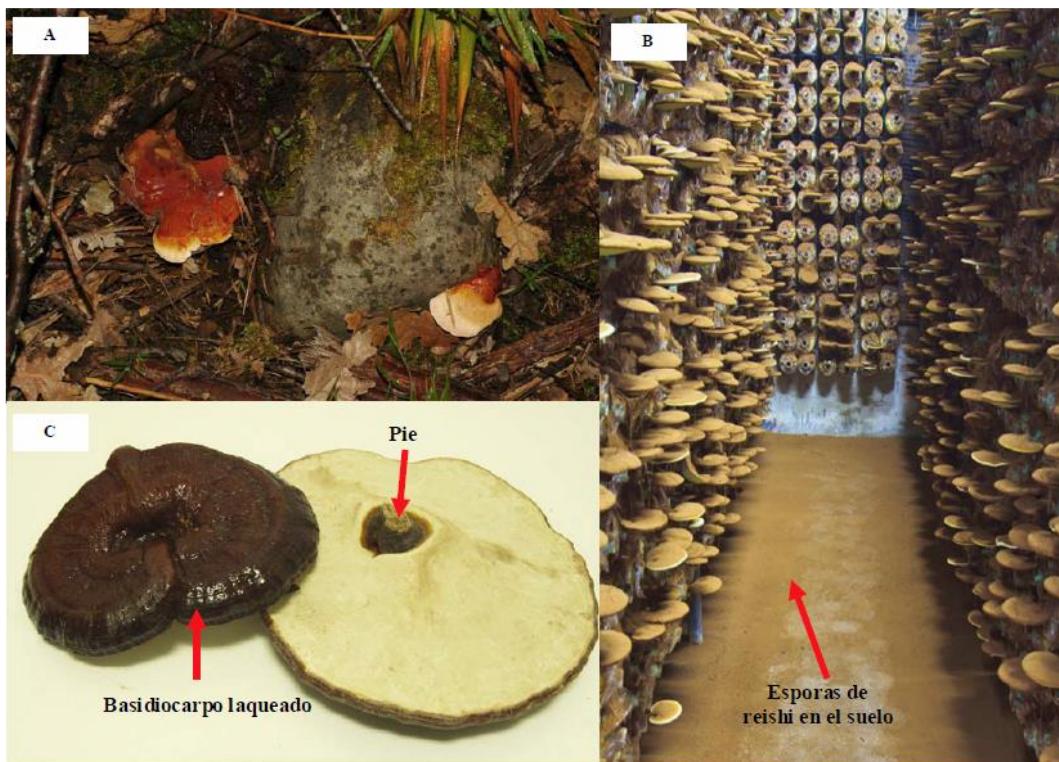


Figura 2. Forma de cultivo y detalles macroscópicos del reishi.

A- Reishi silvestre en bosque templado caducifolio. B- Reishi cultivado. C- Detalles del carpóforo (setas)³.



Figura 3. Detalles microscópicos del reishi³.

³ Permiso otorgado por Mundo Reishi el 22/10/2015.

El género *Ganoderma*, que pertenece a los hongos del orden poliporales, es uno de los más amplios al contar con más de 250 especies reportadas en todo el mundo, cuyas subdivisión taxonómica es aún hoy muy debatida [30]. La metodología empleada en la taxonomía tradicional suele tomar en cuenta características tales como: especificidad del hospedero, distribución geográfica y rasgos morfológicos macroscópicos del cuerpo fructífero, incluyendo el color, la forma del margen del píleo y la presencia o ausencia de estípite. Otras características comúnemente consideradas como útiles en la identificación del género son las siguientes: estructura microscópica de la corteza del píleo; forma, textura y tamaño de las basidiosporas; presencia o ausencia de clamidosporas en cultivos *in vitro* y reacción amiloide o dextrinoide en presencia del reactivo de Melzer. Siguiendo un consenso ampliamente aceptado, el género *Ganoderma* viene actualmente dividido en 2 subgéneros de acuerdo con la textura de la cubierta superior de su basidiocarpo: subgénero *Ganoderma*, para los ejemplares con basidiocarpo laqueados y subgénero *Elvingia* (= *Ganoderma applanatum*) para los no laqueados [31]. Aunque, no siempre la clasificación taxonómica basada en características morfológicas permite discriminar con extrema seguridad de qué especie se trata debido a la amplia variabilidad existente entre los miembros del género (figura 4). De hecho, se han reportado que características tradicionalmente consideradas como diagnósticas, tales como la forma del basidiocarpo, el tamaño y forma de las basidiosporas y el color pueden depender en gran medida de las condiciones ambientales en las que creció el hongo. Por todos estos motivos, para identificar a nivel de especie es a veces necesario recurrir a técnicas derivadas de la biología molecular.



Figura 4. Variabilidad morfológica del *G. lucidum* encontrada en varias colecciones Chinas [32]⁴.

A: forma del sombrero; A-1: reniforme y cóncava; A-2: reniforme y convexa; A-3: circular y convexa; A-4: circular y cóncava. B: longitud del pie; B-1: pie largo; B-2: pie corto. C: inserción del pie; C-1: lateral; C-2: central. D: superficie del sombrero; D-1: con surcos radiales; D-2: con zonas a surcos concéntricos. E: anchura del sombrerito; E-1: de una capa fina; E-2: de más capas y gorda. F: superficie de los poros; F-1: blanquilla; F-2: amarillenta. G: largo; G-1: corta, menor de 0.5 cm; G-2: larga, mayor de 1 cm. Barra de referencia: 1 cm en A-1, A-3, E-2, F-2, G-1 y G-2; 1.5 cm en A-2, A-4, B-2, C-1, C-2, D-1, D-2, E-1 y F-1; 2 cm en B-1.

Entre los enfoques empleados para complementar la identificación taxonómica de los hongos del género *Ganoderma* cabe mencionar el uso de métodos basados en la amplificación de secuencias de ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), especialmente aquellas relacionadas con el análisis de la región espaciadora interna transcrita (ITS, por sus siglas en inglés). Adicionalmente a los enfoques relacionados con el uso de marcadores moleculares, también se han ensayado otras estrategias de

⁴ Creative Commons Attribution License.

identificación en este género, entre las que destacan: quimiotaxonomía basada en el análisis del patrón de producción de metabolitos secundarios mediante HPLC y ensayos inmunológicos tipo ELISA [33].

Dentro del subgénero *Ganoderma* han sido descritas diferentes especies parecidas al *G. lucidum* y provenientes desde todo el mundo (figura 5), incluyendo: *Ganoderma multipileum*, *Ganoderma sichuanense* y *Ganoderma lingzhi* en Cina, *Ganoderma resinaceum* en Europa y *Ganoderma oregonense*, *Ganoderma sessile*, *Ganoderma tsugae* y *Ganoderma zonatum* en Estados Unidos [34]. Entre estas, el *Ganoderma lucidum* (GL), comúnmente llamado Língzhī en Cina y reishi en Japón, representa una de las setas medicinales más importantes a nivel mundial [35]. Esta seta se utiliza desde hace más de 2000 años en la medicina popular oriental para tratar diversas enfermedades, tales como: hepatitis, hipertensión, hipercolesterolemia y cáncer gástrico [36]. Se cree que el consumo regular de este hongo preserve la vitalidad humana y promueva la longevidad [37, 38]. A día de hoy existen en el mercado diferentes productos funcionales a base de GL para su utilización como anti-cancerígenos, anti-edad y con funciones anti-micróbica y anti-viral entre otras [35].

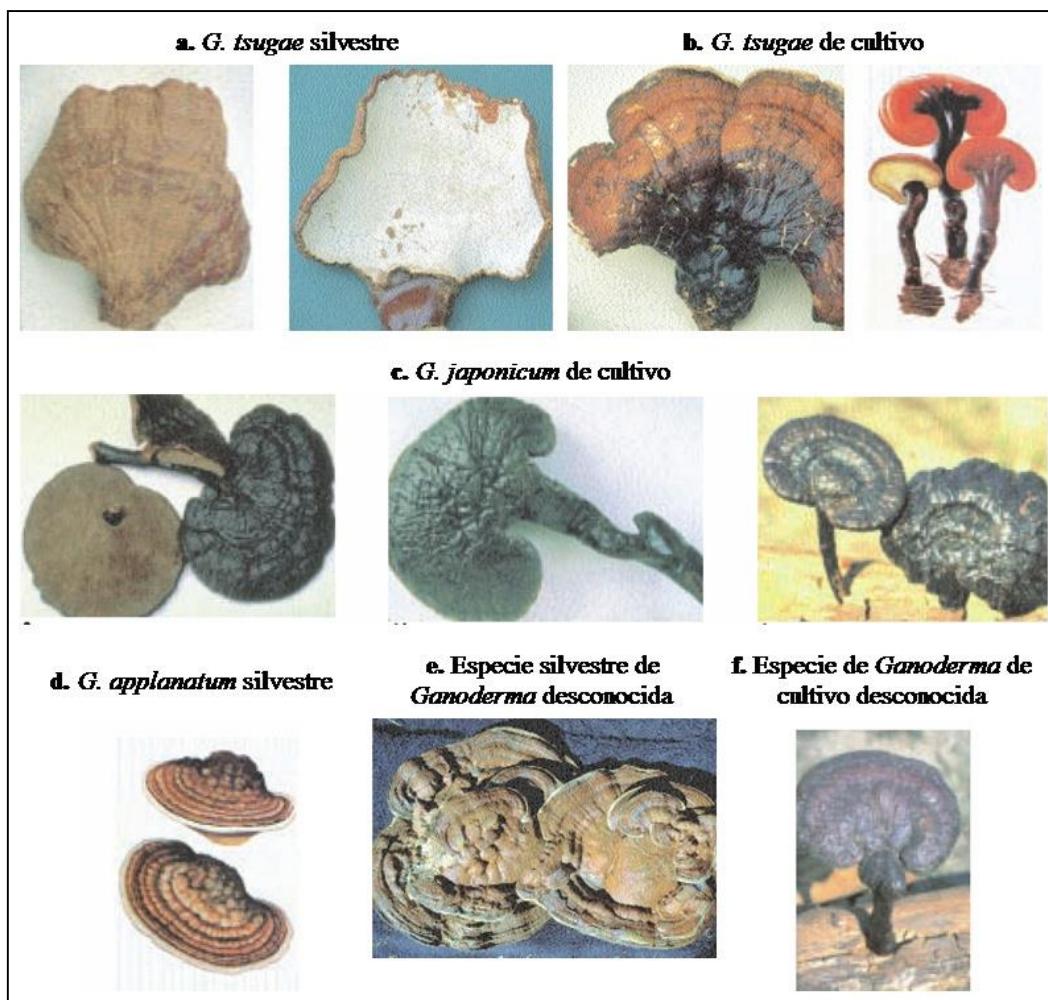


Figura 5. Varias especies de *Ganoderma* en comercio⁵.

Ganoderma tsugae (a-d), *Ganoderma japonicum* (c), *Ganoderma applanatum* (d) y otras especies de *Ganoderma* desconocidas (e y f) [39].

3. Reishi y fibromialgia

Estudios recientes han demostrado una serie de actividades biológicas del reishi que podrían ayudar a aliviar y curar algunos de los síntomas típicos de la FM. En particular el consumo de reishi podría ayudar a tolerar mejor el dolor [40, 41] que es el principal síntoma de la FM. Además, investigaciones tanto *in vitro* como *in vivo* han demostrado que el consumo de reishi puede aumentar la calidad

⁵ Permiso otorgado por the American Herbal Pharmacopoeia el 20 de octubre de 2015.

del sueño [42-45], disminuir la sensación de cansancio [46] y, en general, mejorar el estado de bienestar físico y consecuentemente la calidad de vida de las personas afectadas de FM, gracias también a su actividad sobre el potenciamiento del sistema inmunitario y de defensa celular [47]. De hecho, investigaciones tanto *in vitro* como *in vivo* destacan que el consumo de reishi incrementa las defensas del organismo [48-65], defiende las células gracias a su elevado contenido de factores antioxidantes [48, 66-74], mejora el sistema circulatorio disminuyendo la formación de trombos [75], ayuda a regular los niveles de azúcares y lípidos en la sangre (glucosa, colesterol y triglicéridos) [76-80] y disminuye la presión arterial [78, 81]. Las propiedades antioxidantes del GL, podrían jugar un papel muy relevante para disminuir el impacto de la FM si se considera que un estudio reciente ha subrayado que el estrés oxidativo podría tener un papel muy importante en su patofisiología [82]. Además, ha sido demostrado que el GL puede aliviar los síntomas de la diabetes [83], que se considera una enfermedad relacionada con la FM [84] y de otras enfermedades virales [85-89]. Asimismo, otros autores señalan que la FM podría tener un desencadenante vírico [90-92].

Según nuestro conocimiento, a fecha de inicio de la presente tesis, no había sido publicado ningún trabajo científico sobre los efectos del GL en personas afectadas por FM. Sólo existían algunas referencias y citaciones en páginas web no oficiales^{6,7,8}.

⁶<http://www.healingwell.com/community/default.aspx?f=24&m=2261196> (visitado el 20/10/2015).

⁷<https://ganodermamasters.wordpress.com/2010/08/30/rheumatoid-arthritis-and-prozac> (visitado el 20/10/2015).

⁸<http://www.fungihealth.com/medicinal-mushrooms-fibromyalgia> (visitado el 20/10/2015).

3.1 Reishi y dolor

El dolor se define como una “experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con una lesión tisular real o potencial, o descrita como la ocasionada por dicha lesión [93]”. Las alteraciones del procesamiento del estímulo nociceptivo pueden además desencadenar:

- Una reducción del umbral del dolor: alodinia
- Una respuesta exaltada al estímulo nocivo: hiperalgesia
- Un aumento en la duración de la respuesta frente a una estimulación breve: dolor persistente
- Una extensión del dolor y de la hiperalgesia a tejidos no lesionados: dolor referido.

Todos estos fenómenos pueden persistir aunque haya desaparecido la lesión periférica. El dolor no es un fenómeno pasivo de transferencia de información desde la periferia a la corteza, sino un proceso activo generado en parte en la periferia y en parte en el SNC, y susceptible de cambios en relación a múltiples modificaciones neuronales (Neuroplasticidad). Woolf y colegas [94] fueron los primeros en aportar evidencia de que un estímulo periférico podía desencadenar un incremento sostenido de la excitabilidad central. La plasticidad neuronal consiste por tanto, en la capacidad de las neuronas para cambiar su estructura, su función, o su perfil génico [95]. Este fenómeno puede ocurrir a todos los niveles neurales, tanto del SNC que del Sistema Nervioso Periférico (SNP) [96].

El dolor puede clasificarse como agudo y crónico. El dolor agudo tiene una función de protección biológica (alarma) y es la consecuencia inmediata de la activación de los sistemas nociceptivos por la estimulación química, mecánica y

térmica de nociceptores específicos. El dolor crónico no tiene función protectora y es un dolor persistente que puede autoperpetuarse por un tiempo prolongado después de una lesión o incluso en ausencia de ella, y se asocia a importantes síntomas psicológicos.

En función de los mecanismos fisiopatológicos involucrados, el dolor puede diferenciarse en nociceptivo y neuropático. El dolor nociceptivo es la consecuencia de una lesión somática o visceral. El dolor neuropático es el resultado de una lesión y alteración de la transmisión de la información nociceptiva a nivel de SNC y SNP.

Los nociceptores son terminaciones periféricas de las fibras aferentes sensoriales primarias capaces de diferenciar entre estímulos inocuos y nocivos que son transmitidos a través de las fibras aferentes sensoriales primarias hacia el SNC. Se distinguen 3 tipos de nociceptores que se caracterizan por tener un umbral de dolor diferente: cutáneos, músculo-articulares y viscerales. En el recorrido de las neuronas primarias, las fibras aferentes de los nociceptores alcanzan la médula espinal a través de las raíces dorsales, y terminan en la sustancia gris del asta posterior medular. Las terminaciones centrales de estas fibras liberan transmisores excitatorios (Sustancia P, glutamato y péptidos relacionados con el gen de la calcitonina o CGRP en sus siglas en inglés) que actúan sobre receptores específicos e inducen la despolarización de las neuronas de segundo orden, transmitiéndose la información hacia los centros superiores donde inducen respuestas vegetativas, motoras y emocionales (aparece el dolor).

La transmisión excitatoria va recibiendo la modulación de los sistemas inhibitorios. Estos sistemas están formados por transmisores y receptores capaces de disminuir la liberación de transmisores excitatorios y la excitabilidad neuronal.

Se activan a la vez por el estímulo doloroso y parecen actuar sinérgicamente con el sistema excitatorio [97].

En este contexto, las propiedades analgésicas del GL se explicarían a través de diferentes mecanismos de interacción en los sistemas involucrados en el dolor. En particular, Han, (2010) [41] ha demostrado que los glicéridos del GL son capaces de inhibir la formación de la Neurolisina, una enzima capaz de inhibir la Neurotensina y la Dinorfina-A, 2 péptidos involucrados en la modulación del dolor. El mismo estudio, a través del “Writhings test”, una prueba que mide las contracciones dolorosas inducidas con ácido acético, ha demostrado que los glicéridos del GL inhiben las constricciones abdominales de una manera dependiente de la dosis proporcionada. Tales efectos se deberían a la interacción de los glicéridos del GL con los mecanismos de estimulación periféricos en los que estarían involucrados las prostaglandinas, unos mediadores celulares implicados en la respuesta inflamatoria. En otros estudios, siempre a través del “Writhings test”, se han demostrados las propiedades antinociceptivas de diferentes compuestos del reishi, entre los cuales destacan: ácidos ganodélicos A, B, G y H [40].

Un estudio efectuado para evaluar las propiedades del GL proveniente del Sur de la India, ha demostrado que los extractos de micelio de GL eran más eficaces en disminuir la respuesta inflamatoria en comparación con el Diclofenac, un principio activo comúnmente utilizado como antiinflamatorio. Estos resultados se obtuvieron a través de los test de la Carragenina y de la Formalina, que representan 2 modelos útiles para evaluar respectivamente tanto el dolor agudo, como el dolor crónico [98]. Volviendo al estudio de Han [43], a través del test de la formalina y del test del plato caliente, una prueba donde se induce el dolor a

través del calor (Hot-Plate test), se demostró que los mecanismos antinociceptivos del reishi se expresarían tanto a nivel del SNP como a nivel del SNC.

3.2 Reishi y sueño

Existen 2 tipos de sueño bien diferenciados: el sueño de movimientos oculares rápidos, conocido como sueño REM (Rapid Eye Movement) o sueño paradójico y el sueño de ondas lentas, también conocido como sueño No-REM (Non Rapid Eye Movement), por contraposición al sueño REM [99, 100]. El sueño de ondas lentas o No-REM lo componen cuatro estadios que se hallan relacionados con los distintos grados de profundidad del sueño. Aparecen así, sucesivamente, estadios 1 y 2 o de sueño superficial o ligero y estadios 3 y 4, que corresponden al sueño de ondas lentas o profundo [5, 6]. Durante el sueño profundo disminuye la frecuencia cardiaca, la tensión arterial y el flujo sanguíneo cerebral, aumentando el flujo sanguíneo muscular y la secreción de la hormona del crecimiento [101]. En un adulto normal, la duración del sueño REM ocupa entre el 20 y el 25% del total del sueño [102], mientras que la fase no-REM se compone del 75-80% del total de sueño, repartiéndose de la siguiente forma: 5% para el estadio 1, 50% para el estadio 2 y 20% para los estadios 3 y 4. Cuando nos dormimos, iniciamos el sueño en fase 1, que dura unos pocos minutos, seguido de fase 2 y, posteriormente, pasamos a sueño profundo o lento, estadios 3 y 4. Este período de sueño No-REM es seguido de un período REM, que en condiciones normales no debe aparecer hasta transcurridos 60-90 minutos del comienzo del estadio 1. Esta alternancia sueño No-REM - REM se sucede a lo largo de la noche formando ciclos; cada uno de ellos dura 90-120 minutos y se repiten de 4 a 6 veces a lo largo de una noche [103].

La arquitectura del sueño puede verse modificada por diferentes factores: la privación de sueño, la hora de inicio del sueño, la temperatura ambiental, la contaminación lumínica, el consumo de tóxicos (café, alcohol, nicotina, marihuana), la utilización de fármacos (benzodiacepinas, hipnóticos, antidepresivos) y por la existencia de algunos trastornos del sueño y trastornos médicos. Además, la proporción de cada estadio de sueño con relación al total del sueño sufre variaciones importantes a lo largo de la vida. En las personas mayores, el sueño es más fragmentado y se verifica un aumento del estadio 1 a expensas del estadio 4 de sueño profundo. Además, se pierde la capacidad de recuperación del sueño, es decir, la aparición de los largos períodos de sueño ininterrumpido que presentan los sujetos más jóvenes después de períodos de privación de éste. Por otro lado, el sueño REM se modifica poco con la edad y su proporción permanece estable en los sujetos sanos hasta edades muy avanzadas. Lo que se modifica es su distribución a lo largo de la noche: el primer sueño REM de los ancianos es más duradero que en los jóvenes porque aparece más precozmente [9].

En este contexto un estudio ha demostrado que el GL aumenta significativamente el tiempo total de sueño y la fase de sueño no-REM en dosis de 80 mg/kg, sin influenciar la fase de sueño REM. Aunque los mecanismo de acción del GL sobre el sueño no hayan sido aclarados, parece que sus efectos estarían relacionados con el aumento de las citoquinas, unos mediadores inmunológicos proteicos involucrado en la modulación del sueño [45]. Otro estudio [104] ha demostrado que el GL disminuye la fase de latencia del sueño y aumenta la duración de la fase de sueño ligero no-REM, sin influenciar la fase de sueño REM. Estos efectos se deberían a su capacidad de estimular los receptores de las

benzodiacepinas, que a su vez están involucrados en la modulación de los neurotransmisores GABAérgicos que regulan (inhiben) mecanismos de control específicos de los impulsos excitatorios que llegan al SNC.

3.3 Reishi e incapacidad de pacientes con FM

La mejora de la incapacidad ocasionada por la FM por parte del reishi como ya hemos adelantado, podría derivar de las múltiples actividades biológicas del reishi que ayudarían a aliviar algunos de los síntomas típicos de la FM. Además de disminuir el grado de dolor y favorecer la calidad del sueño, en la bibliografía científica están bien documentadas toda una serie de propiedades que por sí mismas o en combinación entre ellas podrían disminuir el nivel de incapacidad de la FM. A continuación se enumeran algunas de ellas:

1. Las propiedades antioxidantes derivadas de las componentes polifenólicas [70] y peptídicas [73] del reishi podrían ayudar a defender las células de eventuales alteraciones del nivel de estrés oxidativo, tanto en condiciones normales, como después de un esfuerzo físico prolongado.
2. La mejora del aporte de glucosa a los músculos podría permitir a las células musculares responder mejor a los esfuerzos. Un estudio [105] ha demostrado que el GL puede aumentar hasta 7 veces la actividad de las fosfoinositol 3-quinasas (PI3K en sus siglas en inglés), una familia de enzimas que regulan la absorción celular de la glucosa a través de una serie de eventos de fosforilación. El mismo estudio ha demostrado también que el GL aumenta la actividad del AMPK (proteína quinasa activada por adenosín monofosfato), otro complejo enzimático involucrado en la absorción celular de la glucosa. Estas mejoras se podrían deber también a la capacidad del reishi para aumentar la producción de insulina, una hormona secretada por las células

beta de los islotes de Langerhans del páncreas, que interviene en el aprovechamiento metabólico de los nutrientes, sobre todo con el anabolismo de los glúcidos. El incremento en la formación de insulina se debería a que los polisacáridos del reishi facilitan la entrada de Ca^{2+} en las células del páncreas [106].

3. Fortalece el sistema inmunológico. Hasta la fecha han sido aisladas del GL diferentes sustancias con propiedades inmunomoduladora. Estas incluyen polisacáridos (en particular b-D-glucanos), proteínas (en particular LZ-8) y triterpenoides [63]. Estos compuestos serían capaces de modular los mecanismos de regulación involucrados en la activación, diferenciación y proliferación de linfocitos T y B. Por ejemplo, ha sido demostrado que tanto la proteína LZ-8 como la fracción polisacáridica del GL aumentan la transcripción de las citocinas, [interleucina (IL)-2, IL-3, IL-4, interferón (IFN)- γ y factor de necrosis tumoral (TNF- α en sus siglas en inglés] y de las quimiocinas, moléculas proteicas que estimulan la actividad linfocitaria [62, 63, 107].
4. Todos estos mecanismos de acción podrían a su vez mejorar la condición física de las personas con FM.

4. Otras propiedades del reishi

A continuación se resumen algunos de los otros efectos biológicos que han sido descritos en las investigaciones sobre el reishi realizados hasta la fecha.

4.1 Efectos protectores

Estudios demuestran que el reishi posee capacidad protectora hacia diferentes órganos y tejidos. En particular hay referencias que demuestran su

eficacia para proteger el hígado [108], el páncreas [109], los riñones [110-117] y la retina [118].

4.2 Reishi y enfermedades

Hay numerosas investigaciones científicas que demuestran que el uso del reishi, asociado con medicamentos o consumido sólo, pueda ayudar a prevenir y aliviar los síntomas de diferentes enfermedades, como enfermedades neurodegenerativas [119-127] y úlceras de estómago [128, 129].

4.3 Reishi y cáncer

Estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que el consumo de reishi puede ayudar a prevenir y/o combatir la aparición y las síntomas de cierto tipos de cáncer, como el de próstata [130], de colon [131], de mama [132], de pulmón [133], leucemias y linfomas [134].

5. Las moléculas bioactivas

Las propiedades del GL se deben a más de 400 moléculas biológicamente activas contenida en el hongo que principalmente incluyen (tabla 1): polisacáridos (β -D-glucanos), triterpenos (ácidos ganodericos A-Z), proteínas inmunomoduladoras (Ling Zhi-8), nucleótidos, esteroles, esteroides, ácidos grasos, y otros elementos menores [38, 47, 135-137].

Los mecanismos de acción involucrados son muy diversos [54, 138-159] y comprenden:

- Activación de células involucradas en el sistema de defensa inmunitaria como: células T, macrófagos y otras células killer que a su vez provocan la producción de citoquininas, factores de necrosis tumoral (TNF) e interferón
- Inducción de apoptosis de las células cancerígenas (citotóxicos)

- Actividad antiangiogénica
- Inhibición de sustancias tóxicas o alergénicas
- Protección celular de la instauración de agentes virales como el virus del herpes
- Protección del ADN de agentes mutágenos
- Defensa contra los radicales libres
- Actividad anti-bacteriana y anti-fúngica
- Regulación hormonal
- Excreción de compuesto nocivo (efecto detoxificante).

Tabla 1. Efectos terapéuticos y moléculas bioactivas del *G. lucidum* [135]⁹

Therapeutic Effects	Bioactive Compound	References
Immunomodulation: Mitogenic activity, Stimulation of immune effector cells and complement system	Protein LZ-8, β -D-glucan, Ganoderic acid	Kim <i>et al.</i> , [30]; Zhang <i>et al.</i> , [36]; Wang <i>et al.</i> , [38]; Won <i>et al.</i> , [41]; Lee <i>et al.</i> , [40]; Han <i>et al.</i> , [42]; Li <i>et al.</i> , [43]; Oh <i>et al.</i> , [44]; Tasaka <i>et al.</i> , [48]; Yang and Pai, [52]; Kino <i>et al.</i> , [50]
Anti-Cancer, Anti-Tumour, Chemo and Radio Prevention	β -D-glucans, heteropolysaccharides, glycoproteins, lanostanoid, 3 β -hydroxyl-26-oxo-5 α -lanosta-8,24-dien-11-one, and steroid, ergosta-7,22-diene-3 β ,3 α ,9 α -triol	Miyazaki and Nishijima, [53]; Usui <i>et al.</i> , [54]; Usui <i>et al.</i> , [55]; Sone <i>et al.</i> , [56]; Kishida <i>et al.</i> , [57]; Zhang <i>et al.</i> , [58]; Cheong <i>et al.</i> , [59]; Wasser and Weis, [19]
Anti-HIV-1 And Anti-HIV-1-Protease	Triterpenoids: Lucidinic acid O; Lucidinic lactone; Ganoderiol; Ganodermanontriol and Ganoderic acid	Sahar, [27]; Hobbs, [7]; McKenna, [8]; Gao, [10]; Min, [29]
Anti-Diabetic	Glycans: Ganoderans B and D	Mohammad, <i>et al.</i> , [80]; Wasser, [4]; Hobbs, [7]; McKenna, [8]; Gao, [9]
Hepatoprotective	Ganoderic acids R and S and ganosporeic acid A	Hirotani, [81]; Chen, [82]; Wang, [83]; Gao, [11]
Anti-Inflammatory	Ganoderic Acid C, 3-oxo-5 α -lanosta-8,24-dien-21-oic acid	Joseph <i>et al.</i> , [84]; Horng-Huey Ko <i>et al.</i> , [85]; Lin <i>et al.</i> , [86]
Anti-Allergic	ganoderic acids C and D	Zhou, [20]; Liu, [18]; Smith, [16]
Anti-Androgenic	ganoderol B	Liu <i>et al.</i> , [92]; Fujita <i>et al.</i> , [93]; Shimizu <i>et al.</i> , [94]
Anti-Angiogenic activity	Ethanol extract (Compound not reported)	Song, <i>et al.</i> , [95]
Anti-Herpetic	Acidic protein bound polysaccharides	Kim <i>et al.</i> , [96]; Eo <i>et al.</i> , [97]; Liu <i>et al.</i> , [98]; Oh <i>et al.</i> , [99]
Anti-Oxidant	Chloroform extract (Compound not reported)	Karaman <i>et al.</i> , [100]; Joseph <i>et al.</i> , [84]
Anti-Microbial: Anti-Viral, Anti-Bacterial, Anti-Fungal	Neutral protein bound polysaccharide, Acidic protein bound polysaccharide, ganodermin	Wasser, [4]; Stamets, [101]; Hobbs, [7]; McKenna, [8]; Gao, [10]; Smith, [16]; Suay, [102]; Yoon, [103]; Suguri and Ito, [104]; Kim <i>et al.</i> , [105]; Eo <i>et al.</i> , 2000 [107]; Eo <i>et al.</i> , [106]; Wang and Ng, [108]
Estrogenic	Ethanol extract (Compound not reported)	Shimizu <i>et al.</i> , [94]
Anti-Mutagenic	Methanol extract (Compound not reported)	Lakshmi <i>et al.</i> , [109]
Anti-Ulcerogenic	Polysaccharides	Gao <i>et al.</i> , [12]
Anti-Proliferative activity	Ganoderic acid T	Hong, [110]; Jiang, [111]; Hu, [112]; Muller <i>et al.</i> , [113]; Tang <i>et al.</i> , [114]
Cardiovascular and Circulatory Functions	Powdered mycelium and water extract of mycelium (Compound not reported)	Kabir, [115]; Soo, [116]; Lee, [117]; Jin <i>et al.</i> , [118]

⁹Permiso otorgado por Bentham Science Publishers el 28 de septiembre de 2015.

6. Posología y contraindicaciones

A pesar de sus numerosas propiedades medicinales, el reishi no se considera un fármaco y actualmente se vende principalmente como alimento o integrador alimenticio. Además, el contenido de sustancias bioactivas casi nunca se indica en la etiqueta y pueden variar mucho entre las diferentes fórmulas comerciales. Por ejemplo, las diferencias en el contenido de polifenoles entre los extractos de *Ganoderma* provenientes del micelio y los obtenidos por los carpóforos varían de no detectable en el primer caso hasta 7,82% en el segundo, mientras que los de polisacáridos pueden respectivamente variar del 1,1 al 29,7% [160]. Por este motivo, hasta la fecha, no ha sido posible formular una dosis estándar de suministración. En general la seta puede ser suministrada como extracto o entera, en diferentes fórmulas comerciales que utilizan tanto el micelio fúngico como sus carpóforos y esporas o solo partes de estos, en diferentes soluciones: concentrado de esporas, polvo seco, sopa, jarabe, té, café, tabletas, cápsulas, etc. Chang (1994) sostuvo que la dosis mínima efectiva tenía que ser superior o igual a 300 mg/día y que la eficacia se conseguía a partir de 5 g/día [161]. Los estudios en humanos han utilizado una dosis muy variable, entre 0,6 mg/día y 72 g/día de reishi por un periodo variable de 4 hasta 12 semanas. La farmacopea de la República Popular de China cita una dosis de 6-12 g de polvo al día [39].

Los estudios de toxicidad hechos con ratas, perros, y conejos no han mostrado ningún signo de alteración a los órganos principales. Li et al. [149], en un estudio de toxicidad aguda con cápsulas de esporas pulverizadas de GL, encontraron que la dosis letal 50 (LD50) era mayor de 10 g/kg. Estudios de

toxicidad a largo plazo con ratas han mostrado que dosis de hasta 1,87 g/kg/día durante 26 semanas no han dado origen a ningún efecto indeseado.

Por cuanto concierne a los efectos alergénicos, a pesar de que las esporas de algunos basidiomicetos pueden tener efectos alérgicos, hasta la fecha no ha sido demostrado ningún efecto adverso debido al consumo de reishi que, al revés, se ha visto eficaz para aumentar la respuesta inmunitaria y para combatir algunas alergias como la rinitis. En dosis oral de 1,5-9 g/día de extracto se han registrado en ciertos pacientes síntomas como somnolencia, sed, enrojecimiento de la piel, disentería, micción frecuente; estos efectos se debieron probablemente a los efectos desintoxicantes del reishi. Visto que el reishi refuerza el sistema inmunitario, se sugiere prestar atención a los pacientes sujetos a terapias inmunosupresoras. Además, hay que prestar atención en los pacientes a los cuales se le están suministrando o toman cotidianamente fármacos anticoagulantes, como la aspirina o el Warfarin, debido a que el reishi posee las mismas propiedades. Algunas investigaciones han demostrado también que el reishi posee actividad sinérgicas en asociación con algunos tratamientos antibióticos, como el Cefazolin utilizado contra *Klebsiella oxytoca* ATCC 8724, *Bacillus subtilis* ATCC 6603, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25933 y *Salmonella typhi* ATC [162].

OBJETIVOS

Objetivo principal

El objetivo principal del estudio ha sido evaluar la seguridad y los efectos de 6 gramos de polvo micromolido de GL suministrado por vía oral en 2 dosis de 3 gramos, una durante el desayuno y otra durante la cena, sobre el dolor, la calidad del sueño y la incapacidad de pacientes con FM. El grado de dolor se evaluó a través de la Escala Visual Analógica del dolor (VAS) y por medio del cuestionarios 15D de Calidad de Vida Relacionada con la Salud (CVRS), a través del cual se midió también la calidad del sueño. Finalmente, la incapacidad de la FM se evaluó con los cuestionarios de impacto de la FM y con su versión revisada (cuestionarios FIQ Y FIQ-R).

Objetivos secundarios

Los objetivos secundarios del estudio han sido comparar los efectos de 6 gramos de polvo micromolido de GL suministrados por vía oral en 2 dosis de 3 gramos, una durante el desayuno y otra durante la cena, con 6 gramos de harina de algarrobo (*Ceratonia siliqua*) suministrados de la misma manera, sobre:

- ✓ La felicidad a través del Cuestionario de Felicidad General (cuestionario GHS) y la Escala de Satisfacción con la Vida (SLS).
- ✓ La depresión evaluada con la Escala de Depresión Geriatrica (GDS).
- ✓ La CVRS a través de cuestionarios *SF-12_{v2}*.
- ✓ La percepción de mejora con la Escala de Impresión Clínica Global (GIIS).

- ✓ La condición física por medio de las baterías de los estudios Exercise Look After You (ELAY) y de la Red Española de Investigación en Ejercicio Físico y Salud en Poblaciones Especiales (EXERNET).
- ✓ Los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos en sangre mediante tiras reactivas extrayendo la sangre de los capilares de las yemas de los dedos de la mano.
- ✓ La composición corporal por medio de un aparato de bioimpedancia eléctrica.
- ✓ La tensión arterial con un aparato de autoevaluación.

HIPÓTESIS

En base a la bibliografía consultada y citada anteriormente, las hipótesis del presente estudio son:

Hipótesis principal

Seis gramos de polvo micromolido de GL diarios administrados por vía oral son seguros y capaces de disminuir el nivel de dolor en personas con FM, mejorando además la calidad del sueño y disminuyendo el nivel de incapacidad de la FM.

Hipótesis secundarias

Hipótesis 1

Seis gramos de polvo micromolido de GL diarios administrados por vía oral, en comparación con la ingesta de 6 gramos de harina de algarrobo, mejoran la CVRS, el grado de felicidad y de satisfacción con la vida y, disminuyen la depresión, produciendo en general una mejora global del estado de salud de las personas con FM.

Hipótesis 2

Seis gramos de polvo micromolido de GL diarios administrados por vía oral, en comparación con la ingesta de 6 gramos de harina de algarrobo, mejoran la condición física de las personas con FM.

Hipótesis 3

Seis gramos de polvo micromolido de GL diarios administrados por vía oral, en comparación con la ingesta de 6 gramos de harina de algarrobo, mejoran la composición corporal, reduciendo los triglicéridos de la sangre y la presión

arterial de las personas con FM. Además, tras la aplicación de los 2 tratamientos no habrá diferencias entre grupos en los niveles de glucosa y colesterol, ya que se espera una disminución en ambos grupos de los niveles de glucosa y colesterol con respecto a su línea base.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Diseño del estudio

Estudio controlado aleatorizado a doble ciego con grupo control y grupo placebo activo.

2. Participantes

2.1 *Criterios de inclusión*

Según el cálculo muestral realizado se reclutaron 70 personas. Los criterios de inclusión fueron los siguientes:

1. Haber sido diagnosticado por parte de un médico con el síndrome de FM y cumplir con los criterios diagnósticos del American College of Rheumatology del 1990. En base a estos se excluyeron los pacientes que no presentaban sensibilidad al dolor en un mínimo de 11 de los 18 puntos gatillos. Este parámetro fue evaluado con un algómetro Force Ten FDX (Wagner Instrument) ejerciendo una presión de 4 kg/cm^2 .
2. Tener más de 18 años.
3. Comprender perfectamente las instrucciones de los instrumentos de evaluación.
4. No estar embarazada o sospecha de embarazo.
5. No estar participando en otro estudio que pudiera influir en los resultados.
6. No variar las rutinas diarias durante la duración del estudio.
7. Tener capacidad de llevar el control de la toma de reishi de forma autónoma.
8. No sufrir diabetes (tanto tipo 1, tipo 2 o gestacional).
9. No tomar inmunosupresores.
10. No tomar una suplementación de vitamina C.

11. No tomar tratamiento anticoagulante.
12. Haber leído y firmado el consentimiento informado.

2.2 Cálculo de la muestra

Asumiendo una alternativa unilateral, para detectar diferencias de al menos un 14% con una potencia del 85% y un α del 0,05, con una media en la puntuación total del FIQ de 70,5 y una desviación estándar de 11,8 puntos, se estimó que se necesitaban 2 grupos de 26 participantes [163]. Asumiendo una muerte experimental final máxima del 25% de la muestra se han reclutado 32 participantes por cada grupo.

2.3 Lugar de obtención de la muestra y medición de datos

El estudio se llevó a cabo en Palencia, Salamanca y Chipiona. La muestra se reclutó a través de las Asociaciones de FM de estas ciudades. Las mediciones se realizaron en locales acondicionados para tal fin.

2.4 Características de la muestra y tipología de intervención

Se reclutaron un total de 70 pacientes, 67 mujeres y 3 hombres. De estos, 1 no aceptó participar después de leer el consentimiento informado, 1 no había sido diagnosticado con FM, 1 persona no mostraba sensibilidad en al menos 11 de los 18 puntos gatillos y 3 participantes fueron excluidos porque sufrían diabetes. Al final, un total de 64 mujeres participaron en el estudio, proporcionando su consentimiento informado de acuerdo con la declaración de Helsinki. La muestra se dividió en 2 grupos iguales de 32 mujeres cuya aleatorización se realizó mediante una tabla de números aleatorios.

Se llevó a cabo un estudio doble ciego, en el que ni los sujetos de estudio ni los evaluadores conocían el tratamiento que se le suministró a cada paciente.

Con el fin de garantizar el doble ciego, uno de los investigadores asignó el grupo (experimental o control) a los participantes. Esta persona no participó ni en las mediciones y tampoco en la codificación de los datos.

El grupo experimental recibió un tratamiento de 6 gramos de reishi en polvo micromolido, administrado por vía oral. Se realizaron 2 tomas diarias de 3 gramos cada una (una toma durante el desayuno y otra durante la cena) durante 6 semanas. Al grupo placebo se le administró la misma dosis, pero de harina de algarrobo (*Ceratonia siliqua*), una leguminosa con características similares al reishi en cuanto a color y textura.

La empresa Mundo reishi proporcionó gratuitamente el reishi envasado en frascos de 3 gramos de tereftalato de polietileno (PET), que fue analizado por el grupo de trabajo de la Cátedra de Micología de la Universidad de Valladolid, Campus de Palencia. Se realizaron los siguientes análisis del producto:

- *Análisis nutricional*: polisacáridos, glúcidos, grasas y aceites, proteínas, valores calóricos.
- *Análisis organolépticos*: análisis visual, olfativo y gustativo.
- *Análisis físico*: densidad y tamaño de las partículas del polvo.
- *Análisis microscópico*: tamaño de molienda, grosor de hifas y tipo de sistema de hifas, presencias de estructuras fúngicas (fibulas, basidios y cistidios).
- *Análisis genético*: mediante amplificación del ADN del GL por PCR y comparación de las secuencias génicas con las bases de datos públicas¹⁰.

En las tablas de 2 a 7 se muestran las características del producto según los datos obtenidos.

¹⁰ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

El estudio se realizó en los meses de septiembre, octubre, noviembre, diciembre de 2014 y enero de 2015.

2.5 El placebo activo

Según nuestros conocimientos, la *Ceratonia siliqua* (CS) no tiene ningún efecto sobre el dolor, pero sí que podría tener efectos sobre las variables secundarias evaluadas en este estudio. En particular algunos estudios han descrito sus posibles efectos sobre los niveles de colesterol y glucosa en la sangre [164, 165]. Se ha sugerido también que podría mejorar la función intestinal [166]. También han sido descritos posibles efectos antioxidantes [167] y antidepresivos [168]. Por este motivo la CS representa un placebo activo para la evaluación del dolor que es la variable primaria de este estudio. Los motivos por los cuales se ha escogido la harina de algarrobo como placebo dependieron de las siguientes variables:

- Económicas: no fue posible encontrar ninguna empresa capaz de encapsular el reishi micromolido a un precio que entrase en el presupuesto del estudio.
- Funcional: el número mínimo de cápsulas requeridas para encapsular 6 gramos de reishi era muy alto. De hecho, aun utilizando cápsulas muy grandes, como las del tipo 00 (con volumen de 0,91 ml), y considerando que el reishi tiene una densidad de $0,32 \text{ g/cm}^3$, se habrían necesitado al menos 3 cápsulas por gramo de reishi, lo que hace un total de 18 cápsulas diarias, y esto sin contar el volumen añadido ocupado por el anti-aglomerante necesario para el encapsulado. Además, este tamaño habría sido de difícil ingestión por parte de los participantes. Por estos motivos se escogió suministrar el producto como polvo tal cual, que permitiese además evitar la ingesta de eventuales productos indeseados que pueden derivar de las cápsulas.

- Temporal: no fue posible encontrar ninguna empresa capaz de efectuar la preparación de las dosis dentro de la fecha en la que se había previsto el inicio de la toma, que tenía que empezar antes que entrase el pleno invierno para evitar que las condiciones climáticas influyeran sobre los resultados; siendo el invierno la estación donde se presentan los mayores síntomas del dolor. Además, para mantener y asegurar la frescura del producto, la elaboración de las tomas y la organización del estudio tuvieron que hacerse al mismo tiempo.
- Organoléptica: según nuestro conocimiento la harina de algarrobo era el producto comercial que más se parecía al reishi.

Por estos motivos se escogió la harina de algarrobo como placebo activo en este estudio. En las tablas 8 y 9 se muestran las características generales del algarrobo.

Tabla 2. Clasificación taxonómica del *G. lucidum*.

Reino	<i>Fungi</i>
División	<i>Basidiomycota</i>
Subdivisión	<i>Agaricomycotina</i>
Clase	<i>Agaricomycetes</i>
Subclase	<i>Incertae sedis</i>
Orden	<i>Polyporales</i>
Familia	<i>Ganodermataceae</i>
Género	<i>Ganoderma</i>
Especie	<i>Ganoderma lucidum (Curtis) P. Karst.</i>
Nombre común	Reishi, Língzhí, Mannentake, Yeongji, Kamuhro, Michoacano, Pilz, Pipa

Tabla 3. Valor nutricional (por 100g) del *G. lucidum* utilizado en el estudio.

Valor energético	214 kcal/876 kJ
Hidratos de carbono	8,5 g
- de los cuales azúcares	<1 g
Proteínas	9,18 g
Grasas totales	1,24 g
- de las cuales Saturadas	0,23 g
- de las cuales Monoinsaturadas	0,465 g
- de las cuales Poliinsaturadas	0,543 g
- de las cuales Ácidos grasos trans	<0,100 g
Humedad	13,90 g
Cenizas	1,04 g
Fibra Dietética	66,13 g
Sal	0,01 g

Tabla 4. Características organolépticas del *G. lucidum* utilizado en el estudio.

Análisis visual	Polvo fino de color marrón intenso, muestra uniforme, sin presencia de elementos de granulometría superior.
Análisis olfativo	<ul style="list-style-type: none">- Olores: Ligeros toques de olor a madera, con connotaciones terroso-fúngicas, y ligeros recuerdos a frutos secos tostados.- Aromas: Aromas de madera de frondosa, con matices de sotobosque y humus.
Análisis gustativo	En boca muestra un ligero acidez con un amargor medio-alto al final, con recuerdo fúngico y fondo de bosque.

Tabla 5. Características físicas del *G. lucidum* utilizado en el estudio.

Tamaño de las partículas de polvo	menor de 40µm
Densidad del polvo	0,32 g/cm ³

Tabla 6. Características microbiológicas del *G. lucidum* utilizado en el estudio^a.

Sistema de hifas	Anfimitico
Fíbulas	Presentes
Esporas	Doble pared esporal
Tamaño de las partículas micromolidas	< 35 µm
Recuento de aerobios mesófilos (ufc/g)	90 (< 10 ⁶)
Recuento de <i>Escherichia coli</i> (ufc/g)	< 10 (< 10 ²)
Recuento de mohos y levaduras (ufc/g)	< 10 (< 10 ⁴)
Recuento de bacterias coliformes (ufc/g)	< 10 (< 10 ⁴)
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente
Cadmio (mg/kg)	< 0,05 (< 0,10)
Plomo(mg/kg)	< 0,05 (< 0,10)

^aEn paréntesis: límites impuesto por los Reg. 2073/2005/CE y 1881/2006/CE.

Tabla 7. Características genéticas del *G. lucidum* utilizado en el estudio.

Secuencia	GAGGAAGTAAAGTCGTAACAAGGTTCCGTAGGTGAACTGCGAAGGATCATTATCGAGTTCTGACTGGGTTGTAGCTGGCCTCCGAGGCACGTGCACGCCCTGCTCATCCACTCTACACCTGTACTTACTGTGGGTTTCAGATCTGTGAAGCGTGCCCCTGCGGGCTTCGTGAAGCGCGTCTGYGCCTGCGTTTATCACAAACTCTATAAAAGTATTAGAATGTGTATTGCGATGTAACGCATCTATAAAACTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGAATYGCAGAATTCACTAGYGAATCATCGAATCTTGAA CGCACCTTGCCTCCTTGGTATCGAGGAGCATGCCTGTTT GAGTGTCAATGAAATCTTCAACCTACAAGCCTTGCCTGTTT GTAGGCTTGGACTTGGAGGCTTGTGGCCSTTYGTGGCTGGCTCCTCTAAATGCATTAGCTTGATCCTGCGGATCGCTCTCGGTGATAATGTCTACGCCCGGACCGTGAAGCGTTGGCGAGCTCTAACCCTTCGCTTGAAGACAGCTTATGACCTCTGACCTCAAATC
Resultado del análisis BLAST ¹¹	99% de similitud con <i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst (611 de 617 bases idénticas, por ejemplo con AM269773).

¹¹ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Tabla 8. Clasificación taxonómica de la *Ceratonia siliqua*.

Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Rosidae</i>
Orden	<i>Fabales</i>
Familia	<i>Fabaceae</i>
Subfamilia	<i>Caesalpinioideae</i>
Tribu	<i>Cassieae</i>
Subtribu	<i>Ceratoniinae</i>
Género	<i>Ceratonia</i>
Especie	<i>Ceratonia siliqua</i>
Nombre común	<i>Algarrobo, Algarroba.</i>

Tabla 9. Valor nutricional (por 100g) de la *Ceratonia siliqua*.

Valor energético	290 kcal/1214 kJ
Hidratos de carbono	71,4 g
Proteínas	5,9 g
Grasas totales	1,2 g
Humedad	10,70g
Cenizas	2,7 g
Fibra Dietética	8,2 g

3. Medidas principales y secundarias

La presente tesis es una parte del estudio registrado en el Australian New Zealand Clinical Trials Registry (ANZCTR) con ID: ACTRN12614001201662.

Las variables analizadas en el estudio se muestran en la tabla 4. Se realizó una medición inicial, previa al tratamiento con reishi, y una medición final tras 6 semanas de tratamiento. Para la variable del dolor se hizo también un seguimiento donde se tomaron los datos a través de la escala de autoevaluación durante 3 semanas después de haber finalizado el tratamiento.

3.1 Medidas principales

3.1.1 Variables sociodemográficas y otras

Con el objetivo de caracterizar la muestra se recogieron los siguientes datos: fecha de nacimiento, sexo, estado civil, peso, altura, año de inicio y diagnóstico de la FM.

3.1.2 Dolor, sueño e incapacidad de la fibromialgia

El dolor se evaluó a través de un cuadernillo de autoevaluación donde el participante tuvo que apuntar en una Escala Visual Analógica el dolor que sentía en ese día [169, 170], una vez por la mañana, nada más levantarse antes del tratamiento, y otra por la noche justo después del tratamiento. Así mismo, tanto el dolor como la incapacidad se midieron por medio del Cuestionario de Impacto de la Fibromialgia (CIF) y del Cuestionario de impacto de la Fibromialgia revisado (CIFR). El CIF consiste en 20 preguntas, perteneciendo las 10 primeras a una única dimensión. La puntuación total del cuestionario está comprendida entre el 0 y el 100 siendo el 0 ninguna incapacidad a causa de la FM y el 100 la máxima incapacidad a causa de la FM [163]. El CIFR contiene 21 ítems que hacen

mención a síntomas o problemas que ha tenido en los últimos 7 días con una escala de respuesta que va de 0 a 10 en cada pregunta, donde el 0 es la ausencia del problema y el 10 la mayor intensidad del problema. El cuestionario se compone de 3 dominios: el primero que contiene los 9 primeros ítems es el de “Función”, el segundo que contiene 2 ítems es “Impacto global” y el tercero que tiene 10 ítems es “Gravedad de los síntomas”. La principal diferencia con el CIF radica en que el tercer dominio incluye 4 preguntas nuevas relacionadas con la memoria, la sensibilidad, el equilibrio y la sensibilidad a ruidos fuertes, luces brillantes, olores y temperaturas frías [171, 172]. Finalmente, tanto el dolor como el sueño, se evaluaron utilizando el cuestionario 15D de CVRS. Esta herramienta consta de 15 dimensiones con 5 grados de respuesta en cada dimensión. Como resultado obtiene una medida final que va de 0 a 1, donde el 0 es la peor calidad de vida posible y el 1 la mejor [173, 174].

3.2 Medidas secundarias

3.2.1 Felicidad

Para evaluar la felicidad se utilizó, antes y después del tratamiento, el Cuestionario de Felicidad General (GHS en sus siglas en inglés) [175] y la Escala de Satisfacción con la Vida (SLS en sus siglas en inglés) [176].

3.2.2 Depresión

La depresión se evaluó con la Geriatric Depression Scale (GDS) ya que presenta una ventaja importante respecto al más utilizado en FM, el Beck's Depression Inventory (BDI), al estar menos enfocada en los síntomas somáticos de la enfermedad [177, 178]. Esta escala consiste en 15 preguntas sobre cómo se

ha sentido el sujeto en los últimos 14 días, cuyas respuestas se limitan a “sí” o “no”.

3.2.3 Calidad de Vida Relacionada con la Salud

La CVRS se evaluó a través del cuestionario *SF-12_{v2}*: es la versión abreviada del cuestionario SF-36 y contiene 12 preguntas. Está compuesto por 8 dimensiones (función física, rol físico, dolor corporal, salud general, vitalidad, función social, rol emocional, salud mental) y por 2 componentes resumen, el componente físico y el mental. Cada una de estas dimensiones, así como los componentes puntúan de 0 a 100, donde el 0 es el peor estado de salud y el 100 el mejor. Este cuestionario permite obtener un índice de utilidades a través del SF-6D contenido en el mismo, el índice del SF-6D está comprendido entre 0 y 1, donde el 0 es el peor estado de salud posible y el 1 el mejor [179].

3.2.4 Percepción de mejora

La percepción de mejora se midió a través de la Escala de Impresión Clínica Global (GIIS) [180], que utiliza un único ítem en una escala de Likert de 8 valores desde 0 (no evaluado) hasta 7 (mucho peor).

3.2.5 Condición física

Se realizaron las pruebas de las baterías de condición física de los estudios Exercise Look After You (ELAY) [181] y de la Red Española de Investigación en Ejercicio Físico y Salud en Poblaciones Especiales (EXERNET) [182], y otros test.

Los test de la batería ELAY fueron los siguientes:

- *Fuerza de prensión manual*: se utilizó el test de fuerza de prensión manual de Rodriguez et al. [183, 184]. Este test consiste en evaluar la fuerza de las 2 manos

a través del dinamómetro manual digital (TKK 5401 Model; Tokyo, Japan). La evaluación consiste en realizar 2 intentos con cada mano de forma alternativa y posteriormente se realiza la suma de los mejores resultados de cada mano como índice de fuerza de prensión manual.

- *Flexibilidad:* se utilizaron el test “Chair Sit-and-Reach [185]” para el tren inferior y el test “Back Scratch [186]” para el tren superior. En el test “Chair Sit-and-Reach” se evalúa la distancia que es capaz de alcanzar una persona con su mano. Para ello se sienta la persona en una silla y manteniendo la pierna totalmente extendida intenta llegar lo más lejos posible con la punta de sus dedos orientados éstos hacia la punta de su pie. La punta del pie es considerado el 0 y con una regla se mide la diferencia entre la punta del pie y la punta de los dedos de la mano. Si la persona no es capaz de llegar a la punta del pie los valores serán negativos, si por el contrario supera la punta de los pies los resultados serán positivos. El test “Back Scratch” consiste en fijar un brazo detrás de la espalda por debajo del cuello con la palma de la mano mirando hacia fuera, una vez fijado este brazo se intenta llegar con el otro brazo lo más lejos posible por detrás de la espalda y la palma de la mano mirando hacia la espalda. El 0 se corresponde con la punta del dedo corazón de la mano fijada atrás por debajo del cuello. Si la persona no consigue llegar a tocarse con la punta de los dedos corazones el resultado será negativo y se corresponderá con la distancia entre estos dedos evaluada mediante una regla. Si los dedos de la persona se sobrepasan los números serán positivos y el resultado será la distancia entre estos dedos evaluada mediante una regla.

- *Timed Up-and-Go test (TUG)*: la prueba se efectúa pidiendo a los pacientes levantarse, caminar 3 metros y volver atrás a la posición de partida en el menor tiempo posible [187].
- *Test de 6 minutos caminando* [186]: se pide a los sujetos que caminen durante 6 minutos a buen ritmo en un pasillo de 20 metros, midiendo la distancia recorrida en ese tiempo.

Los test de la batería EXERNET fueron los siguientes:

- *Fuerza de extremidades superiores*: se utilizó el test “Arm Curl Test” [188]. Este test consiste en medir el número de flexo-extensiones que el participante es capaz de ejecutar en un máximo de 30 segundos, sentado en una silla y sosteniendo una mancuerna de 2,5 kg (mujeres) o 4 kg (hombres), una vez con cada brazo.
- *Test de fuerza para las extremidades inferiores*: se utilizó el “Stand-Up” [189] Test. Este test consiste en levantarse y sentarse en una silla el número máximo de veces en 30 segundos.
- *Velocidad*: se utilizó el test “Brisk Walking Test” [190]. Este test consiste en medir el tiempo que cada participante emplea en recorrer 20 m caminando. Se realizan 2 repeticiones con un minuto de descanso entre ambas. Se registra el resultado mejor.
- *Alcance funcional*: se utilizó el test “Functional Reach Test [191]”. El participante se coloca al lado de una pared con los brazos a 90 grados del tronco que tendrán que alcanzar la máxima distancia frontal y permaneciendo en esa posición por algunos segundos, sin alterar su base de sustentación. Se registra la distancia máxima alcanzada perpendicularmente a la pared.

Además se sometieron los pacientes a los siguientes test:

- *Equilibrio*: se midió por medio del aparato Bidex Balance System. Esta máquina es un dispositivo multiaxial que mide objetivamente la capacidad del individuo para estabilizarse. Se trata de una plataforma circular con capacidad para hacerse inestable y moverse libremente en los ejes anteroposterior y mediolateral [192]. Esta máquina proporciona *feedback* visual de la posición del centro de presiones en cada instante del tiempo. Las puntuaciones se obtienen mediante el índice de estabilidad general, el cual evalúa las desviaciones del centro de presiones respecto al centro de la plataforma, por lo que una mayor puntuación indica un peor equilibrio. Se realizó el protocolo M-CTSIB específico de este instrumento, que incluye equilibrio con y sin *feedback* visual y con superficie estable e inestable sobre foam.

- *Fuerza-resistencia de la musculatura del tronco*: se realizó un test de resistencia abdominal y de la musculatura del tronco sobre una esterilla. La fuerza resistencia de la musculatura flexora del tronco se mide pidiendo a los sujetos que se tumben en posición supina y que levanten sus extremidades inferiores con una flexión de 90° de cadera y rodilla. Para evaluar la resistencia de los músculos extensores, los sujetos se tumban en pronación. En ambos casos, se les pide a los sujetos que alejen los hombros del suelo mediante una flexión o una extensión del tronco. Los sujetos deben aguantar en esa posición el máximo tiempo posible, no excediendo los 5 minutos [193].

- *Familiarización*: antes de cada sesión se procedió a una fase de calentamiento donde se explicó al participante la modalidad de ejecución del test con prueba específica antes de su efectuación.

3.2.6 Composición corporal, tensión arterial y niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos en la sangre.

Se evaluaron los siguientes parámetros de composición corporal:

- *Peso total y masa grasa o masa libre de grasa*: estos valores se obtuvieron tanto para el cuerpo completo como para los distintos segmentos corporales, a través del aparato de bioimpedancia eléctrica “TANITA” (BioLógica Tecnología médica S.L.).
- *Niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos*: mediante las tiras reactivas Accutrend con el aparato Accutrend GCT extrayendo la sangre de los capilares de las yemas de los dedos de la mano.
- *Tensión arterial*: se midió con el aparato de autoevaluación “LogikoDigit” de la Real Fuzzy Technology.
- *Índice Cintura-Cadera*: este índice se emplea frecuentemente en la literatura científica como un indicador de salud y de riesgo cardiovascular, entre otros. Consiste en medir con una cinta métrica el perímetro de la cintura y dividir por el perímetro de la cadera [194].

3.3 Medidas de seguridad

Con el fin de detectar eventuales efectos indeseados se realizó un seguimiento telefónico semanal de los pacientes. Además se les proporcionó un cuadernillo donde apuntar la aparición de síntomas indeseados que pudieran estar relacionados con la toma suministrada.

Tabla 10. Herramientas y cronograma de las medidas de la presente tesis.

Tipo de evaluación	Screening	Línea base	Tratamiento	Post-tratamiento (a las 6 semanas)
Consentimiento informado	X			
<u>MEDIDAS PRIMARIAS</u>				
Cuestionario de variables sociodemográficas	X			
<i>Dolor, Incapacidad y sueño:</i>				
- Presión puntos gatillo	X		X	
- Escala Visual Analógica del dolor ^a		X		
- Cuestionario 15D	X		X	
- Cuestionarios CIF, CIFR	X		X	
<u>MEDIDAS SECUNDARIAS</u>				
Calidad de Vida Relacionada con la salud: cuestionarios SF-12v2	X		X	
Depresión: cuestionario GDS	X		X	
Felicidad: cuestionario felicidad general y escala satisfacción vida	X		X	
Condición física-Familiarización	X		X	
<i>Condición física-Batería ELAY:</i>				
- Test de presión manual	X		X	
- Flexibilidad: test “Chair Sit-and-Reach” y “Back Scratch”	X		X	
- Timed Up-and-Go test	X		X	
- Test de 6 minutos caminando	X		X	
<i>Condición física – Batería EXERNET</i>				
- Fuerza de extremidades superiores: Arm Curl Test	X		X	
-Fuerza de extremidades inferiores: Stand-Up test	X		X	
- Velocidad: Brisk Walking Test	X		X	
- Alcance funcional: Functional Reach Test	X		X	
- Equilibrio: protocolo M-CTSIB del sistema Bidex Balance	X		X	
- Fuerza-resistencia musculatura tronco: test de resistencia abdominal y sobre esterilla	X		X	
Composición corporal: bioimpedancia eléctrica, glucemia, colesterol y triglicéridos, tensión arterial y Índice Cintura-Cadera	X		X	
Impresión Clínica Global: Escala de Impresión Clínica Global			X	

^aRelativamente a esta medida se hizo también un seguimiento del dolor durante 3 semanas después de haber finalizado el tratamiento.

4. Método estadístico utilizado

Los 2 grupos se caracterizaron calculando sus medias y desviación estándar para variables descriptivas.

El test *t* de Student para muestras independientes se utilizó para calcular las diferencias entre las líneas base de los 2 grupos. Este test se utilizó también para comparar las diferencias en el grado de dolor obtenido a través de la Escala Analógica Visual entre los 2 grupos después del tratamiento.

El test de Kolmogorov-Smirnov se utilizó para calcular la distribución de los datos con la significatividad de Lilliefors.

La prueba *t* se utilizó para estimar las diferencias de ambos grupos con respecto a su línea base.

El análisis de la varianza (ANOVA en sus siglas en inglés) para medidas repetidas fue utilizado para calcular el efecto del tratamiento entre los 2 grupos.

La eficacia del tratamiento fue evaluada para las variables no continuas GDS (cut-off=5 puntos [178]) y SWLS (cut-off=20 puntos [176]). Fue también calculado el número necesario para el tratamiento (95% CI) con el programa QuickCalcs (GraphPad software). El GL se escogió como unidad de tratamiento.

Para todas las variables se efectuaron 2 análisis diferentes. Un análisis de eficacia (Efficacy analysis) que incluyó todas las medidas de los participantes que acabaron el estudio y que tomaron al menos el 80% de las dosis, y un análisis de intento de tratamiento (Intent-to-Treat analysis), con todos los participantes que fueron inicialmente aleatorizados ($n=64$), incluyendo los que no acabaron el tratamiento. Durante estos análisis se imputaron los valores perdidos utilizando el valor medio obtenido por el grupo de pertenencia para la variable específica.

El nivel de significatividad se estableció en $p<0,05$. Todos los análisis se llevaron a cabo con el programa estadístico SPSS (versión 21) y con Microsoft Office Excel 2007.

5. Aspectos éticos

El estudio ha sido aprobado por el comité de bioética y bioseguridad de la Universidad de Extremadura (número de registro 91/2014) con fecha del 27 de Octubre de 2014. El estudio se llevó a cabo siguiendo las normas deontológicas reconocidas por la Declaración de Helsinki (52^a Asamblea General Edimburgo, Escocia, Octubre 2000), las normas de buena práctica clínica y cumpliendo la legislación vigente y la normativa legal vigente española. Antes de comenzar, se explicó detalladamente a los participantes el estudio que se pretendía realizar y se pidió la conformidad previa por medio de la firma del consenso informado en el que se detallaban por escrito todas las fases del estudio que fue previamente registrado en el Australian New Zealand Clinical Trials Registry (ANZCTR) con ID numero: ACTRN12614001201662.

RESULTS

1. Safety and effects of *G. lucidum* on pain, sleep and impact on fibromyalgia.

A total of 70 people were assessed for eligibility. Five people did not meet with de inclusion criteria because they were not diagnosticated with fibromyalgia (FM) or in other case they suffer from diabetes. One person did not participate for personal reasons. At the final, 64 participant was randomly allocated in 1 of the 2 group. One participant decided not to start the treatment after allocation, while another was lost at the follow-up because it was impossible to find her. Of the 62 participant remaining, 10 decided to stop the treatment. A total of 52 participants took at least 80% of the treatment, which means 81% of the initial sample. Number of participants who decided to stop treatment was 5 for both groups (table 11). Total abandons percentage due to treatment was less than 16%.

Table 11: Symptoms of participants who did not complete the minimum 80% of the treatment.

Symptoms	Ingested doses	GLG					CSG					Total GLG	Total CSG
		30	30	50	52	58	3	4	26	32	67,5		
Agitation						x						0	1
Dehydratation and swelling							x					0	1
Diarrhea		x		x			x					2	1
Dyspepsia			x									1	0
Headache					x			x				0	1
Meteoris				x				x				1	1
Nausa and Vomiting		x	x	x			x	x	x	x		3	4
Itching and irritation							x					0	1
Stomach problems (pain, acidity, burning, cramp and not specified discomfort)		x	x	x	x	x	x	x	x	x		5	4
Hypertension							x					0	1

GLG: *Ganoderma lucidum* Group; CSG: *Ceratonia siliqua* Group.

Two participants completed the treatment, but were excluded because they began to receive other non usual care therapies during the treatment. A total of 50 patients were evaluated in the efficacy analysis (figure 6).

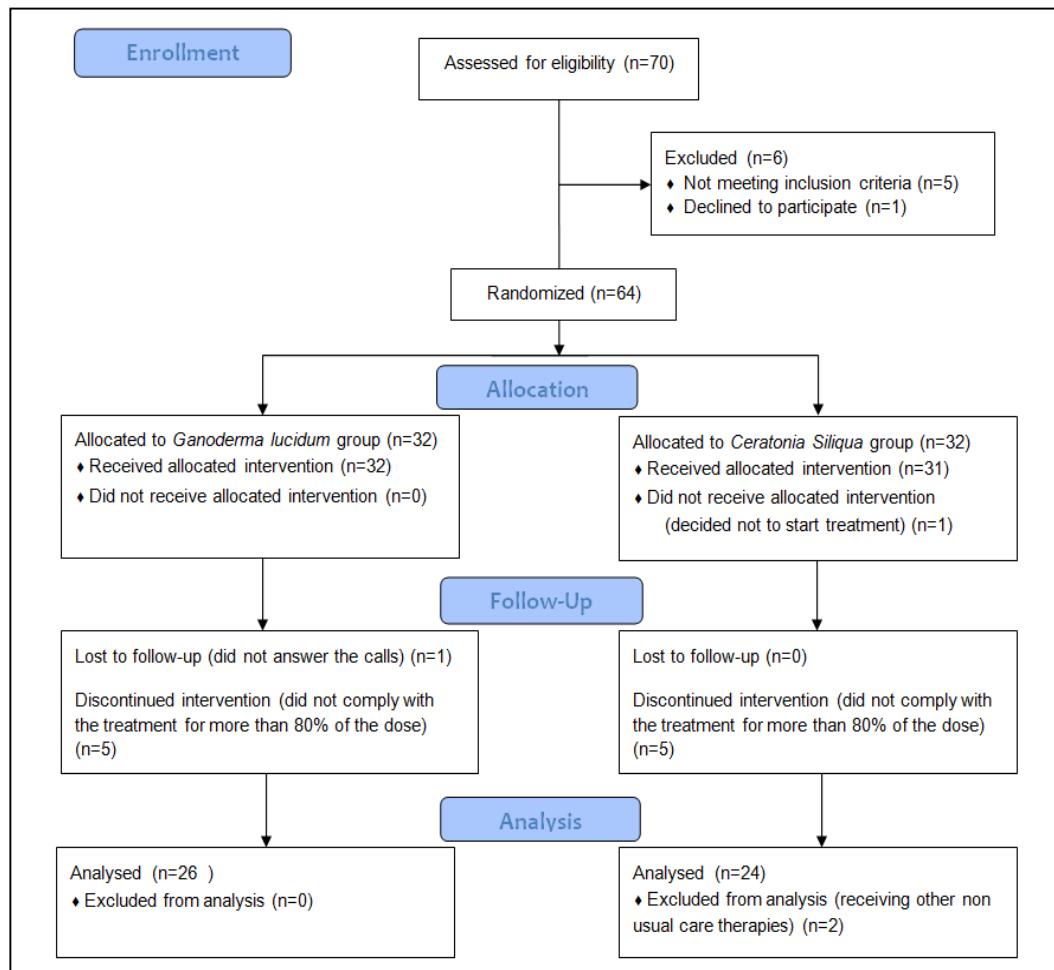


Figure 6. Flow diagram of participants.

Descriptive statistics are shown in table 12. As can be observed, no statistically significant differences were shown between the 2 groups at baseline.

Table 12. Characteristics of women with FM from both groups at baseline.

	GLG (n=26)	CSG (n=24)	P*
Age (years)	56.19 (7.97)	53.74 (11.50)	.382
Height (cm)	157.08 (4.55)	156.29 (6.08)	.541
Weight (kg)	64.26 (9.67)	61.30 (13.24)	.411
Date when FM symptoms started	1994 (11.86)	1992 (12.56)	.601
Date of diagnosis	2006 (6.56)	2003 (7.02)	.935
Muscle mass (%)	61.97 (7.17)	64.82 (8.58)	.245
Fat mass (%)	34.81 (7.51)	32.24 (7.75)	.285
BMI (kg/m ²)	26.05 (3.75)	25.06 (4.75)	.522
15D total score (0 worst; 1 best)	0.64 (0.12)	0.69 (0.09)	.092
FIQ score (0 best; 100 worst)	63.64 (21.77)	59.47 (13.74)	.427
FIQ-R score (0 best; 100 worst)	56.37 (18.64)	53.69 (16.54)	.594

Values expressed as mean (SD); GLG: *Ganoderma lucidum* group; CSG: *Ceratonia siliqua* group; FM: Fibromyalgia. BMI: Body Mass Index; FIQ: Fibromyalgia Impact Questionnaire. * p value of the Student's t test.

Results of the efficacy analysis can be seen in table 13. After the 6-week treatment, no statistically significant differences were observed in the pain level between the *Ganoderma lucidum* Group (GLG) and the active placebo group or *Ceratonia siliqua* Group (CSG), both for self reported pain and FIQ-R dimension. Evolution of self-reported pain every day at morning can be seen in figure 7. Statistically significant differences between the 2 groups were observed in 6 particular days (4 days during treatment, namely, 6th, 8th, 28th, and 30th; and 2 days after treatment, i.e. 1st and 5th). GLG has showed statistically significant difference with respect its base-line in 23 of 41 days treatment, while CSG in 6 days of 41.

Statistically significant difference in favor of GLG in the FIQ score ($p=.046$) was observed. The treatment effect of this measure was -11.65, which means an effect higher than 18%. The GLG intra-group analysis (compared to the group baseline) revealed an improvement higher than 37% ($p<.01$). Table 13 also shows that GLG significantly improved every assessed outcome compared to baseline, including pain dimension in the FIQ questionnaire while CSG did not.

Table 13. Effects of 6 weeks of treatment on pain, impact of fibromyalgia and HRQoL. Efficacy analysis.

	GLG (n=26)			CSG (n=24)				Treatment effect (95% CI)
	Mean (SD) at baseline	Mean (SD) after treatment	Pa	Mean (SD) at baseline	Mean (SD) after treatment	Pa	Pb	
Pain reported during treatment*	54.39 (20.93)	43.91 (26.92)	.034	59.32 (26.83)	48.77 (27.27)	.052	.993	<.001 0.07 (-15.50 to 15.64)
Pain assessed by FIQ-R	7.15 (2.09)	4.92 (2.62)	<.01	7.17 (1.6)	6.33 (2.10)	.084	.053	0.212 -1.39 (-8.49 to 0.69)
FIQ total score	63.64 (21.77)	40.21 (21.92)	<.01	59.47 (13.74)	47.69 (16.25)	<.01	.046	0.593 -11.65 (-23.04 to -0.24)
FIQ-R total score	56.37 (18.64)	39.67 (20.28)	<.01	53.69 (16.55)	43.51 (13.17)	<.01	.195	0.379 -6.52 (-2.82 to 0.02)
Function domain	14.26 (6.05)	10.58 (6.60)	<.01	13.71 (6.25)	11.90 (6.92)	.276	.347	0.274 -1.87 (-16.50 to 3.46)
Overall impact domain	9.85 (6.16)	6.31 (5.66)	.011	9.21 (5.76)	6.42 (4.09)	.059	.696	0.114 -0.75 (-5.84 to 2.09)
Symptom domain	32.27 (8.71)	22.79 (10.08)	<.01	30.77 (7.55)	25.19 (5.85)	<.01	.094	0.493 -3.9 (-4.56 to 3.07)
15D total score	0.64 (0.12)	0.75 (0.11)	<.01	0.69 (0.09)	0.76 (0.10)	<.01	.130	0.445 0.04 (-0.01 to 0.09)

HRQoL: Health-related quality of life; FIQ: Fibromyalgia Impact Questionnaire; GLG: *Ganoderma lucidum* Group; CSG: *Ceratonia siliqua* Group; ^ap of t-test; ^bp-values of analysis of variance for repeated measures to compare differences between groups after treatment; CI: confidence interval; *Sample size were n=23 for GLG and n=22 for CSG.

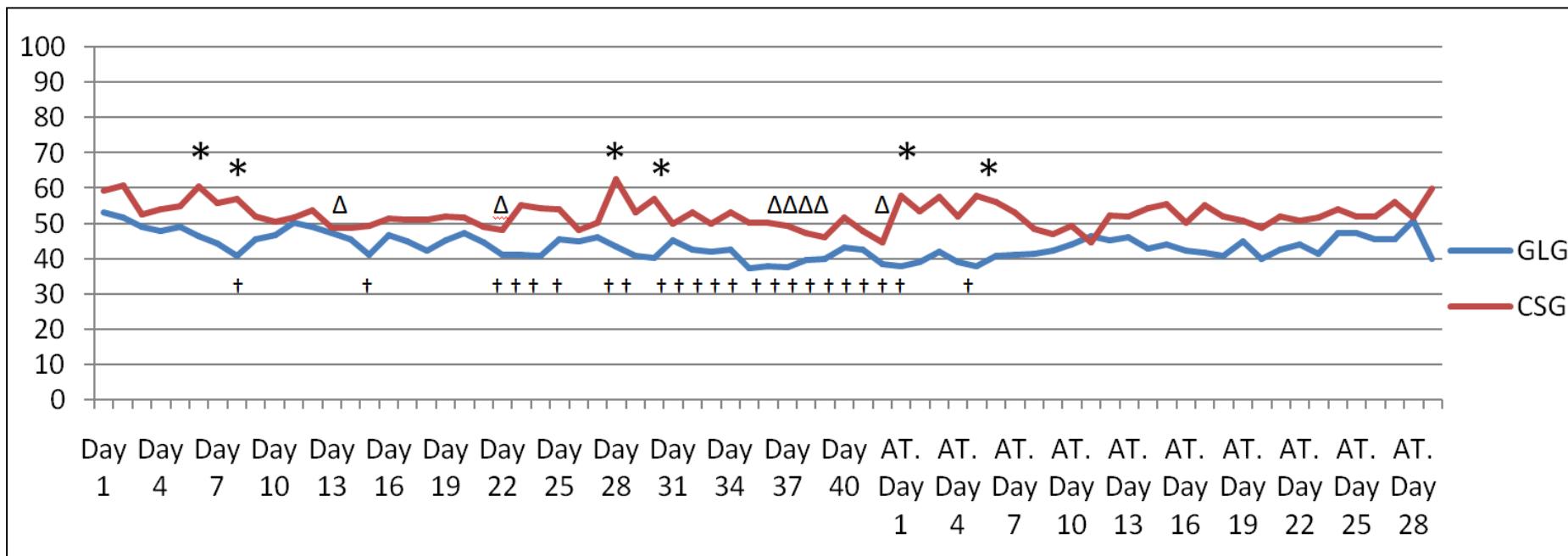


Figure 7. Pain reported every day at morning by the 2 groups.

GLG: *Ganoderma lucidum* Group; CSG: *Ceratonia siliqua* Group. AT: After the end of the treatment. *: Significant improvement in the GLG relative to the CSG ($p < .05$); †: Significant improvement in the GLG relative to the baseline ($p < .05$); Δ: Significant improvement in the CSG relative to the baseline ($p < .05$).

Figure 8 shows the score for each of the 10 FIQ items of both groups at baseline and after treatment. Significant improvement in the GLG relative to CSG was observed for "do Job" and "work missed". Within-group analysis revealed a significant change from baseline to after-treatment in all 10 items for GLG, while CSG significantly improved "pain", "fatigue", "rested", "stiffness", and "depression".

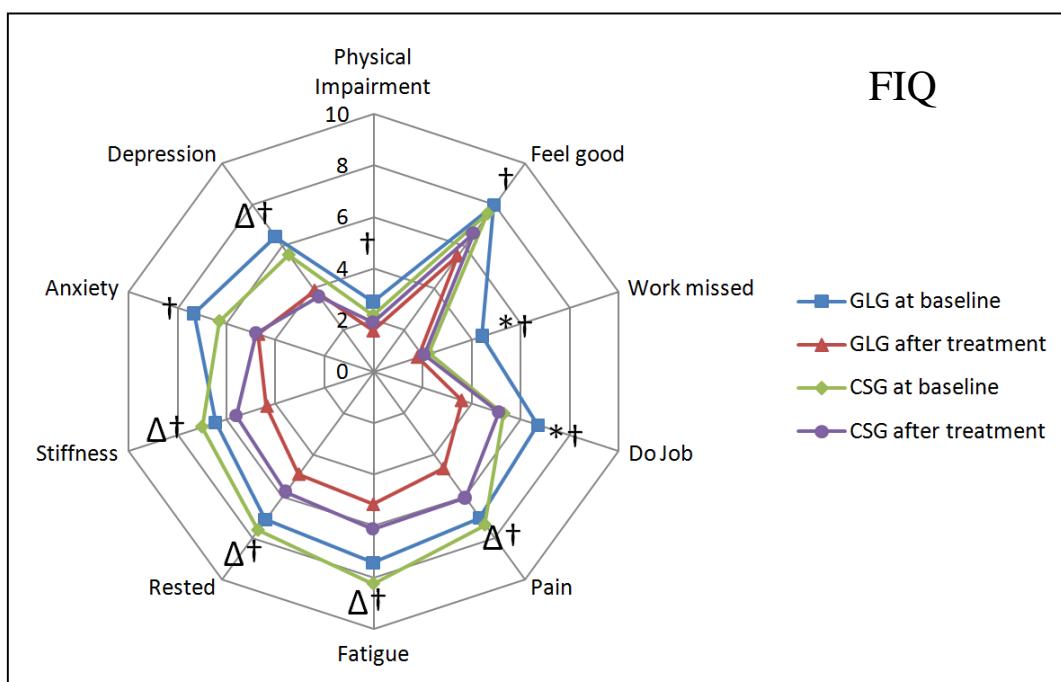


Figure 8. Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ) profile for *G. lucidum* Group (GLG; n=26) and *C. siliqua* Group (CSG; n=24) at baseline and after treatment.

*:Significant improvement in the GLG relative to the CSG ($p<.05$); †:Significant improvement in the GLG relative to the baseline ($p<.05$); Δ:Significant improvement in the CSG relative to the baseline ($p<.05$).

The 15D profiles for both groups at baseline and after treatment can be seen in figure 9. Significant improvement between groups was observed in dimensions "sleep" and "move". Significant improvement in the GLG relative to baseline was observed in 6 of the 15 dimensions, namely "sleep", "usual activities", "mental function", "discomfort", "depression", and "distress"; while CSG significantly changed in 4 of the 15 dimensions, i.e. "depression", "distress", "vitality", and "sex".

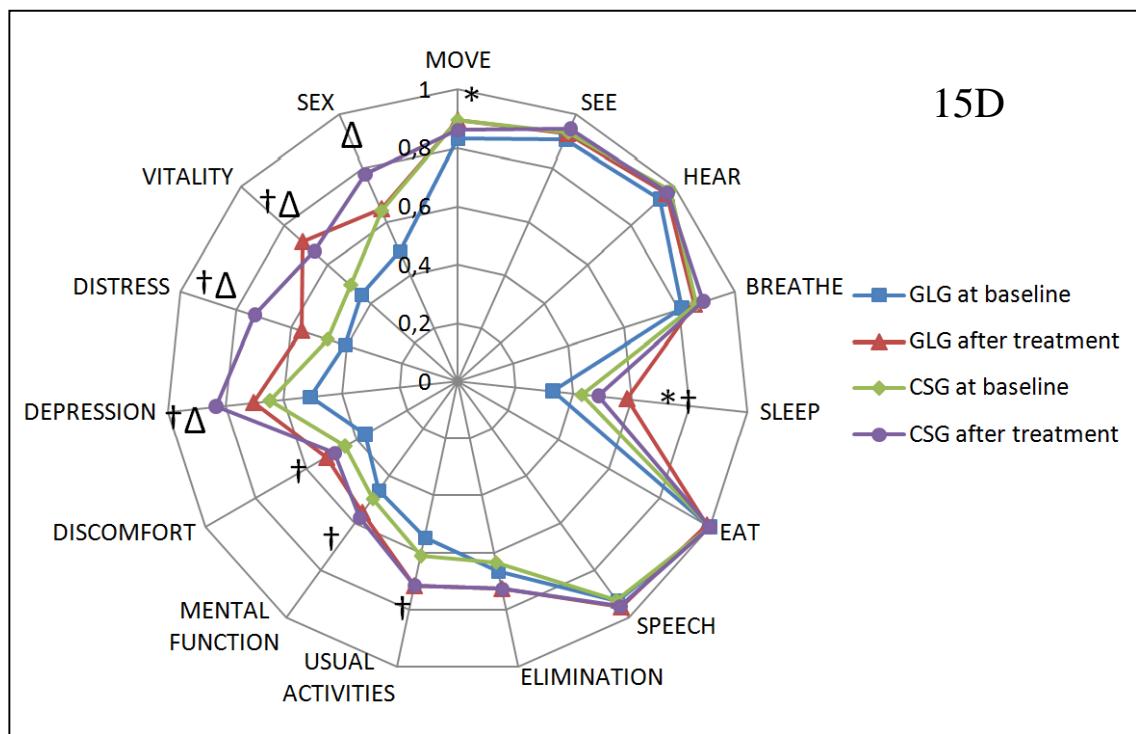


Figure 9. 15D profile for *G. lucidum* Group (GLG; n=26) and *C. siliqua* Group (CSG; n=24) at baseline and after treatment.

*:Significant improvement in the GLG relative to the CSG ($p<.05$); †:Significant improvement in the GLG relative to the baseline ($p<.05$); Δ:Significant improvement in the CSG relative to the baseline ($p<.05$).

Intent-to-treat analysis is shown in table 14. Statistically significant difference was observed in the overall domain of FIQ-R ($p=.048$), in favor to GLG. Within-group improvement were observed for GLG in all variables except in pain reported during treatment. Similar results were found for the CSG, improving all variables compared to the baseline, with the exception of the FIQ-R function domain.

Table 14. Effects of 6 weeks of treatment on pain, impact of fibromyalgia and HRQoL. Intent-to-treat analysis.

	GLG (n=32)			CSG (n=32)			Effect size	Treatment effect (95% CI)
	Mean (SD) at baseline	Mean (SD) after treatment	P ^a	Mean (SD) at baseline	Mean (SD) after treatment	P ^a	P ^b	
Pain reported during treatment	52.40 (18.50)	44.88 (27.22)	.109	54.19 (26.66)	44.06 (24.59)	.028	.104	0.683 2.61 (-2.31 to -0.07)
Pain assessed by FIQ-R	7.44 (2.00)	5.22(2.48)	<.01	6.84(1.67)	5.81 (2.22)	<.01	.539	0.038 -1.19 (-10.05 to 15.25)
FIQ total score	65.49 (20.03)	43.11 (21.50)	<.01	59.60 (13.68)	46.68 (16.41)	<.01	.499	0.054 -9.46 (-19.10 to 0.17)
FIQ-R total score	58.49 (17.78)	42.67 (20.03)	<.01	51.87 (16.95)	42.31 (14.24)	<.01	.383	0.136 -6.26 (-14.56 to 2.04)
Function domain	15.20 (5.95)	11.66 (6.51)	<.01	13.60 (5.98)	11.87 (7.00)	.191	.283	0.269 -1.81 (-5.02 to 1.42)
Overall impact domain	10.03 (5.84)	7.14 (6.05)	.013	8.69 (5.49)	6.09 (4.47)	.027	.048	0.853 -0.29 (-3.43 to 2.84)
Symptom domain	33.27 (8.39)	23.88 (9.64)	<.01	29.58 (8.27)	24.35 (6.18)	<.01	.539	0.038 -4.16 (-8.07 to -0.24)
15D total score	0.63 (0.11)	0.74 (0.11)	<.01	0.69 (0.09)	0.75 (0.09)	<.01	.413	0.109 0.05 (-0.01 to 0.09)

HRQoL: Health-related Quality of Life; FIQ: Fibromyalgia Impact Questionnaire; GLG: *Ganoderma lucidum* Group; CSG: *Ceratonia siliqua* Group; ^ap of t-test; ^bp-values of analysis of variance for repeated measures to compare differences between groups after treatment; CI: confidence interval.

2. Effects of *G. lucidum* on happiness, depression, HRQoL and global improvement.

From the 50 participants who complied with the inclusion criteria as reported in figure 4, 1 participant belonging to the CSG was not able to complete the General Happiness Scale (GHS, n=49) and the Satisfaction with Life Scale (SLS, n=49) while 3, 2 belonging to the CSG and 1 to the GLG, were not able to complete Geriatric Depression Scale (GDS, n=47), in all case due to emotional impairment.

Effects of GL and CS on depression and happiness are shown in table 15. Following the 6-week treatment period, a statistically significant difference in happiness using GHS was observed between the 2 groups ($p<.05$). The paired t test revealed a significant enhancement in GHS score ($p<.01$) in the GLG, whereas no statistically significant change was found in CSG. No statistically significant difference was found between groups in satisfaction with life (assessed using SLS) and depression (assessed using GDS). However, the paired t test revealed a significant enhancement in both outcomes in GLG, whereas no statistically significant change was observed in CSG.

Number-needed-to-treat analysis for GDS was 4. This means that about 1 of 4 patients was benefited from the treatment. In SLS this number was 3, meaning that about 1 of 3 patients was benefited from the treatment.

Perception of treatment efficacy was significantly better in GLG than in CSG ($p<.05$) as can be seen in the GIIS score. However, no statistically significant differences in any dimension of SF-12 were observed between the 2 groups (table 16 and 17).

Table 15. Effects of 6-week treatment with *G. lucidum* or *C. siliqua* on happiness, depression, satisfaction with life and GIIS in women with fibromyalgia^a.

	Baseline (mean ± SD)	After 6 weeks' treatment (mean ± SD)	P ^b	Treatment effect. mean (95% CI)	p ^c
<u>EFFICACY</u>					
GHS					
<i>GLG</i> (n = 26)	3.83 ± 1.57	4.67 ± 1.44	.009	0.66 (from 0.01 to 1.32)	.048
<i>CSG</i> (n = 23)	4.55 ± 1.10	4.74 ± 0.93	.428		
SLS					
<i>GLG</i> (n = 26)	16.58 ± 7.28	19.27 ± 7.17	.003	2.69 (from -0.46 to 5.85)	.092
<i>CSG</i> (n = 23)	19.13 ± 7.34	19.13 ± 7.31	.326		
GDS					
<i>GLG</i> (n = 25)	7.60 ± 3.39	5.36 ± 3.94	.001	-1.51 (from -3.51 to 0.48)	.134
<i>CSG</i> (n = 22)	6.55 ± 3.12	5.81 ± 3.74	.379		
GIIS					
<i>GLG</i> (n = 26)	NA	2.54 ± 1.45	NA	NA	.037
<i>CSG</i> (n = 24)	NA	3.46 ± 1.59			
<u>INTENT-TO-TREAT (n=64; GLG=32; CSG=32)</u>					
GHS					
<i>GLG</i>	4.00 ± 1.64	4.69 ± 1.45	.007	0.52 (from -0.048 to 1.09)	.072
<i>CSG</i>	4.43 ± 1.25	4.59 ± 1.14	.305		
SLS					
<i>GLG</i>	17.22 ± 7.17	19.60 ± 7.35	.003	3.35 (from 0.62 to 6.09)	.017
<i>CSG</i>	19.00 ± 6.80	18.03 ± 6.90	.326		
GDS					
<i>GLG</i>	7.25 ± 3.45	5.60 ± 4.14	.007	-0.93 (from -3.67 to 0.23)	.082
<i>CSG</i>	6.31 ± 3.01	6.38 ± 4.14	.927		

^aValues are expressed in points. ^bp of t-test. ^cp-values of analysis of variance for repeated measures to compare difference between groups after 6 weeks treatment; GDS, Geriatric Depression Scale; GHS, General Happiness Scale; SLS, Satisfaction with Life Scale; GIIS: Global Impression of Improvement Scale; GLG, *Ganoderma lucidum* Group; CSG, *Ceratonia siliqua* Group; NA: Not Applicable.

Table 16. Effects of 6-week treatment with *Ganoderma lucidum* or *Ceratonia siliqua* on HRQoL in women with fibromyalgia. Efficacy analysis^a.

	Baseline (mean ± SD)	After 6 weeks' treatment (mean ± SD)	p ^b	Treatment effect. mean (95% CI)	p ^c
SF12v2 (n=50; GLG=26; CSG=24)					
PHYSICAL FUNCTION					
GLG	39.42 ± 37.53	47.12 ± 31.09	.175	5.61 (from -10.48 to 21.70)	.487
CSG	41.67 ± 24.08	43.75 ± 35.55	.723		
PHYSICAL ROLE					
GLG	52.88 ± 31.29	62.50 ± 28.06	.106	1.8 (from -14.76 to 18.37)	.828
CSG	46.35 ± 22.57	54.17 ± 27.00	.200		
BODILY PAIN					
GLG	40.38 ± 39.42	56.73 ± 29.63	.047	10.10 (from -9.64 to 29.84)	.309
CSG	40.63 ± 31.98	46.88 ± 25.87	.283		
GENERAL HEALTH					
GLG	17.50 ± 22.55	30.00 ± 25.22	.015	4.58 (from -9.13 to 18.29)	.505
CSG	27.08 ± 22.98	35.00 ± 21.37	.118		
VITALITY					
GLG	30.77 ± 31.07	38.46 ± 32.58	.319	-7.93 (from -26.88 to 11.02)	.404
CSG	26.04 ± 23.86	41.67 ± 20.41	.008		
SOCIAL FUNCTIONING					
GLG	51.92 ± 37.36	72.11 ± 38.94	.030	13.94 (from -10.23 to 38.11)	.252
CSG	56.25 ± 37.77	62.50 ± 36.11	.450		
EMOTIONAL ROLE					
GLG	61.06 ± 28.79	75.48 ± 26.81	.033	5.57 (from -12.52 to 23.66)	.539
CSG	59.90 ± 27.82	68.75 ± 26.58	.174		
MENTAL HEALTH					
GLG	39.90 ± 25.25	59.61 ± 25.32	.001	6.17 (from -7.61 to 19.95)	.373
CSG	47.91 ± 19.39	61.46 ± 17.64	.008		
STANDARDIZED PHYSICAL COMPONENT					
GLG	34.31 ± 9.89	37.31 ± 10.70	.104	2.24 (from -2.88 to 7.37)	.383
CSG	34.55 ± 7.48	35.31 ± 9.21	.681		
STANDARDIZED MENTAL COMPONENT					
GLG	39.46 ± 10.57	46.33 ± 13.20	.011	-0.06 (from -6.66 to 6.65)	.987
CSG	39.83 ± 9.65	46.76 ± 9.54	.003		

^aValues are expressed in points. ^bp of t-test. ^cp-Values of analysis of variance for repeated measures to compare difference between groups after 6 weeks treatment. SF12v2, short-form health survey 12 version 2; GLG, *Ganoderma lucidum* Group; CSG, *Ceratonia siliqua* Group.

Table 17. Effects of 6-week treatment with *Ganoderma lucidum* or *Ceratonia siliqua* on HRQoL in women with fibromyalgia. Intent-to-treat analysis^a.

	Baseline (mean ± SD)	After 6 weeks' treatment (mean ± SD)	p ^b	Treatment effect, mean (95% CI)	p ^c
SF12v2 (n=64; GLG=32; CSG=32)					
PHYSICAL FUNCTION					
GLG	36.72 ± 35.35	42.19 ± 30.74	.256	-0.78 (from -15.96 to 14.39)	.918
CSG	38.28 ± 26.93	44.53 ± 34.63	.301		
PHYSICAL ROLE					
GLG	49.22 ± 30.44	60.16 ± 27.39	.029	-0.39 (from -15.90 to 15.12)	.960
CSG	42.19 ± 26.13	53.52 ± 25.84	.073		
BODILY PAIN					
GLG	37.50 ± 37.57	50.78 ± 33.29	.051	0.78 (from -16.30 to 17.87)	.927
CSG	35.94 ± 29.74	48.44 ± 25.35	.030		
GENERAL HEALTH					
GLG	17.66 ± 22.40	26.25 ± 25.93	.051	-0.94 (from -12.69 to 10.81)	.874
CSG	22.66 ± 22.14	32.19 ± 21.06	.026		
VITALITY					
GLG	28.13 ± 28.93	35.94 ± 31.07	.217	-6.25 (from -21.53 to 9.03)	.417
CSG	26.56 ± 22.84	40.63 ± 20.82	.004		
SOCIAL FUNCTIONING					
GLG	54.69 ± 35.03	71.09 ± 36.54	.038	9.38 (from -11.41 to 30.16)	.371
CSG	54.69 ± 35.03	61.72 ± 35.35	.331		
EMOTIONAL ROLE					
GLG	58.98 ± 29.99	73.83 ± 27.38	.009	3.13 (from -13.90 to 20.15)	.715
CSG	58.20 ± 29.72	69.928 ± 26.15	.087		
MENTAL HEALTH					
GLG	37.89 ± 24.28	55.47 ± 27.30	.000	5.85 (from -5.46 to 17.18)	.305
CSG	48.83 ± 18.06	60.55 ± 17.13	.004		
STANDARDIZED PHYSICAL COMPONENT					
GLG	33.51 ± 9.22	35.73 ± 10.60	.154	-0.55 (from -5.28 to 4.18)	.817
CSG	32.59 ± 8.39	35.36 ± 8.94	.137		
STANDARDIZED MENTAL COMPONENT					
GLG	38.93 ± 10.49	45.61 ± 13.26	.003	0.63 (from -5.22 to 6.47)	.832
CSG	40.44 ± 9.70	46.50 ± 9.58	.006		

^aValues are expressed in points. ^bp of t-test. ^cp-Values of analysis of variance for repeated measures to compare difference between groups after 6 weeks treatment. SF12v2: Short-Form Health Survey 12 version 2; GLG: *Ganoderma lucidum* group; CSG: *Ceratonia siliqua* Group.

3. Effects of *G. lucidum* on physical fitness.

Efficacy analysis for physical fitness were performed with a total of 48 women, 25 belonging to GLG and 23 belonging to CSG, because in comparison with the 50 participants analyzed as shown in figure 6, 1 woman did not show up when measurements was performed and another woman was not able to complete physical fitness tests because she had an acute musculoskeletal injury (figure 10).

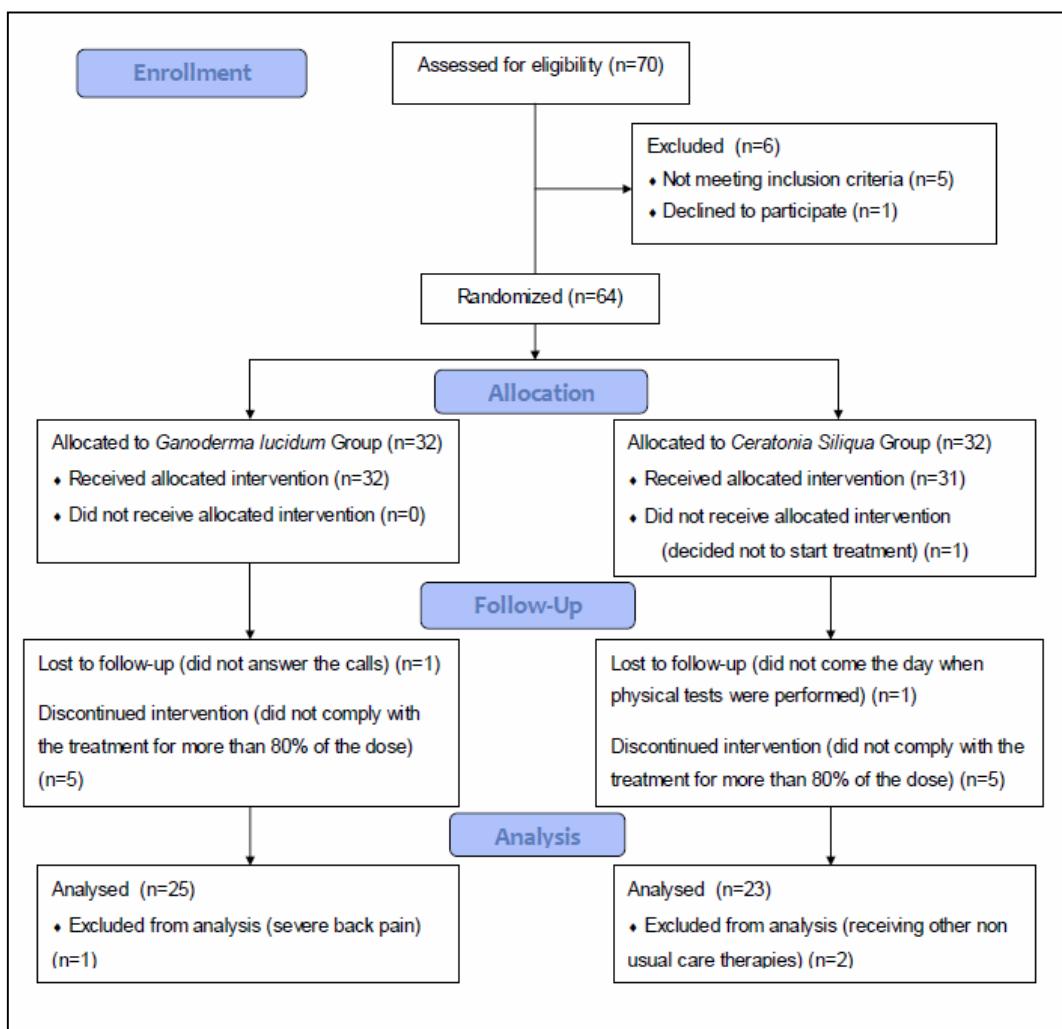


Figure 10. Flow diagram of participants for the physical fitness test.

Effects of GLG and CSG on physical fitness are represented in table 18. After the 6-week treatment period, a statistically significant difference in aerobic endurance was observed between both groups ($p<.05$). Furthermore, GLG obtained significant improvements ($p<.05$) in lower body flexibility and velocity in efficacy analysis compared with CSG. However, only the improvement in lower body flexibility was significant in the intent-to-treat analysis (table 19).

Table 18. Effects of 6-week treatment with *G. lucidum* or *C. siliqua* on physical conditioning. Efficacy analysis.

Outcome measure	Test	GLG				CSG				Treatment effect Mean (95% CI)	Global Effect Size		
		Mean (SD) at baseline	Mean (SD) after treatment	P ^a	Intra-Group Effect Size	Mean (SD) at baseline	Mean (SD) after treatment	P ^a	Intra-Group Effect Size	F	P ^b		
Upper body strength	Right Handgrip (kg)												
	GLG (n=25)	19.58 (4.98)	19.92 (4.33)	.601	-0.072	20.36 (4.09)	20.28 (5.68)	.910	0.016	0.201	.656	-0.42 (-1.47 to 2.32)	0.132
	CSG (n=23)												
	Left Handgrip (kg)												
	GLG (n=24)	18.33 (4.92)	18.91 (3.85)	.482	-0.131	18.73 (3.99)	19.39 (5.11)	.420	-0.143	0.005	.946	0.07 (-2.37 to 2.21)	0.021
	CSG (n=23)												
	Arm Curl Right (reps)												
	GLG (n=25)	10.20 (3.55)	13.36 (4.04)	<.001	-0.830	10.09 (2.99)	12.91 (3.42)	.001	-0.877	0.145	.705	-0.34 (-1.43 to 2.09)	0.112
	CSG (n=23)												
Upper body flexibility	Arm Curl Left (reps)												
	GLG (n=24)	10.48 (4.11)	13.81 (4.40)	<.001	-0.782	10.41 (3.64)	12.67 (2.96)	.001	0.681	1.784	.188	-1.07 (-0.54 to 2.68)	0.398
	CSG (n=23)												
Lower body flexibility	Back Scratch (cm)												
	GLG (n=25)	-4.12 (10.99)	-3.80 (10.63)	.761	-0.029	-5.36 (8.71)	-5.86 (8.35)	.754	0.058	0.197	.659	-0.82 (-2.90 to 4.54)	0.133
	CSG (n=22)												
Balance and agility	Chair Sit and Reach (cm)												
	GLG (n=25)	-0.20 (8.69)	4.00 (9.85)	<.001	-0.452	-0.35 (9.39)	-.22 (8.98)	.893	-0.014	9.060	.004	-4.06 (1.38 to 6.75)	0.887
	CSG (n=23)												
Aerobic endurance	Timed-Up-Go (s)												
	GLG (n=25)	7.29 (1.29)	6.85 (1.02)	.007	0.378	7.31 (1.10)	7.00 (1.30)	.329	0.257	0.144	.706	0.13 (-0.80 to 0.54)	0.113
	CSG (n=22)												
Aerobic endurance	6 m Walking (m)												
	GLG (n=25)	507.00 (73.88)	528.97 (72.08)	.006	-0.301	477.73 (79.69)	469.49 (120.45)	.643	0.080	4.260	.045	-30.19 (-6.33 to 66.75)	0.497
	CSG (n=22)												

GLG: *Ganoderma lucidum* Group; CSG: *Ceratonia siliqua* Group; ^ap of t-test; ^bp-values of analysis of variance for repeated measures to compare differences between groups after treatment; CI: confidence interval.

Table 18 (Cont.). Effects of 6-week treatment with *G. lucidum* or *C. siliqua* on physical conditioning. Efficacy analysis.

Outcome measure	Test	GLG				CSG				Treatment effect Mean (95% CI)	Global Effect Size		
		Mean (SD) at baseline	Mean (SD) after treatment	P ^a	Intra-Group Effect Size	Mean (SD) at baseline	Mean (SD) after treatment	P ^a	Intra-Group Effect Size	F	P ^b		
Lower body strength	Chair stand Test (reps)												
	GLG (n=25)	10.26 (1.71)	11.14 (2.08)	.005	-0.462	10.22 (2.03)	10.86 (2.52)	.051	-0.279	0.343	.561	-0.25 (-0.59 to 1.08)	0.175
Velocity	CSG (n=22)												
	20-m walk test (m/s)												
	GLG (n=25)	3.35 (0.52)	3.54 (0.54)	.002	0.254	3.26 (0.42)	3.24 (0.52)	.883	-0.059	4.491	.040	0.30 (-0.72 to .11)	0.625
	CSG (n=23)												
Balance. Eyes open on firm surface	Stability Index (°)	4.63 (1.68)	4.77 (1.42)	.478	-0.090	4.72 (1.62)	4.32 (2.26)	.238	0.203	2.066	.157	-0.54 (-0.21 to 1.30)	0.424
	GLG (n=25)												
	CSG (n=23)	0.78 (0.59)	0.51 (0.24)	.021	0.599	0.73 (0.44)	0.62 (0.45)	.255	0.247	1.239	.271	0.16 (-0.43 to 0.12)	0.329
Balance. Eyes closed on firm surface	Stability Index (°)	4.83 (1.50)	4.70 (1.61)	.591	0.083	4.66 (1.66)	4.20 (2.06)	.205	0.245	0.657	.422	-0.33 (-0.49 to 1.15)	0.239
	GLG (n=25)												
	CSG (n=23)	1.19 (0.62)	0.99 (0.50)	.080	0.355	1.01 (0.56)	0.90 (0.45)	.136	0.216	0.348	.558	0.08 (-0.34 to 0.18)	0.174
Balance. Eyes open on unstable surface	Stability Index (°)	4.02 (1.65)	4.14 (1.41)	.635	-0.078	3.97 (1.52)	4.38 (1.83)	.210	-0.243	0.483	.490	0.28 (-1.09 to 0.53)	0.205
	GLG (n=25)												
	CSG (n=23)	1.42 (0.63)	1.26 (0.65)	.218	0.249	1.22 (0.44)	1.05 (0.37)	.001	0.418	0.008	.931	-0.01 (-0.26 to 0.29)	0.026
Balance. Eyes closed on unstable surface	Stability Index (°)	4.90 (1.37)	4.92 (1.50)	.933	-0.013	4.57 (1.85)	4.89 (2.45)	.279	-0.147	0.469	.497	0.29 (-1.14 to 0.56)	0.202
	GLG (n=25)												
	CSG (n=23)	3.22 (0.97)	3.22 (1.24)	.997	0.000	2.93 (1.07)	2.82 (.99)	.562	0.106	0.157	.693	-0.10 (-0.43 to 0.65)	0.117
Trunk endurance	Abdominal (s)	46.18 (39.47)	54.55 (39.80)	.321	-0.211	39.45 (34.69)	41.49 (37.74)	.817	-0.056	0.272	.605	-6.33 (-18.19 to 30.87)	0.242
	GLG (n=25)												
	Lumbar (s)	54.01 (40.84)	59.36 (45.81)	.666	-0.123	49.73 (41.22)	46.41 (40.75)	.777	0.081	0.261	.612	-8.66 (-25.58 to 42.92)	0.168
	CSG (n=19)												

GLG: *Ganoderma lucidum* Group; CSG: *Ceratonia siliqua* Group; ^ap of t-test; ^bp-values of analysis of variance for repeated measures to compare differences between groups after treatment; CI: confidence interval.

Table 19. Effects of 6-week treatment with *G. lucidum* or *C. siliqua* on physical conditioning. Intent-to-treat analysis.

Outcome measure	Test	GLG (n=32)				CSG (n=32)				Treatment Effect Mean (95% CI)	Global Effect Size		
		Mean (SD) at base line	Mean (SD) after treatment	P ^a	Intra-Group Effect Size	Mean (SD) at base line	Mean (SD) after treatment	P ^a	Intra-Group Effect Size	F	P ^b		
Upper body strength	Right Handgrip (kg)	19.81 (4.87)	18.17 (4.82)	.885	0.338	19.98 (4.33)	18.51 (4.16)	.571	0.346	0.042	.838	0.28 (-1.92 to 1.37)	0.052
	Left Handgrip (kg)	18.17 (4.82)	18.56 (4.37)	.535	-0.084	18.51 (4.16)	19.47 (4.72)	.147	-0.215	0.399	.530	0.56 (-2.35 to 1.22)	0.160
	Right arm curl (reps)	9.76 (3.44)	12.82 (3.95)	.000	-0.826	9.06 (3.34)	12.45 (4.08)	.000	-0.909	0.182	.672	0.32 (-1.83 to 1.19)	0.108
	Left arm curl (reps)	10.36 (3.87)	13.65 (4.23)	.000	-0.811	9.92 (3.83)	12.65 (3.89)	.000	-0.707	0.674	.415	-0.56 (-0.80 to 1.93)	0.209
Upper body flexibility	Back Scratch (cm)	-4.00 (11.02)	-3.50 (10.87)	.560	-0.045	-5.00 (10.39)	-6.25 (10.55)	.282	0.119	1.514	.223	-1.74 (-1.09 to 4.58)	0.313
Lower body flexibility	Chair Sit and Reach (cm)	-0.28 (8.38)	3.02 (9.20)	.000	-0.375	-0.34 (11.62)	0.43 (10.16)	.397	-0.070	4.312	.044	-2.53 (0.06 to 4.99)	0.527
Balance and agility	Timed-Up-Go (s)	7.25 (1.18)	6.89 (1.05)	.010	0.322	7.43 (1.49)	7.18 (1.62)	.288	0.160	0.163	.688	0.09 (-0.64 to 0.42)	0.103
Aerobic endurance	Six minutes walking test (m)	505.59 (71.40)	524.76 (70.89)	.008	-0.269	484.46 (80.52)	474.79 (117.4)	.478	0.096	3.661	.060	-28.84 (-1.29 to 58.99)	0.486
Lower body strength	Chair stand test (reps)	10.29 (1.72)	11.04 (2.03)	.007	-0.398	10.03 (2.40)	10.75 (2.81)	.003	-0.275	0.006	.940	-0.02 (-0.65 to 0.70)	0.020
Velocity	20-m walk test (m/s)	3.36 (0.50)	3.51 (0.56)	.006	-0.282	3.27 (0.47)	3.25 (0.58)	.808	0.037	3.581	.063	-0.15 (-0.01 to 0.33)	0.481

GLG: *Ganoderma lucidum* Group; CSG: *Ceratonia siliqua* Group; ^ap of t-test; ^bp-values of analysis of variance for repeated measures to compare differences between groups after treatment; CI: confidence interval.

Table 19 (Cont.). Effects of 6-week treatment with *G. lucidum* or *C. siliqua* on physical conditioning. Intent-to-treat analysis.

Outcome measure	Test	GLG (n=32)				CSG (n=32)				Intra-Group Effect Size	F	P ^b	Treatment Effect Mean (95% CI)	Global Effect Size
		Mean (SD) at base line	Mean (SD) after treatment	P ^a	Intra-Group Effect Size	Mean (SD) at base line	Mean (SD) after treatment	P ^a	Intra-Group Effect Size					
Balance. Eyes open on firm surface	Stability Index(°)	4.60 (1.78)	4.82 (1.51)	.318	-0.133	4.60 (1.56)	4.49 (2.32)	.726	0.055	0.740	.393	-0.33 (-0.43 to 1.09)	0.218	
	Swing Index(°)	0.79 (0.62)	0.53 (0.30)	.005	0.533	0.80 (0.51)	0.68 (0.58)	.087	0.219	1.628	.207	0.14 (-0.35 to 0.07)	0.324	
Balance. Eyes closed on firm surface	Stability Index(°)	4.93 (1.65)	4.84 (1.77)	.660	0.052	4.64 (1.65)	4.37 (1.94)	.330	0.149	0.268	.607	-0.17 (-0.50 to 0.86)	0.131	
	Swing Index(°)	1.19 (0.68)	0.96 (0.49)	.037	0.388	1.08 (0.60)	0.93 (0.59)	.029	0.252	0.306	.582	0.07 (-0.31 to 0.17)	0.141	
Balance. Eyes open on unstable surface	Stability Index(°)	4.18 (1.59)	4.41 (1.50)	.311	-0.148	3.93 (1.42)	4.35 (1.74)	.117	-0.264	0.279	.599	0.18 (-0.88 to 0.51)	0.134	
	Swing Index(°)	1.42 (0.59)	1.25 (0.60)	.105	0.285	1.30 (0.53)	1.16 (0.67)	.029	0.231	0.078	.781	0.03 (-0.27 to 0.20)	0.078	
Balance. Eyes closed on unstable surface	Stability Index(°)	4.97 (1.48)	5.02 (1.54)	.845	-0.033	4.60 (1.68)	4.93 (2.18)	.171	-0.169	0.681	.413	0.28 (-0.96 to 0.40)	0.210	
	Swing Index(°)	3.32 (1.02)	3.32 (1.24)	.995	0.000	2.98 (1.00)	2.95 (1.13)	.870	0.028	0.013	.910	-0.02 (-0.42 to 0.48)	0.029	
Trunk endurance	Abdominal(s)	45.55 (36.52)	53.90 (36.98)	.209	-0.227	36.36 (34.10)	40.62 (37.16)	.434	-0.119	0.235	.630	-4.09 (-12.78 to 20.96)	0.123	
	Lumbar(s)	53.82 (38.69)	58.86 (44.09)	.598	-0.121	47.66 (39.08)	49.17 (41.05)	.858	-0.037	0.079	.780	-3.54 (-21.71 to 28.80)	0.071	

GLG: *Ganoderma lucidum* Group; CSG: *Ceratonia siliqua* Group; ^ap of t-test; ^bp-values of analysis of variance for repeated measures to compare differences between groups after treatment; CI: confidence interval.

4. Effects of *G. lucidum* on blood glucose, lipid profile and body composition.

From the initial 50 participants who complied with the inclusion criteria as shown in figure 6, 1 participant did not come the day when blood measures were performed and 1 participant was excluded because she did not come to the appointment without having eaten. Therefore, a total of 48 women were analyzed in the efficacy analysis. Twenty-five of them belonging to the GLG, while 23 to the CSG (figure 11).

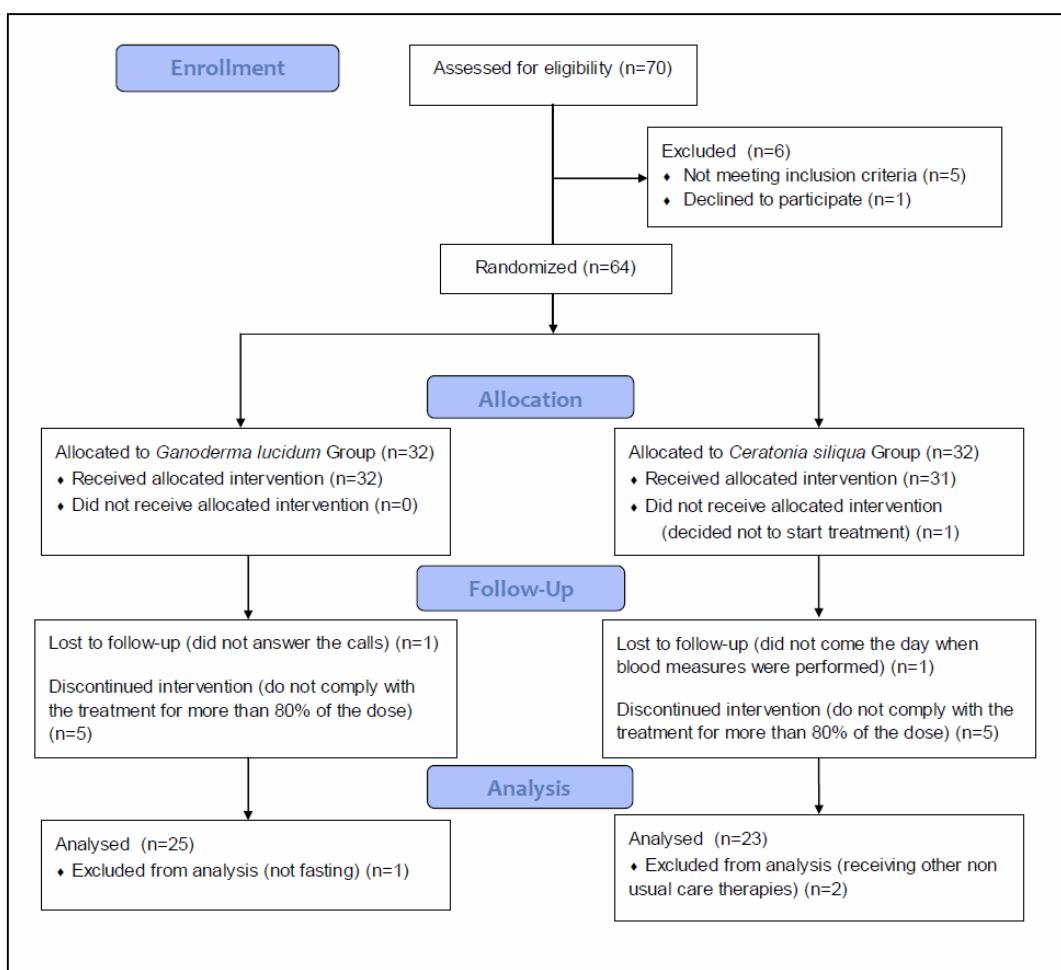


Figure 11. Flow diagram of participants for body composition.

Tables 20 and 21 show the effects of GL and CS on the outcome measures. Two different analyses are reported: intra-group and between-groups analysis. Significant intra-group reduction in fasting glucose levels were observed in the CSG. This reduction was near 9% ($p=.045$). No statistically significant difference was found for the GLG in blood parameters.

Neither GLG nor CSG experienced changes in blood pressure or heart rate. WHR was significantly reduced in the GLG compared with CSG. This reduction is caused by a significant increase of WHR and waist circumference in CSG. This group also gained weight significantly. In fact, GLG experienced a reduction of less than 1% in both WHR and waist circumference, whereas CSG significantly increased their WHR and waist circumference in around 2.5%. No other anthropometric measure changed for any of the 2 groups.

Table 20. Effects of 6-week treatment with *G. lucidum* or *C. siliqua* on blood glucose, lipid profile and body composition. Intra-group analysis*.

Outcome measure	GLG				CSG			
	Mean (SD) at baseline	Mean (SD) after treatment	p ^a	Intra-Group Effect Size	Mean (SD) at baseline	Mean (SD) after treatment	p ^a	Intra-Group Effect Size
Glucose (mg/dl)	78.84 (15.06)	79.80 (10.47)	.737	0.414	86.04 (17.51)	78.30 (16.75)	.045	-0.113
Triglycerides (mg/dl)	146.92 (92.49)	128.60 (60.79)	.440	0.290	156.39 (111.93)	139.78 (80.95)	.554	0.175
Cholesterol (mg/dl)	223.52 (34.63)	213.44 (36.07)	.240	0.310	231.91 (36.83)	224.13 (43.29)	.406	0.193
Systolic blood pressure (mmHg)	122.13 (12.17)	121.41 (12.21)	.792	0.055	121.44 (12.91)	121.40 (15.94)	1.000	0.000
Diastolic blood pressure (mmHg)	70.43 (7.80)	68.91 (8.15)	.128	0.191	71.43 (6.02)	70.46 (7.93)	.525	0.138
Heart rate	69.99 (8.29)	72.35 (9.04)	.200	-0.272	72.46 (11.61)	71.43 (9.48)	.576	0.097
Waist circumference (cm)	85.66 (10.03)	85.55 (10.83)	.820	0.015	84.11 (12.26)	86.20 (13.20)	.046	-0.163
Hip circumference (cm)	103.10 (8.17)	103.2 (8.40)	.857	-0.012	101.43 (9.60)	101.11 (9.53)	.597	0.033
Waist-Hip Ratio	0.83 (0.06)	0.83 (0.06)	.635	0.049	0.83 (0.06)	0.85 (0.07)	.025	-0.348
Weight (Kg)	64.21 (9.87)	64.45 (9.78)	.275	-0.024	61.50 (13.50)	62.23 (13.78)	.018	-0.053
Muscular mass (%)	62.00 (7.31)	61.87 (7.74)	.628	0.017	64.76 (8.77)	64.25 (7.67)	.424	0.061
Fat mass (%)	34.80 (7.67)	34.91 (8.07)	.672	-0.014	32.33 (7.92)	32.40 (7.99)	.859	-0.009

*Values expressed as mean (SD); ^ap value from paired t-test; CI: confidence interval.

Table 21. Effects of 6-week treatment with *G. lucidum* or *C. siliqua* on blood glucose, lipid profile and body composition. Between-group analysis*.

Outcome measure	p ^a	Treatment effect Mean (95% CI)	Global Effect size
Glucose (mg/dl)	.063	8.70 (0.49 to 17.89)	-0.555
Triglycerides (mg/dl)	.962	1.71 (-74.07 to 70.65)	0.014
Cholesterol (mg/dl)	.854	2.30 (-27.26 to 22.67)	0.054
Systolic blood pressure (mmHg)	.852	-0.69 (-8.13 to 6.74)	0.054
Diastolic blood pressure (mmHg)	.756	0.55 (-4.08 to 2.99)	0.092
Heart rate	.190	-3.38 (-1.74 to 8.52)	0.390
Waist circumference (cm)	.065	-2.25 (-4.64 to 0.15)	0.551
Hip circumference (cm)	.605	0.43 (-1.22 to 2.07)	-0.151
Waist-Hip Ratio	.027	0.03 (-0.05 to 0.00)	0.663
Weight (Kg)	.177	0.49 (-1.21 to 0.23)	0.403
Muscular mass (%)	.561	-0.38 (-0.92 to 1.67)	-0.173
Fat mass (%)	.934	-0.04 (-0.91 to 0.99)	0.024

*Values expressed as mean (SD); ^a: p value from ANOVA for repeated measures; CI: confidence interval; GL: *Ganoderma lucidum*; CS: *Ceratonia siliqua*

DISCUSSION

1. Safety and effects of *G. lucidum* on pain, sleep and impact on fibromyalgia

Safety of GL was demonstrated in the current research. A total of 10 participants did not complete the minimum 80% of the treatment. Of these, 5 belonged to the GLG and other 5 to the CSG, which means a 15.63% of the total sample. The most common complaint in those 10 participants were mild nausea, diarrhea, discomfort, and nervousness (table 11). Some participants declared that the reason of those reactions were the bad taste. In all cases the reactions were mild or moderate and the participants were asked to reduce the dose to 3 grams per day. However, no one of the patients that reduced the dose were able to continue the treatment and all of them ceased it. This could suggest that the daily amount of GL and CS was not the cause of those complaints.

Although no statistically significant differences between groups were found in the pain level, figure 7 of self reported pain show an interesting behavior of the GLG that seem to indicate a pain reduction due to the treatment. In fact, GLG experienced a reduction of pain in the first 8 days. After that, the effects were reduced at the second treatment week. From the third week until the end of the treatment, GLG-reported pain levels remained low (close to 40 over 100). When the treatment stopped, GLG experienced slow enhancement of pain levels, always lower than baseline values. On the other hand, CSG experienced fast reduction of pain levels in the first 3 days, followed by an increment that led pain levels to initial levels at day 6th. After that, CSG reported another reduction of pain which ended at day 13th, when significant difference relative to baseline was observed. From this day 13th and until the start of the 3rd week, pain levels were stabilized. At the end of the treatment, significant lower values relative to CSG baseline were

found. When the treatment stopped, CSG experienced a fast and wide increment of pain levels (pain levels the last treatment day and pain reported the first day after treatment were significantly different). Behavior of CSG may be related with a placebo effect, because large fast changes were found when the treatment started and when the treatment stopped [195]. However, GLG experienced a more stable and slower improvement in pain relative to baseline. Pain levels were also assessed using FIQ-R. There were significant differences in GLG when comparing levels at baseline and immediately after treatment. This improvement was not observed in CSG. Treatment effect was near to 20% and change from baseline was 31% in GLG. These results are far from the improvement of around 15% reported as placebo effect [196]. While, CSG reported and improvement around 12%, which supports the hypothesis of CSG-related effects on pain are related to placebo effect. Comparing pain levels changes reported by both groups in the FIQ-R, the p-value was .053, which represents a non-statistically significant difference in spite of being so close to significant threshold.

The current study started in October and the treatment ended in December. According with the State Agency of Meteorology (AEMET), mean climatological temperature of Spain in October was 18.7°C, in November was 12.5°C, and in December was 7.8°C. Although there is no consensus about the effects of weather and temperature in health status and pain of FM patients, these changes may lead an increment of reported pain levels [197] and other associated symptoms, like stiffness [198] or depression [199]. Women suffering from FM usually declare that they feel worse when the weather is cold and wet. Therefore, the effects of both treatments reported in the current paper may be partially masked by weather

changes (if the weather had remained stable throughout treatment, changes might have been greater).

The main finding was that 6g of GL per day for 6 weeks reduced the impact of FM. The treatment effect on the total FIQ score was higher than 18% compared with CSG, while the GLG-improvement relative to the baseline was close to 37%. FIQ dimension analyses proved that differences between groups were placed at dimensions "work missed" and "do Job". Implications of these findings are extremely relevant given the social costs of FM [200].

Although no significantly differences between groups were found on 15D total score, GL was shown to enhance sleep quality and move. These findings are very important if we consider that poor sleep and physical fitness are 2 of the major FM symptoms. Moreover, a significant correlation was observed between GLG improvement in the 15D dimension "move" and the improvement in the total score of FIQ ($p<.05$ and $R=-0.46$). Thus, improvement in physical functioning could lead a global improvement in the impact of FM. This sentence is supported by subsequent regression analysis ($p=.017$).

2. Effects of *G. lucidum* on happiness, depression, HRQoL and global improvement.

Results have shown that 6-week treatment of GL enhanced the happiness of patients suffering from FM. The treatment effect on general happiness was 17.2% (between-group analysis), whereas the improvement relative to the baseline was close to 22% (intra-group analysis).

Satisfaction with life was also enhanced in the intra-group analysis in GLG, but not statistically significant differences were observed between groups ($p=.092$). Anyway this result could had been negatively influenced from the score at

baseline of the SLS that was slightly higher than the score reported in previous studies with Spanish FM patients [201].

Similarly, level of depression was significantly reduced in GLG in the intra-group analysis, but not in the between group analysis. Those results may indicate an important effect of GL on the mood of FM patients, whereas CS did not affect any of the assessed mood variables.

But, why GL could improve happiness in FM patients? This question might be answered by watching the results in the dimensions of SF-12. Although no statistically significant difference was found in the between-groups analysis in any dimension of the SF-12 questionnaire, the paired *t* test analysis revealed that GLG experienced an improvement in bodily pain, general health, social functioning, emotional role, and mental health. Given that pain is the main symptom of FM, this enhancement could lead a positive emotional mood in FM patients. Changes in bodily pain levels relative to baseline were 40%, whereas the treatment effect was 25%. These results are far from the improvement of around 15% reported as placebo effect in previous studies [196]. Therefore, as we seen in the previous variable, result seem to indicate that GL could improve pain in FM patients, and this improvement could lead an enhancement of happiness.

Although happiness is an important part of wellbeing, it has not frequently been used as an outcome measure [202]. However, happiness and satisfaction with life are becoming always a more frequent subjects of study and surveys. Layard [203] hypothesized that the measurement of happiness will become less controversial just as happened with the measurement of depression in the last decades.

GLG perceived that the treatment had an efficacy of 2.54 in the GIIS, which means an improvement between 2 (much improved) and 3 (minimally

improved) [204]. On the other hand, CSG perceived an efficacy of 3.46, being 4 "no change", and 3 "minimally better" [204]. The reason behind this perception was studied: a statistically significant correlation between GIIS score and change in depression levels in GLG was found ($R=0.52$; $p<.01$). Although satisfaction with life and general happiness were significantly related to depression levels ($R=-0.46$ and $R= -0.48$ respectively), no significant relation was observed between these outcomes and GIIS. Surprisingly, no relation between changes in reported bodily pain and any other variable (depression, satisfaction with life, happiness and GIIS) was observed. The GDS score at baseline could explain these results. According with previous studies, when GDS score is higher than 5, it is closely related with the diagnostic of depression [205]. Given that GDS score at baseline was 7.6 in the GLG, the relevance of depression symptoms could be very high. GDS score was reduced to 5.36, which is near to the cut-score for depression diagnosis, (i.e. 5). Therefore, the reduction of depression levels could be the reason of the difference in the GIIS, more than anything else (including pain).

CS appeared to be ineffective for happiness, satisfaction with life depression and HRQoL in FM patients. Although one previous study reported an anti-depressant effect mediated by dopamine and noradrenaline [168], no significant change was observed in the GDS score. An antioxidant effect was also reported by Custodio, Patarra, Albericio, Neng, Nogueira and Romano [167]. Antioxidants could have a beneficial effect on many chronic diseases [206]. Due to both GL and CS have an antioxidant effect, it is expected that a similar improvement on HRQoL based on this effect would be found in both groups. This could explain why no statistically significant difference on HRQoL was observed when comparing GLG and CSG.

In this context, differences relative to baseline should be taken into account.

3. Effects of *G. lucidum* on physical fitness.

The main finding was that 6g/day of GL for 6 weeks improved the physical fitness of women suffering from FM. Specifically, we observed improvements on aerobic endurance, walking velocity, and lower limb flexibility. On the other hand, CS seemed to be rather ineffective in improving physical fitness in FM patients. To our knowledge, this is the first time that effects of GL and CS on physical condition in FM patients were assessed. For this reason, given the lack of studies about the potential mechanism of GL and CS in physical fitness, it is difficult to explain how GL may improve aerobic endurance, velocity and flexibility. The best explanation based on previous studies is the antioxidant effect of the treatment [207, 208]. In fact, the oxidative status was suggested to be a critical factor in physical and mental health of FM patients [82, 209]. However, both GL and CS are antioxidant sources. Therefore, based on our results, there can be no assurance that the reported improvements are caused by an antioxidant effect. In this context, further researches on the physiological effects of GL in the physical condition are needed. Although results are not able to precisely explain how physical condition is improved, the relevance of our findings is very large. In fact, our results lay the foundation for future research focused on the GL effects on physical fitness in pathologies characterized by poor physical conditioning. At the same time, findings from the previous study in cyclists are confirmed [210]. In this way, the current study is also an important entry point for future studies on the effects of GL in sport performance.

This results are also supported by the previously outcome relative to satisfaction with life and HRQoL. In fact, the relevance of the physical condition in women

suffering from FM is widely known and it is closely related with the satisfaction with life, wellbeing and HRQoL [211].

4. Effects of *G. lucidum* on blood glucose, lipid profile and body composition.

The main findings was that 6 grams/day of CS for 6 weeks led to a significant reduction in fasting glucose levels. Second, the Waist-Hip Ratio (WHR) was significantly reduced with 6 grams/day of GL for 6 weeks compared with CSG. These improvements may be extremely important in FM patients, because the prevalence of diabetes, overweight, and obesity is very high among FM patients. A recent study observed that the number of tender points showed significantly positive correlation with higher BMI [212].

One of the aim of the current research was to test 2 treatments that were reported to be effective at reducing cholesterol levels. However, this outcome did not significantly change in any of the 2 groups: GLG experienced a non-significant reduction of 4.5%, whereas CSG had a reduction of 3.4% of cholesterol levels.

Weight of CSG was significantly increased. This weight gain could be explained because the study started in October and ended in December. Given that physical activity in postmenopausal women is reduced in winter as a consequence of seasonal changes and climatic conditions [213], weight gain could be caused by physical inactivity.

WHR was significantly reduced in GLG, although this reduction was very slight and it may has been made remarkable given the increment of the CSG in this variable. In fact, WHR changes were given because a significant increase of waist circumference in the CSG, whereas hip circumference remained unchanged in both groups. In any case, taking in account the previous findings relative to the positive effects of GL on weigh [214-217] and considering that waist

circumference and WHR are a well-known predictors of cardiovascular risk and metabolic syndrome [218, 219], it would be advisable to carry out a more in deep research with a placebo group and with longer intervention periods.

Finally, as diabetes is a frequent and concomitant symptom in FM patient, it would be interesting testing the CS and GL in fibromyalgic patients with diabetes.

5. Limitations.

The current research have some limitations:

- The lack of a placebo group for the evaluation of the secondary variables. In this case we made a comparation between 2 possible active substances.
- In various relevant outcomes reported as "no statistically significant", as for example "Pain assessed using FIQ-R" ($p=.053$), "Symptom domain of FIQ-R" ($p=.094$), or "15D total score ($p=.13$)", treatment effects could not be discarded due to the small sample size.
- The lack of an in deep analysis of both GL and CS bioactive compounds and the lack of immunological analysis on proinflammatory cytokine and on antioxidant levels that would be useful to study the dose/response of the treatment.
- The lack of references about the most adequate doses of both GL and CS. In order to keep double-blind, the same dose of both substances were provided so that both groups received the same indications.
- The lack of previous studies that could explain the mechanisms under the differences observed.
- The duration of the study. In fact, 6 weeks could be insufficient to correctly estimate outcomes like depression, pain, or some HRQoL as "sex", "discomfort", or "usual activities". In this situation, seasonal changes that could have altered our results could not be discarded too.

CONCLUSIONES

Partiendo de los objetivos e hipótesis planteadas en la presente investigación y tras el análisis y estudio de los resultados obtenidos a través de las variables analizadas en las participantes del estudio, se presentan las siguientes conclusiones para determinar el rechazo o la confirmación de las hipótesis planteadas.

En cuanto a la hipótesis principal, “*6 gramos de polvo micromolido de GL diarios administrados por vía oral son seguros y capaces de disminuir el nivel de dolor en personas con FM, mejorando además la calidad del sueño y disminuyendo el nivel de incapacidad de la FM*”, se confirma parcialmente dicha hipótesis puesto que se ha demostrado que 6 gramos diarios de reishi son seguros, mejoran la calidad del sueño y disminuyen el impacto de la FM. No obstante, 6 gramos diarios de reishi no disminuyeron el nivel de dolor en comparación con el placebo, fue evidenciada una disminución del 30% del nivel de dolor en el grupo del GL con respecto a su línea base.

En la hipótesis secundaria 1, “*6 gramos de polvo micromolido de GL diarios administrados por vía oral, en comparación con la ingesta de 6 gramos de harina de algarrobo, mejoran la CVRS, el grado de felicidad y de satisfacción con la vida y disminuyen la depresión, produciendo en general una mejora global del estado de salud de las personas con FM*”, se confirma parcialmente dicha hipótesis puesto que se ha demostrado que 6 gramos diarios de reishi han mejorado significativamente, con respecto a la harina de algarrobo, el nivel de

felicidad general y la percepción de mejora global. Sin embargo, la ingesta de 6 gramos de reishi en comparación con la ingesta de 6 gramos de algarrobo no mejoró la CVRS, la depresión y la satisfacción con la vida.

En cuanto a la hipótesis secundarias 2, “*6 gramos de polvo micromolido de GL diarios administrados por vía oral, en comparación con la ingesta de 6 gramos de harina de algarrobo, mejoran la condición física de las personas con FM*”, se confirma parcialmente dicha hipótesis puesto que se ha demostrado que 6 gramos diarios de reishi han mejorado significativamente, con respecto a la harina de algarrobo, la resistencia aeróbica, la velocidad y la flexibilidad de los miembros inferiores. Mientras que no se han evidenciado diferencias significativas en el resto de variables de condición física analizadas.

En cuanto a la hipótesis secundarias 3, “*6 gramos de polvo micromolido de GL diarios administrados por vía oral, en comparación con la ingesta de 6 gramos de harina de algarrobo, mejoran la composición corporal, reducen los triglicéridos y la presión arterial de las personas con FM. Además, tras la aplicación de los dos tratamientos no habrá diferencias entre grupos en los niveles de glucosa y colesterol, ya que se espera una disminución en ambos grupos de los niveles de glucosa y colesterol con respecto a su línea base*”, se confirma solo parcialmente dicha hipótesis puesto que por un lado se han evidenciado mejoras significativas entre los 2 grupos solo con respecto al índice cintura/cadera, debido a un empeoramiento del grupo que tomó harina de algarrobo más que a una mejora provocada por el reishi y, por el otro, el grupo de la CS redujo significativamente

el nivel de glucosa en la sangre con respecto a su línea base. Mientras que no se vieron mejoras para ninguna de las otras variables examinadas.

En conclusión, con este estudio se abre una nueva línea de investigación en el tratamiento no farmacológico de la FM, ya que la ingesta de reishi podría ser útil para luchar contra algunos de los síntomas y consecuencias de la FM, pudiendo complementar las estrategias de lucha contra este síndrome.

CONCLUSION

Starting from the objectives and the hypothesis stated in this study and after analyzing its outcome, below we present the following conclusions to confirm or refuse our hypothesis.

For the principal hypothesis, "*6 daily grams of micromilled GL powder administered orally will be safe and able to reduce the level of pain of people with FM, further improving the quality of sleep and decreasing the impact of FM*", it was partly confirmed since it was shown that 6 grams per day of GL are secure and improve the sleep quality and decrease the impact of FM. Despite no difference in the pain level was found between the GL group and the placebo group, an interesting difference of the 30% was shown in th GL group compared to its base line.

For the secondary hypothesis 1, "*6 daily grams of micromilled GL powder administered orally, in comparison with the ingestion of 6 grams per day of CS flour, improve HRQoL, general happiness and satisfaction with life, reduce depression level and promoting general improvement of the patients with FM*", it was partly confirmed since it has been shown that GL, in comparison with CS, improve significatively general happiness and increases the sensation of global improvement. While no differences were shown on HRQoL, depression level and satisfaction with life.

For the secondary hypothesis 2, "*6 daily grams of micromilled GL powder administered orally, in comparison with the ingestion of 6 grams per day of CS*

flour, improve physical condition of people with FM", was partially confirmed since it was demonstrated that 6 grams per day of GL, compared to 6 grams of CS flour, have significantly improved aerobic endurance, velocity and flexibility of the lower limbs. While, no significant differences were found in the rest of the analyzed variables for physical condition.

For the secondary hypothesis 3, "*6 daily grams of micromilled GL powder administered orally, in comparison with the ingestion of 6 grams per day of CS flour, improve body composition, the level of triglycerides in the blood and the blood pressure of people with FM. Furthermore, after the treatment, there will be no difference on glucose and cholesterol levels between groups, since a decrease of both levels are expected compared to their base line*", was partially confirmed since it was demonstrated that 6 grams per day of GL, with respect to 6 grams of CS, reduce WHR even if this reduction was due to a worsening of the CS group rather than an improving caused by the GL group. On the other hand, the group of CS significantly reduced the level of blood glucose compared to its base line. While no significant differences were found in all the other variables assessed in this hypothesis.

In conclusion, this study opens a new research line for the non-pharmacological treatment of FM, as the consumption of reishi could be useful to complement existing strategies to treat some of the FM symptoms.

CONCLUSIONI

Partendo dagli obiettivo e dalle ipotesi formulate nel presente studio e, dopo aver analizzato i risultati delle analisi condotte sui pazienti dello studio, si presentano le seguenti conclusioni volte a confermare o contraddirre le nostre ipotesi.

Rispetto all'ipotesi principale, “*6 grammi al giorno di polvere micromacinata di GL somministrata per via orale sono sicuri e capaci di diminuire il livello di dolore delle persone affette da FM, migliorando inoltre la qualità del sonno e diminuendo il livello di incapacità della FM*”, si conferma parzialmente questa ipotesi visto che è stato dimostrato che 6 grammi al giorno di GL sono sicuri e migliorano la qualità del sonno diminuendo anche l'impatto della FM. Mentre che non sono stati in grado di diminuire il livello di dolore in comparazione con il gruppo placebo.

Rispetto all'ipotesi secondaria 1, “*6 grammi al giorno di polvere micromacinata di GL somministrata per via orale, in comparazione con l'ingestione di 6 grammi al giorno di farina di CS, migliorano la qualità di vita associata alla salute, il grado di felicità generale e di soddisfazione con la vita e, diminuiscono il livello di depressione producendo anche un miglioramento globale dello stato di salute dei pazienti con FM*”, si conferma parzialmente questa ipotesi visto che il gruppo del GL ha migliorato significativamente, con rispetto al gruppo della CS, il grado di felicità e la percezione di miglioramento globale. Mentre che non sono stati evidenziati miglioramenti sulla qualità di vita relativa alla salute, sul grado di depressione e sul livello di soddisfazione con la vita.

Rispetto all'ipotesi secondaria 2, “*6 grammi al giorno di polvere micromacinata di GL somministrata per via orale, in comparazione con l'ingestione di 6 grammi al giorno di farina di CS, migliorano la condizione fisica delle persone con FM*”, si conferma parzialmente questa ipotesi visto che è stato dimostrato che 6 grammi al giorno di GL, con rispetto a 6 grammi di farina di CS, han migliorato significativamente la resistenza aerobica, la velocità e la flessibilità degli arti inferiori. Mentre che non sono state trovate differenze significative nel resto delle variabili analizzate relative alla condizione fisica.

Rispetto all'ipotesi secondaria 3, “*6 grammi al giorno di polvere micromacinata di GL somministrata per via orale, in comparazione con l'ingestione di 6 grammi al giorno di farina di CS, migliorano la composizione corporea, il livello di trigliceridi nel sangue e la pressione sanguinea delle persone con FM. Inoltre, dopo il trattamento non ci saranno differenze significative nei livelli di glucosio e colesterolo tra i due gruppi, visto che ci si aspetta una diminuzione di entrambi i livelli di glucosio e colesterolo con rispetto alla loro linea base*”, si conferma solo parzialmente questa ipotesi, visto che da un lato sono state evidenziate differenze significative dell'indice cintura-anca dovuto ad un peggioramento dell'indice del gruppo della CS più che a un miglioramento dovuto al GL e, dall'altro, il gruppo della CS ha ridotto significativamente il livello di glucosio nel sangue con rispetto alla sua linea base. Mentre che non sono state trovate differenze significative in tutte le altre variabili esaminate per questa ipotesi.

In conclusione, questo studio apre una nuova linea di ricerca per il trattamento non farmacologico della FM, visto che il consumo di reishi potrebbe essere utile per integrare le attuali strategie di lotta contro i sintomi della FM.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no habría sido posible sin la colaboración de todos aquellos que de manera directa o indirecta, temporalmente y espacialmente lejano o cercano, han contribuido a su realización. Por estos motivos, al final de esta aventura que espero sea el principio de una nueva, siento el deber y el placer de agradecer de corazón todas las personas que lo hicieron posible.

A mis padres, Antonio y María Rosa, a los que debo todo lo que tengo, a mi hermana Tina para convencerme que para trabajar siempre hay tiempo y a mis hermanos Marco, Giovanni y Giuseppe para ayudarme en los momentos de necesidad.

A Jesús y Mila por toda la ayuda que nos dieron y por aceptarme en su familia como un hijo desde el primer momento. A Borja y Jesús.

A todos los amigos, porque su amistad me ayuda a perseguir siempre nuevos retos. En particular al grupo de la Cofradía del “Pursé Negar” de Garlasco y de la “Lippa di Alagna”, el de Verbagna, de Villaviciosa, de Cabranes, de la Asociación de micología de Palencia, de Bilbao, Madrid y a los amigos que me acogieron durante mis estancias en Cáceres. A mis antiguos compañeros, tanto de mi carrera laboral como académica, en particular a los de Roma.

En el medio de estos agradecimientos deseo agradecer a quien considero el verdadero padre de este trabajo. Quiero dar mil gracias a José Carmelo Adsuar porque sin su proactividad, pasión científica y disponibilidad, esto trabajo no habría ni empezado ni tampoco se habría podido llevar a cabo. Mil gracias para asistirme activamente en la realización de todas las fases del trabajo, desde su planificación hasta a su conclusión. Un gracias particular va también a Narcis

Gusi por creer y involucrarse desde el primer momento en el proyecto. Este proyecto, tampoco habría podido empezar sin la ayuda y la colaboración de Juan Andrés Oria de Rueda Salgueiro, director de la Cátedra de Micología del Campus de Palencia. Un agradecimiento especial va también a la empresa Mundo Reishi por proporcionar el polvo de reishi y la harina de algarrobo utilizadas en el estudio y a Raúl Fraile y María Virginia Ozcariz por su ayuda.

Un enorme gracias va a las Asociaciones de fibromialgia que han colaborado en el estudio, a sus presidentas y a todas las mujeres que han participado. Un gracias particular va a Pilar de la Asociación de Palencia y a Juncal, Cristina y Pilar de la Asociación de Salamanca. Y también a su estupendo personal.

Hay otros grupos de compañero y amigos sin los cuales habría sido prácticamente imposible llevar a cabo este estudio. Nunca dejaré de agradecer a Daniel Collado-Mateo, Francisco Javier Domínguez-Muñoz, Miguel Ángel García-Gordillo, Juan Pedro Martín-Martínez por su ayuda. Gracias a Pedro Olivares por su soporte científico.

Quiero también agradecer y enviar un recuerdo especial a Faico y a los amigos del Buckingham que me acogieron en su casa como un hermano: Miguel, Chiqui, Miriam, Luis y a la familia de Adsuar, a Angie y a Gabriel.

A toda la estructura, tanto académica como organizativa, de la Universidad de Extremadura por que gracias a su organización y eficiencia me han hecho siempre sentir cerca aunque estuviese lejos, facilitándome la realización de todos los trámites administrativos.

Finalmente, gracias a mi mujer Laura. Aquel día, en el “Cortile del Broletto” de Pavia, durante las celebraciones por la consigna de los diplomas a los

estudiantes con matrícula de honor, cuando te vi - que aun casi no nos conocíamos - pensé: "Hoy he ganado dos Laureas". Porque ya sabía que contigo podría conseguir grandes "Cosas". Y tenía razón, porque las cosas mejores que he conseguido hasta hoy las he conseguidas contigo. Entonces, gracias por tus consejos, por tu ayuda, por tu comprensión y paciencia, en fin, mil gracias por todo, porque sin ti no sería lo mismo. Te quiero mucho.

BIBLIOGRAFIA

- [1] J. W. Busse, S. Ebrahim, G. Connell, et al. "Systematic review and network meta-analysis of interventions for fibromyalgia: a protocol," *Syst Rev*, vol. 2, p. 18, 2013.
- [2] W. R. Gowers. "A Lecture on Lumbago: Its Lessons and Analogues: Delivered at the National Hospital for the Paralysed and Epileptic," *British Medical Journal*, vol. 1, no. 2246, pp. 117-121, 1904.
- [3] E. F. Traut. "Fibrositis," *Journal of the American Geriatrics Society*, vol. 16, no. 5, pp. 531-538, 1968.
- [4] M. Yunus, A. T. Masi, J. J. Calabro, K. A. Miller, S. L. Feigenbaum. "Primary fibromyalgia (fibrositis): clinical study of 50 patients with matched normal controls," *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, vol. 11, no. 1, pp. 151-171, 1981.
- [5] P. K. Hench, M. M. Mitler. "Fibromyalgia. 1. Review of a common rheumatologic syndrome," *Postgrad Med*, vol. 80, no. 7, pp. 47-56, 1986.
- [6] P. K. Hench, M. M. Mitler. "Fibromyalgia. 2. Management guidelines and research findings," *Postgrad Med*, vol. 80, no. 7, pp. 57-64, 69, 1986.
- [7] Anónimo. "Fibromyalgia: the Copenhagen Declaration," *Lancet*, vol. 340, pp. 663-664, 1992.
- [8] WHO. "Internacional Statistical Classification of Diseases and Related Problems. ICD-10. Geneve: WHO, 1992.
- [9] B. N. Merskey H. "Classification of chronic pain: descriptions of chronic pain syndromes and definition of pain terms. Seattle: Internaciona Association for Study of Pain (IASP Press), 1994., 1994.
- [10] A. Collado, J. Alijotas, P. Benito, et al. "Consensus report on the diagnosis and treatment of fibromyalgia in Catalonia," *Med Clin (Barc)*, vol. 118, no. 19, pp. 745-749, 2002.
- [11] F. Wolfe, H. A. Smythe, M. B. Yunus, et al. "The American College of Rheumatology 1990 Criteria for the Classification of Fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee," *Arthritis and Rheumatism*, vol. 33, no. 2, pp. 160-172, 1990.
- [12] F. Wolfe, D. J. Clauw, M.-A. Fitzcharles, et al. "The American College of Rheumatology Preliminary Diagnostic Criteria for Fibromyalgia and Measurement of Symptom Severity," *Arthritis Care and Research*, vol. 62, no. 5, pp. 600-610, 2010.
- [13] F. Wolfe, D. J. Clauw, M.-A. Fitzcharles, et al. "Fibromyalgia criteria and severity scales for clinical and epidemiological studies: a modification of the ACR Preliminary Diagnostic Criteria for Fibromyalgia," *The Journal of rheumatology*, vol. 38, no. 6, pp. 1113-1122, 2011.
- [14] D. J. Clauw. Fibromyalgia and Related Conditions. In: *Mayo Clinic Proceedings*, pp. 680-692: Elsevier: 2015.
- [15] G. W. Jay, R. L. Barkin. "Fibromyalgia," *Disease-a-Month*, vol. 61, no. 3, pp. 66-111, 2015.

- [16] A. Chandran, C. Schaefer, K. Ryan, et al. "The comparative economic burden of mild, moderate, and severe fibromyalgia: results from a retrospective chart review and cross-sectional survey of working-age US adults," *Journal of Managed Care Pharmacy*, vol. 18, no. 6, pp. 415-426, 2012.
- [17] A. Sicras-Mainar, J. Rejas, R. Navarro, et al. "Treating patients with fibromyalgia in primary care settings under routine medical practice: a claim database cost and burden of illness study," *Arthritis Research & Therapy*, vol. 11, no. 2, p. R54, 2009.
- [18] D. L. Goldenberg. "Multidisciplinary modalities in the treatment of fibromyalgia," *Journal of Clinical Psychiatry*, vol. 69 Suppl 2, pp. 30-34, 2008.
- [19] M. B. Yunus. "Psychological aspects of fibromyalgia syndrome: a component of the dysfunctional spectrum syndrome," *Bailliere's Clinical Rheumatology*, vol. 8, no. 4, pp. 811-837, 1994.
- [20] D. J. Wallace, D. J. Clauw. "Fibromyalgia and other central pain syndromes", Lippincott Williams & Wilkins, 2005.
- [21] F. Wolfe, K. Ross, J. Anderson, I. J. Russell, L. Hebert. "The prevalence and characteristics of fibromyalgia in the general population," *Arthritis and Rheumatism*, vol. 38, no. 1, pp. 19-28, 1995.
- [22] M. B. Yunus, F. inanici. Chapter 1 - Fibromyalgia Syndrome: Clinical Features, Diagnosis, and Biopathophysiologic Mechanisms. In: *Myofascial Pain and Fibromyalgia (Second Edition)*, Rachlin ESRS Ed., pp. 3-31, Saint Louis: Mosby: 2002.
- [23] M. Zoppi, M. Maresca. "Symptoms accompanying fibromyalgia," *Reumatismo*, vol. 60, no. 3, pp. 217-220, 2008.
- [24] G. A. McCain. Fibromyalgia and myofascial pain. In: *Textbook of pain*, Wall PD, Melzack R. Ed., pp. 475-493, Edimburg: Churchill Livingstone: 1994.
- [25] M. B. Yunus, F. Inanici, J. C. Aldag, R. F. Mangold. "Fibromyalgia in men: comparison of clinical features with women," *Journal of Rheumatology*, vol. 27, no. 2, pp. 485-490, 2000.
- [26] D. L. Goldenberg. "Fibromyalgia syndrome: An emerging but controversial condition," *JAMA*, vol. 257, no. 20, pp. 2782-2787, 1987.
- [27] A. Bengtsson, K. G. Henriksson, L. Jorfeldt, et al. "Primary Fibromyalgia: A Clinical and Laboratory Study of 55 Patients," *Scandinavian Journal of Rheumatology*, vol. 15, no. 3, pp. 340-347, 1986.
- [28] H. Moldofsky. "Chronobiological influences on fibromyalgia syndrome: theoretical and therapeutic implications," *Bailliere's Clinical Rheumatology*, vol. 8, no. 4, pp. 801-810, 1994.
- [29] K. P. White, M. Harth, M. Speechley, T. Ostbye. "A general population study of fibromyalgia tender points in noninstitutionalized adults with chronic widespread pain," *The Journal of rheumatology*, vol. 27, no. 11, pp. 2677-2682, 2000.
- [30] L. Ryvarden. "Studies in Neotropical Polypores 2: A Preliminary Key to Neotropical Species of Ganoderma with a Laccate Pileus," *Mycologia*, vol. 92, no. 1, pp. 180-191, 2000.

- [31] P. K. Buchanan. "A taxonomic overview of the genus Ganoderma with special reference to species of medicinal and neutraceutical importance," In: *Proceedings of the International Symposium on Ganoderma Science*, Auckland, Nueva Zelanda, 2001.
- [32] X.-C. Wang, R.-J. Xi, Y. Li, D.-M. Wang, Y.-J. Yao. "The Species Identity of the Widely Cultivated Ganoderma, G. lucidum (Ling-zhi), in China," *PloS One*, vol. 7, no. 7, p. e40857, 2012.
- [33] J. Suárez-Medellín, M. Luna-Rodríguez, G. Mendoza, et al. "Caracterización morfológica y molecular de una cepa silvestre mexicana perteneciente al género Ganoderma," *Revista mexicana de micología*, vol. 36, pp. 33-40, 2012.
- [34] L.-W. Zhou, Y. Cao, S.-H. Wu, et al. "Global diversity of the Ganoderma lucidum complex (Ganodermataceae, Polyporales) inferred from morphology and multilocus phylogeny," *Phytochemistry*, vol. 114, pp. 7-15, 2014.
- [35] R. R. M. Paterson. "Ganoderma – A therapeutic fungal biofactory," *Phytochemistry*, vol. 67, no. 18, pp. 1985-2001, 2006.
- [36] T. K. Yun. "Update from Asia. Asian studies on cancer chemoprevention," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 889, pp. 157-192, 1999.
- [37] S. T. Chang, J. A. Buswell. "Medicinal mushrooms - a prominent source of nutriceuticals for the 21st century," *Current Topics in Nutraceutical Research*, vol. 1, no. 4, pp. 257-280, 2003.
- [38] S. Wachtel-Galor, J. Yuen, J. A. Buswell, I. F. F. Benzie. Ganoderma lucidum (Lingzhi or Reishi): A Medicinal Mushroom. In: *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*, Benzie IFF, Wachtel-Galor S Eds., Boca Raton (FL): 2011.
- [39] A. H. Pharmacopoeia. Reishi Mushroom. In, Scotts Valley, CA 95073 US: American Herbal Pharmacopoeia: 2006.
- [40] K. Koyama, T. Imaizumi, M. Akiba, et al. "Antinociceptive components of Ganoderma lucidum," *Planta Medica*, vol. 63, no. 3, pp. 224-227, 1997.
- [41] C. Han. "Antinociceptive Activity of Agaricoglycerides Extracted from Mycelium of Ling Zhi or Reishi Medicinal Mushroom, Ganoderma lucidum (W. Curt.: Fr.) P. Karst. (Aphyllophoromycetideae)," vol. 12, no. 3, pp. 273-278, 2010.
- [42] Q. P. Chu, L. E. Wang, X. Y. Cui, et al. "Extract of Ganoderma lucidum potentiates pentobarbital-induced sleep via a GABAergic mechanism," *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, vol. 86, no. 4, pp. 693-698, 2007.
- [43] K. Honda, Y. Komoda, S. Inoue. "Sleep-promoting effects of Ganoderma extracts in rats: comparison between long-term and acute administrations," *Tokyo Ika Shika Daigaku Iyo Kizai Kenkyusho Hokoku*, vol. 22, pp. 77-82, 1988.
- [44] L. Yu, H. Wei. "The Hypnotic and Sedative Actions of the Spores of Ganoderma lucidum (Curt.: Fr.) P. Karst. (Aphyllophoromycetideae) in Mice," vol. 2, no. 4, p. 6, 2000.
- [45] X. Y. Cui, S. Y. Cui, J. Zhang, et al. "Extract of Ganoderma lucidum prolongs sleep time in rats," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 139, no. 3, pp. 796-800, 2012.

- [46] C. Y. Lai, J. T. Hung, H. H. Lin, et al. "Immunomodulatory and adjuvant activities of a polysaccharide extract of *Ganoderma lucidum* in vivo and in vitro," *Vaccine*, vol. 28, no. 31, pp. 4945-4954, 2010.
- [47] P. Batra, A. K. Sharma, R. Khajuria. "Probing Lingzhi or Reishi medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* (higher Basidiomycetes): a bitter mushroom with amazing health benefits," *International Journal of Medicinal Mushrooms*, vol. 15, no. 2, pp. 127-143, 2013.
- [48] M. Kozarski, A. Klaus, M. Niksic, et al. "Antioxidative and immunomodulating activities of polysaccharide extracts of the medicinal mushrooms *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Ganoderma lucidum* and *Phellinus linteus*," *Food Chemistry*, vol. 129, no. 4, pp. 1667-1675, 2011.
- [49] L. Ye, X. Zheng, J. Zhang, et al. "Composition Analysis and Immunomodulatory Capacity of Peptidoglycan from Ling Zhi or Reishi Medicinal Mushroom, *Ganoderma lucidum* (W. Curt.: Fr.) P. Karst. Strain 119 (Aphyllophoromycetideae)," vol. 12, no. 2, pp. 157-165, 2010.
- [50] R. Rubel, H. S. Dalla Santa, S. J. Bonatto, et al. "Medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* (Leyss: Fr) Karst. triggers immunomodulatory effects and reduces nitric oxide synthesis in mice," *Journal of Medicinal Food*, vol. 13, no. 1, pp. 142-148, 2010.
- [51] Q.-z. Li, X.-f. Wang, T.-w. Bao, et al. "In vitro Synthesis of a Recombinant Fungal Immunomodulatory Protein from Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom, *Ganoderma lucidum* (W.Curt.:Fr.) P.Karst. (Aphyllophoromycetideae) and Analysis of Its Immunomodulatory Activity," *International Journal of Medicinal Mushrooms*, vol. 12, no. 4, pp. 347-358, 2010.
- [52] C. Liang, S. Zhang, Z. Liu, F. Sun. "Ganoderma lucidum immunomodulatory protein(Lz-8) expressed in *Pichia pastoris* and the identification of immunocompetence," *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*, vol. 25, no. 3, pp. 441-447, 2009.
- [53] L. Guo, J. Xie, Y. Ruan, et al. "Characterization and immunostimulatory activity of a polysaccharide from the spores of *Ganoderma lucidum*," *International Immunopharmacology*, vol. 9, no. 10, pp. 1175-1182, 2009.
- [54] R. Rubel, H. S. D. Santa, L. C. Fernandes, et al. "High Immunomodulatory and Preventive Effects Against Sarcoma 180 in Mice Fed with Ling Zhi or Reishi Mushroom *Ganoderma lucidum* (W. Curt.: Fr.) P. Karst. (Aphyllophoromycetideae) Mycelium," vol. 10, no. 1, pp. 37-48, 2008.
- [55] X.-L. Zhu, A.-F. Chen, Z.-B. Lin. "Ganoderma lucidum polysaccharides enhance the function of immunological effector cells in immunosuppressed mice," *J Ethnopharmacol*, vol. 111, no. 2, pp. 219-226, 2007.
- [56] Z. Ji, Q. Tang, J. Zhang, et al. "Immunomodulation of RAW264.7 macrophages by GLIS, a proteopolysaccharide from *Ganoderma lucidum*," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 112, no. 3, pp. 445-450, 2007.
- [57] S. Mojadadi, M. Ebtekar, Z. M. Hassan. "Immunomodulatory Activity of *Ganoderma lucidum* (W.Curt.:Fr.) P. Karst. (Ling Zhi, Reishi) Polysaccharide Extract on Delayed Type Hypersensitivity," vol. 8, no. 1, pp. 57-61, 2006.

- [58] P. Y. Wang, S. Z. Wang, S. Q. Lin, Z. B. Lin. "Comparison of the immunomodulatory effects of spore polysaccharides and broken spore polysaccharides isolated from *Ganoderma lucidum* on murine splenic lymphocytes and peritoneal macrophages in vitro," *Beijing Da Xue Xue Bao*, vol. 37, no. 6, pp. 569-574, 2005.
- [59] Z.-B. Lin. "Cellular and Molecular Mechanisms of Immuno-modulation by *Ganoderma lucidum*," *Journal of Pharmacological Sciences*, vol. 99, no. 2, pp. 144-153, 2005.
- [60] W. K. Chan, D. T. Lam, H. K. Law, et al. "Ganoderma lucidum mycelium and spore extracts as natural adjuvants for immunotherapy," *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, vol. 11, no. 6, pp. 1047-1057, 2005.
- [61] S.-W. Lai, J.-H. Lin, S.-S. Lai, Y.-L. Wu. "Influence of *Ganoderma lucidum* on Blood Biochemistry and Immunocompetence in Horses," *The American Journal of Chinese Medicine*, vol. 32, no. 06, pp. 931-940, 2004.
- [62] C. M. Chien, J.-L. Cheng, W.-T. Chang, et al. "Polysaccharides of *Ganoderma lucidum* alter cell immunophenotypic expression and enhance CD56+ NK-cell cytotoxicity in cord blood," *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, vol. 12, no. 21, pp. 5603-5609, 2004.
- [63] Y. Gao, S. Zhou. "The Immunomodulating Effects of *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. (Ling Zhi, Reishi Mushroom) (Aphylloromycetideae)," vol. 4, no. 1, p. 11, 2002.
- [64] L. S. M. Ooi, V. E. C. Ooi, M. C. Fung. "Induction of Immunomodulatory Cytokine Gene Expression by *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. Polysaccharide in the Mouse," vol. 3, no. 2-3, p. 1, 2001.
- [65] Y. He, R. Li, Q. Chen, et al. "Chemical studies on immunologically active polysaccharides of *Ganoderma lucidum*(Leyss. ex Fr.) Karst," *China Journal of Chinese Materia Medica*, vol. 17, no. 4, pp. 226-228, 256, 1992.
- [66] W. Zhao, X. Jiang, W. Deng, et al. "Antioxidant activities of *Ganoderma lucidum* polysaccharides and their role on DNA damage in mice induced by cobalt-60 gamma-irradiation," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 50, no. 2, pp. 303-309, 2012.
- [67] Q. Yang, S. Wang, Y. Xie, J. Sun, J. Wang. "HPLC analysis of *Ganoderma lucidum* polysaccharides and its effect on antioxidant enzymes activity and Bax, Bcl-2 expression," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 46, no. 2, pp. 167-172, 2010.
- [68] N. P. Sudheesh, T. A. Ajith, V. Ramnath, K. K. Janardhanan. "Therapeutic potential of *Ganoderma lucidum* (Fr.) P. Karst. against the declined antioxidant status in the mitochondria of post-mitotic tissues of aged mice," *Clinical Nutrition*, vol. 29, no. 3, pp. 406-412, 2010.
- [69] W. Liu, H. Wang, X. Pang, W. Yao, X. Gao. "Characterization and antioxidant activity of two low-molecular-weight polysaccharides purified from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 46, no. 4, pp. 451-457, 2010.

- [70] R. Saltarelli, P. Ceccaroli, M. Iotti, et al. "Biochemical characterisation and antioxidant activity of mycelium of *Ganoderma lucidum* from Central Italy," *Food Chemistry*, vol. 116, no. 1, pp. 143-151, 2009.
- [71] J. Jia, X. Zhang, Y.-S. Hu, et al. "Evaluation of in vivo antioxidant activities of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in STZ-diabetic rats," *Food Chemistry*, vol. 115, no. 1, pp. 32-36, 2009.
- [72] E. Cherian, N. P. Sudheesh, K. K. Janardhanan, G. Patani. "Free-radical scavenging and mitochondrial antioxidant activities of Reishi-Ganoderma lucidum (Curt: Fr) P. Karst and Arogyapacha-Trichopus zeylanicus Gaertn extracts," *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, vol. 20, no. 4, pp. 289-307, 2009.
- [73] J. Sun, H. He, B. J. Xie. "Novel antioxidant peptides from fermented mushroom *Ganoderma lucidum*," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, no. 21, pp. 6646-6652, 2004.
- [74] M. Zhu, Q. Chang, L. K. Wong, F. S. Chong, R. C. Li. "Triterpene antioxidants from *ganoderma lucidum*," *Phytother Res*, vol. 13, no. 6, pp. 529-531, 1999.
- [75] S.-H. Wang, C.-J. Liang, Y.-W. Weng, et al. "Ganoderma lucidum polysaccharides prevent platelet-derived growth factor-stimulated smooth muscle cell proliferation in vitro and neointimal hyperplasia in the endothelial-denuded artery in vivo," *Journal of Cellular Physiology*, vol. 227, no. 8, pp. 3063-3071, 2012.
- [76] O. M. Oluba, E. C. Onyeneke, G. C. Ojeh, B. O. Idonije. "Evaluation of the hypoglycemic effect of aqueous extract of *Ganoderma lucidum* on STZ-induced diabetic wistar rats," *Annals Biol Res*, vol. 1, pp. 41-49, 2010.
- [77] S. Fatmawati, K. Shimizu, R. Kondo. "Ganoderol B: a potent alpha-glucosidase inhibitor isolated from the fruiting body of *Ganoderma lucidum*," *Phytomedicine*, vol. 18, no. 12, pp. 1053-1055, 2011.
- [78] Y. Gao, G. Chen, X. Dai, J. Ye, S. Zhou. "A Phase I/II Study of Ling Zhi Mushroom *Ganoderma lucidum* (W.Curt.:Fr.) Lloyd (Aphyllophoromycetideae) Extract in Patients with Coronary Heart Disease," *International Journal of Medicinal Mushrooms*, vol. 6, no. 4, p. 8, 2004.
- [79] K. Winther, J. Mehlsen, E. Rein, A. Hansen, T. Goino. "4P-1201 A combination of Japanese ginseng, *Ganoderma lucidum* and *Trametes versicolor*, referred to as the Goino procedure, can lower blood glucose and LDL-cholesterol in patients with NIDDM," *Atherosclerosis Supplements*, vol. 4, no. 2, p. 339, 2003.
- [80] W. Q. Chen, S. H. Luo, H. Z. Li, H. Yang. "Effects of *ganoderma lucidum* polysaccharides on serum lipids and lipoperoxidation in experimental hyperlipidemic rats," *China Journal of Chinese Materia Medica*, vol. 30, no. 17, pp. 1358-1360, 2005.
- [81] Y. Kabir, S. Kimura, T. Tamura. "Dietary effect of *Ganoderma lucidum* mushroom on blood pressure and lipid levels in spontaneously hypertensive rats (SHR)," *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, vol. 34, no. 4, pp. 433-438, 1988.

- [82] A. Rossi, A. C. Di Lollo, M. P. Guzzo, et al. "Fibromyalgia and nutrition: what news?," *Clin Exp Rheumatol*, vol. 33, no. 1 Suppl 88, pp. S117-125, 2015.
- [83] Y. Gao, J. Lan, X. Dai, J. Ye, S. Zhou. "A Phase I/II Study of Ling Zhi Mushroom Ganoderma lucidum (W.Curt.:Fr.)Lloyd (Aphyllophoromycetideae) Extract in Patients with Type II Diabetes Mellitus," *International Journal of Medicinal Mushrooms*, vol. 6, no. 1, p. 8, 2004.
- [84] M. N. Yanmaz, M. Mert, M. Korkmaz. "The prevalence of fibromyalgia syndrome in a group of patients with diabetes mellitus," *Rheumatology International*, vol. 32, no. 4, pp. 871-874, 2012.
- [85] K.-W. Oh, C.-K. Lee, Y.-S. Kim, S.-K. Eo, S.-S. Han. "Antiherpetic activities of acidic protein bound polysaccharide isolated from Ganoderma lucidum alone and in combinations with acyclovir and vidarabine," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 72, no. 1-2, pp. 221-227, 2000.
- [86] Y.-S. Kim, S.-K. Eo, K.-W. Oh, C.-K. Lee, S.-S. Han. "Antiherpetic activities of acidic protein bound polysaccharide isolated from Ganoderma lucidum alone and in combinations with interferons," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 72, no. 3, pp. 451-458, 2000.
- [87] S. K. Eo, Y. S. Kim, C. K. Lee, S. S. Han. "Antiherpetic activities of various protein bound polysaccharides isolated from Ganoderma lucidum," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 68, no. 1-3, pp. 175-181, 1999.
- [88] Y. Hijikata, A. Yasuhara, Y. Sahashi. "Effect of an Herbal Formula Containing Ganoderma lucidum on Reduction of Herpes Zoster Pain: A Pilot Clinical Trial," *The American Journal of Chinese Medicine*, vol. 33, no. 04, pp. 517-523, 2005.
- [89] Y. Hijikata, S. Yamada, A. Yasuhara. "Herbal mixtures containing the mushroom Ganoderma lucidum improve recovery time in patients with herpes genitalis and labialis," *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, vol. 13, no. 9, pp. 985-987, 2007.
- [90] R. W. Simms. "Fibromyalgia syndrome: current concepts in pathophysiology, clinical features, and management," *Arthritis and Rheumatism*, vol. 9, no. 4, pp. 315-328, 1996.
- [91] B. Adak, Í. Tekeoglu, L. Ediz, et al. "Fibromyalgia frequency in hepatitis B carriers," *JCR: Journal of Clinical Rheumatology*, vol. 11, no. 3, pp. 157-159, 2005.
- [92] M. Ozsahin, I. Gonen, F. Ermis, et al. "The prevalence of fibromyalgia among patients with hepatitis B virus infection," *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, vol. 6, no. 9, pp. 804-808, 2013.
- [93] H. E. Merskey. "Classification of chronic pain: Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms," *Pain* 1986.
- [94] C. J. Woolf. "Evidence for a central component of post-injury pain hypersensitivity," *Nature* 1983.
- [95] T. J.Coderre, J. Katz, A. L. Vaccarino, R. Melzack. "Contribution of central neuroplasticity to pathological pain: review of clinical and experimental evidence," *Pain*, vol. 52, no. 3, pp. 259-285, 1993.

- [96] C. J. Woolf, M. W. Salter. "Neuronal plasticity: increasing the gain in pain," *Science*, vol. 288, no. 5472, pp. 1765-1768, 2000.
- [97] I. COUNCIL. "Pain: Current Understanding of Assessment, Management, and Treatments."
- [98] N. Sheena, T. Ajith, K. Janardhanan. "Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of Ganoderma lucidum occurring in South India," *Pharmaceutical Biology*, vol. 41, no. 4, pp. 301-304, 2003.
- [99] E. A. Wolpert. "A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System for Sleep Stages of Human Subjects," *Archives of General Psychiatry*, vol. 20, no. 2, p. 246, 1969.
- [100] R. Berry, R. Brooks, C. Gamaldo, et al. "The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology and technical specifications, version 2.0," *Darien, Illinois: American Academy of Sleep Medicine*, p. 47, 2012.
- [101] P. Parmeggiani. "Physiological regulation in sleep," *Principles and practice of sleep medicine*, pp. 169-178, 2000.
- [102] M. A. Carskadon, W. C. Dement. "Normal human sleep: an overview," *Principles and practice of sleep medicine*, vol. 2, pp. 16-25, 2000.
- [103] Grupo de Trabajo de la Guía de Práctica Clínica para el Manejo de Pacientes con Insomnio en Atención Primaria. Guía de Práctica Clínica para el Manejo de Pacientes con Insomnio en Atención Primaria. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad y Política Social. Unidad de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. Agencia Laín Entralgo.
- [104] Q.-P. Chu, L.-E. Wang, X.-Y. Cui, et al. "Extract of Ganoderma lucidum potentiates pentobarbital-induced sleep via a GABAergic mechanism," *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, vol. 86, no. 4, pp. 693-698, 2007.
- [105] K. H. Jung, E. Ha, M. Kim, et al. "Ganoderma lucidum extract stimulates glucose uptake in L6 rat skeletal muscle cells," *Korean Journal Of Physiology And Pharmacology*, vol. 10, p. P, 2006.
- [106] H. N. Zhang, Z. B. Lin. "Hypoglycemic effect of Ganoderma lucidum polysaccharides," *Acta Pharmacologica Sinica*, vol. 25, no. 2, pp. 191-195, 2004.
- [107] Z. Xu, X. Chen, Z. Zhong, L. Chen, Y. Wang. "Ganoderma lucidum polysaccharides: immunomodulation and potential anti-tumor activities," *American Journal of Chinese Medicine*, vol. 39, no. 1, pp. 15-27, 2011.
- [108] Y. Gao, M. Huang, Z.-B. Lin, S. Zhou. "Hepatoprotective Activity and the Mechanisms of Action of Ganoderma lucidum (Curt.:Fr.) P. Karst. (Ling Zhi, Reishi Mushroom) (Aphyllophoromycetideae) (Review)," *International Journal of Medicinal Mushrooms*, vol. 5, no. 2, p. 22, 2003.
- [109] H.-N. Zhang, J.-H. He, L. Yuan, Z.-B. Lin. "In vitro and in vivo protective effect of Ganoderma lucidum polysaccharides on alloxan-induced pancreatic islets damage," *Life Sciences*, vol. 73, no. 18, pp. 2307-2319, 2003.
- [110] T. G. Pillai, M. John, G. Sara Thomas. "Prevention of cisplatin induced nephrotoxicity by terpenes isolated from Ganoderma lucidum occurring in

Southern Parts of India," *Experimental and Toxicologic Pathology*, vol. 63, no. 1–2, pp. 157-160, 2011.

[111] M. Noguchi, T. Kakuma, K. Tomiyasu, et al. "Randomized clinical trial of an ethanol extract of Ganoderma lucidum in men with lower urinary tract symptoms," *Asian J Androl*, vol. 10, no. 5, pp. 777-785, 2008.

[112] M. Noguchi, T. Kakuma, K. Tomiyasu, et al. "Effect of an extract of Ganoderma lucidum in men with lower urinary tract symptoms: a double-blind, placebo-controlled randomized and dose-ranging study," *Asian J Androl*, vol. 10, no. 4, pp. 651-658, 2008.

[113] C. Y. He, W. D. Li, S. X. Guo, S. Q. Lin, Z. B. Lin. "Effect of polysaccharides from Ganoderma lucidum on streptozotocin-induced diabetic nephropathy in mice," *J Asian Nat Prod Res*, vol. 8, no. 8, pp. 705-711, 2006.

[114] N. Futrakul, T. Panichakul, P. Butthep, et al. "Ganoderma lucidum suppresses endothelial cell cytotoxicity and proteinuria in persistent proteinuric focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) nephrosis," *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, vol. 31, no. 4, pp. 267-272, 2004.

[115] N. Futrakul, M. Boonyen, S. Patumraj, et al. "Treatment of glomerular endothelial dysfunction in steroid-resistant nephrosis with Ganoderma lucidum, vitamins C, E and vasodilators," *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, vol. 29, no. 3-4, pp. 205-210, 2003.

[116] N. Futrakul, M. Boongen, P. Tosukhowong, S. Patumraj, P. Futrakul. "Treatment with vasodilators and crude extract of Ganoderma lucidum suppresses proteinuria in nephrosis with focal segmental glomerulosclerosis," *Nephron*, vol. 92, no. 3, pp. 719-720, 2002.

[117] Y. H. Shieh, C. F. Liu, Y. K. Huang, et al. "Evaluation of the hepatic and renal-protective effects of Ganoderma lucidum in mice," *American Journal of Chinese Medicine*, vol. 29, no. 3-4, pp. 501-507, 2001.

[118] Y. Gao, X.-g. Deng, Q.-n. Sun, Z.-q. Zhong. "Ganoderma spore lipid inhibits N-methyl-N-nitrosourea-induced retinal photoreceptor apoptosis in vivo," *Experimental Eye Research*, vol. 90, no. 3, pp. 397-404, 2010.

[119] T. A. Ajith, N. P. Sudheesh, D. Roshny, G. Abishek, K. K. Janardhanan. "Effect of Ganoderma lucidum on the activities of mitochondrial dehydrogenases and complex I and II of electron transport chain in the brain of aged rats," *Experimental Gerontology*, vol. 44, no. 3, pp. 219-223, 2009.

[120] H. Ding, M. Zhou, R. P. Zhang, S. L. Xu. "Ganoderma lucidum extract protects dopaminergic neurons through inhibiting the production of inflammatory mediators by activated microglia]," *Sheng Li Xue Bao*, vol. 62, no. 6, pp. 547-554, 2010.

[121] R. Zhang, S. Xu, Y. Cai, et al. "Ganoderma lucidum Protects Dopaminergic Neuron Degeneration through Inhibition of Microglial Activation," *Evid Based Complement Alternat Med*, vol. 2011, p. 156810, 2011.

[122] S.-Y. Li, D. Yang, Z. J. Fu, et al. "Lutein enhances survival and reduces neuronal damage in a mouse model of ischemic stroke," *Neurobiology of Disease*, vol. 45, no. 1, pp. 624-632, 2012.

- [123] Y. Zhou, Z. Q. Qu, Y. S. Zeng, et al. "Neuroprotective effect of preadministration with Ganoderma lucidum spore on rat hippocampus," *Exp Toxicol Pathol*, vol. 64, no. 7-8, pp. 673-680, 2012.
- [124] Z.-Y. Zhou, Y.-P. Tang, J. Xiang, et al. "Neuroprotective effects of water-soluble Ganoderma lucidum polysaccharides on cerebral ischemic injury in rats," *J Ethnopharmacol*, vol. 131, no. 1, pp. 154-164, 2010.
- [125] H. B. Zhao, S. Q. Lin, J. H. Liu, Z. B. Lin. "Polysaccharide extract isolated from ganoderma lucidum protects rat cerebral cortical neurons from hypoxia/reoxygenation injury," *J Pharmacol Sci*, vol. 95, no. 2, pp. 294-298, 2004.
- [126] S. Pinweha, P. Wanikiat, Y. Sanvarinda, P. Supavilai. "The signaling cascades of Ganoderma lucidum extracts in stimulating non-amyloidogenic protein secretion in human neuroblastoma SH-SY5Y cell lines," *Neuroscience Letters*, vol. 448, no. 1, pp. 62-66, 2008.
- [127] X. Q. Zhang, F. C. Ip, D. M. Zhang, et al. "Triterpenoids with neurotrophic activity from Ganoderma lucidum," *Nat Prod Res*, vol. 25, no. 17, pp. 1607-1613, 2011.
- [128] Y. Gao, W. Tang, H. Gao, et al. "Ganoderma lucidum polysaccharide fractions accelerate healing of acetic acid-induced ulcers in rats," *Journal of Medicinal Food*, vol. 7, no. 4, pp. 417-421, 2004.
- [129] Y. Gao, S. Zhou, J. Wen, M. Huang, A. Xu. "Mechanism of the antiulcerogenic effect of Ganoderma lucidum polysaccharides on indomethacin-induced lesions in the rat," *Life Sciences*, vol. 72, no. 6, pp. 731-745, 2002.
- [130] A. Nahata, V. K. Dixit. "Ganoderma lucidum is an inhibitor of testosterone-induced prostatic hyperplasia in rats," *Andrologia*, vol. 44, pp. 160-174, 2012.
- [131] Z. Liang, Y. T. Guo, Y. J. Yi, et al. "Ganoderma lucidum polysaccharides target a Fas/caspase dependent pathway to induce apoptosis in human colon cancer cells," *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, vol. 15, no. 9, pp. 3981-3986, 2014.
- [132] J. Loganathan, J. Jiang, A. Smith, et al. "The mushroom Ganoderma lucidum suppresses breast-to-lung cancer metastasis through the inhibition of pro-invasive genes," *International Journal of Oncology*, vol. 44, no. 6, pp. 2009-2015, 2014.
- [133] Y. Gao, X. Dai, G. Chen, J. Ye, S. Zhou. "A Randomized, Placebo-Controlled, Multicenter Study of Ganoderma lucidum (W.Curt.:Fr.) Lloyd (Aphyllophoromycetideae) Polysaccharides (Ganopoly) in Patients with Advanced Lung Cancer," *International Journal of Medicinal Mushrooms*, vol. 5, no. 4, p. 14, 2003.
- [134] C. I. Müller, T. Kumagai, J. O'Kelly, et al. "Ganoderma lucidum causes apoptosis in leukemia, lymphoma and multiple myeloma cells," *Leukemia Research*, vol. 30, no. 7, pp. 841-848.
- [135] B. S. Sanodiya, G. S. Thakur, R. K. Baghel, G. B. Prasad, P. S. Bisen. "Ganoderma lucidum: a potent pharmacological macrofungus," *Current Pharmaceutical Biotechnology*, vol. 10, no. 8, pp. 717-742, 2009.

- [136] B. Boh, M. Berovic, J. Zhang, L. Zhi-Bin. "Ganoderma lucidum and its pharmaceutically active compounds," *Biotechnology Annual Review*, vol. 13, pp. 265-301, 2007.
- [137] R. R. Paterson. "Ganoderma - a therapeutic fungal biofactory," *Phytochemistry*, vol. 67, no. 18, pp. 1985-2001, 2006.
- [138] C.-J. Weng, G.-C. Yen. "The in vitro and in vivo experimental evidences disclose the chemopreventive effects of Ganoderma lucidum on cancer invasion and metastasis," *Clinical and Experimental Metastasis*, vol. 27, no. 5, pp. 361-369, 2010.
- [139] Q. Zhang, F. Zuo, N. Nakamura, C.-M. Ma, M. Hattori. "Metabolism and pharmacokinetics in rats of ganoderiol F, a highly cytotoxic and antitumor triterpene from Ganoderma lucidum," *Journal of Natural Medicines*, vol. 63, no. 3, pp. 304-310, 2009.
- [140] D. H. Wang, X. C. Weng. "Antitumor activity of extracts of Ganoderma lucidum and their protective effects on damaged HL-7702 cells induced by radiotherapy and chemotherapy," *China Journal of Chinese Materia Medica*, vol. 31, no. 19, pp. 1618-1622, 2006.
- [141] Y. Gao, S. Zhou. "Chemopreventive and Tumoricidal Properties of Ling Zhi Mushroom Ganoderma lucidum (W.Curt.: Fr.) Lloyd (Aphyllophoromycetideae). Part II. Mechanism Considerations (Review)," *International Journal of Medicinal Mushrooms*, vol. 6, no. 3, p. 12, 2004.
- [142] Y. Gao, W. Tank, H. Gao, J. Lan, S. Zhou. "Chemopreventive and Tumoricidal Properties of Ling Zhi Mushroom Ganoderma lucidum (W. Curt.:Fr.) Lloyd (Aphyllophoromycetideae). Part I. Preclinical and Clinical Studies (Review)," *International Journal of Medicinal Mushrooms*, vol. 6, no. 2, p. 12, 2004.
- [143] B. Lakshmi, T. A. Ajith, N. Sheena, N. Gunapalan, K. K. Janardhanan. "Antiperoxidative, anti-inflammatory, and antimutagenic activities of ethanol extract of the mycelium of Ganoderma lucidum occurring in South India," *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, vol. 23, no. S1, pp. 85-97, 2003.
- [144] H. Lu, T. Uesaka, O. Katoh, E. Kyo, H. Watanabe. "Prevention of the development of preneoplastic lesions, aberrant crypt foci, by a water-soluble extract from cultured medium of Ganoderma lucidum (Rei-shi) mycelia in male F344 rats," *Oncology Reports*, vol. 8, no. 6, pp. 1341-1345, 2001.
- [145] H. S. Kim, S. Kacew, B. M. Lee. "In vitro chemopreventive effects of plant polysaccharides (Aloe barbadensis miller, Lentinus edodes, Ganoderma lucidum and Coriolus versicolor)," *Carcinogenesis*, vol. 20, no. 8, pp. 1637-1640, 1999.
- [146] Y. J. Cui, S. H. Guan, L. X. Feng, et al. "Cytotoxicity of 9,11-dehydroergosterol peroxide isolated from Ganoderma lucidum and its target-related proteins," *Natural Product Communications*, vol. 5, no. 8, pp. 1183-1186, 2010.
- [147] C.-R. Cheng, Q.-X. Yue, Z.-Y. Wu, et al. "Cytotoxic triterpenoids from Ganoderma lucidum," *Phytochemistry*, vol. 71, no. 13, pp. 1579-1585, 2010.

- [148] S. H. Guan, J. M. Xia, M. Yang, et al. "Cytotoxic lanostanoid triterpenes from *Ganoderma lucidum*," *J Asian Nat Prod Res*, vol. 10, no. 7-8, pp. 705-710, 2008.
- [149] X.-l. Zhu, Z.-b. Lin. "Effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on proliferation and cytotoxicity of cytokine-induced killer cells," *Acta Pharmacologica Sinica*, vol. 26, no. 9, pp. 1130-1137, 2005.
- [150] Y. Nonaka, H. Ishibashi, M. Nakai, et al. "[Soothing effect of *Ganoderma lucidum* antlered form on cyclophosphamide-induced adverse reaction]," *Gan to Kagaku Ryoho*, vol. 32, no. 11, pp. 1586-1588, 2005.
- [151] T. S. Wu, L. S. Shi, S. C. Kuo. "Cytotoxicity of *Ganoderma lucidum* triterpenes," *Journal of Natural Products*, vol. 64, no. 8, pp. 1121-1122, 2001.
- [152] B. S. Min, J. J. Gao, N. Nakamura, M. Hattori. "Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their cytotoxicity against meth-A and LLC tumor cells," *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 48, no. 7, pp. 1026-1033, 2000.
- [153] C. N. Lin, W. P. Tome, S. J. Won. "Novel cytotoxic principles of Formosan *Ganoderma lucidum*," *Journal of Natural Products*, vol. 54, no. 4, pp. 998-1002, 1991.
- [154] G. Stanley, K. Harvey, V. Slivova, J. Jiang, D. Sliva. "Ganoderma lucidum suppresses angiogenesis through the inhibition of secretion of VEGF and TGF- β 1 from prostate cancer cells," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 330, no. 1, pp. 46-52, 2005.
- [155] Y. S. Song, S.-H. Kim, J.-H. Sa, et al. "Anti-angiogenic and inhibitory activity on inducible nitric oxide production of the mushroom *Ganoderma lucidum*," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 90, no. 1, pp. 17-20, 2004.
- [156] Q. Z. Cao, Z. B. Lin. "Antitumor and anti-angiogenic activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharides peptide," *Acta Pharmacologica Sinica*, vol. 25, no. 6, pp. 833-838, 2004.
- [157] A. Morigiwa, K. Kitabatake, Y. Fujimoto, N. Ikekawa. "Angiotensin converting enzyme-inhibitory triterpenes from *Ganoderma lucidum*," *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 34, no. 7, pp. 3025-3028, 1986.
- [158] S. Zhao, G. Ye, G. Fu, et al. "Ganoderma lucidum exerts anti-tumor effects on ovarian cancer cells and enhances their sensitivity to cisplatin," *Int J Oncol*, vol. 38, no. 5, pp. 1319-1327, 2011.
- [159] K. C. Kim, H. J. Jun, J. S. Kim, I. G. Kim. "Enhancement of radiation response with combined *Ganoderma lucidum* and *Duchesnea chrysanthra* extracts in human leukemia HL-60 cells," *International Journal of Molecular Medicine*, vol. 21, no. 4, pp. 489-498, 2008.
- [160] S. T. B. Chang, J.A. Safety, quality control and regulational aspects relating to mushroom nutriceuticals. In: The Free Library 2010.
- [161] T. S. Soo. "Effective dosage of the extract of *Ganoderma lucidum* in the treatment of various ailments," *Mushroom Biology and Mushroom Products; Royse, Ed; The Pennsylvania State University*, pp. 177-185, 1996.

- [162] D. Figlas, N. Curvetto. "Medicinal mushroom reishi (*Ganoderma lucidum*). Main toxicity and allergenicity studies. Dosage, posology and side effects".
- [163] J. Esteve-Vives, J. Rivera Redondo, M. Isabel Salvat Salvat, M. de Gracia Blanco, C. A. de Miquel. "Proposal for a consensus version of the Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ) for the Spanish population," *Reumatol Clin*, vol. 3, no. 1, pp. 21-24, 2007.
- [164] B. Ruiz-Roso, J. C. Quintela, E. de la Fuente, J. Haya, L. Perez-Olleros. "Insoluble carob fiber rich in polyphenols lowers total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic subjects," *Plant Foods Hum Nutr*, vol. 65, no. 1, pp. 50-56, 2010.
- [165] H. J. Zunft, W. Luder, A. Harde, et al. "Carob pulp preparation rich in insoluble fibre lowers total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic patients," *Eur J Nutr*, vol. 42, no. 5, pp. 235-242, 2003.
- [166] R. Martinez-Rodriguez, M. Navarro-Alarcon, C. Rodriguez-Martinez, J. Fonolla-Joya. "Effects on the lipid profile in humans of a polyphenol-rich carob (*Ceratonia siliqua L.*) extract in a dairy matrix like a functional food; a pilot study]," *Nutr Hosp*, vol. 28, no. 6, pp. 2107-2114, 2013.
- [167] L. Custodio, J. Patarra, F. Albericio, et al. "In vitro antioxidant and inhibitory activity of water decoctions of carob tree (*Ceratonia siliqua L.*) on cholinesterases, alpha-amylase and alpha-glucosidase," *Nat Prod Res*, pp. 1-5, 2015.
- [168] A. Agrawal, M. Mohan, S. Kasture, et al. "Antidepressant activity of *Ceratonia siliqua L.* fruit extract, a source of polyphenols," *Nat Prod Res*, vol. 25, no. 4, pp. 450-456, 2011.
- [169] P. Kersten, P. J. White, A. Tennant. "Is the pain visual analogue scale linear and responsive to change? An exploration using Rasch analysis," *Plos One*, vol. 9, no. 6, p. e99485, 2014.
- [170] A. M. Boonstra, H. R. Schiphorst Preuper, M. F. Reneman, J. B. Posthumus, R. E. Stewart. "Reliability and validity of the visual analogue scale for disability in patients with chronic musculoskeletal pain," *Int J Rehabil Res*, vol. 31, no. 2, pp. 165-169, 2008.
- [171] M. Salgueiro, J. M. Garcia-Leiva, J. Ballesteros, et al. "Validation of a Spanish version of the Revised Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQR)," *Health Qual Life Outcomes*, vol. 11, p. 132, 2013.
- [172] J. V. Luciano, J. Aguado, A. Serrano-Blanco, E. P. Calandre, C. M. Rodriguez-Lopez. "Dimensionality, reliability, and validity of the revised fibromyalgia impact questionnaire in two Spanish samples," *Arthritis Care Res (Hoboken)*, vol. 65, no. 10, pp. 1682-1689, 2013.
- [173] K. Laas, R. Roine, P. Rasanen, et al. "Health-related quality of life in patients with common rheumatic diseases referred to a university clinic," *Rheumatol Int*, vol. 29, no. 3, pp. 267-273, 2009.
- [174] H. Sintonen. "The 15D instrument of health-related quality of life: properties and applications," *Ann Med*, vol. 33, no. 5, pp. 328-336, 2001.

- [175] S. Lyubomirsky, H. S. Lepper. "A measure of subjective happiness: Preliminary reliability and construct validation," *Social indicators research*, vol. 46, no. 2, pp. 137-155, 1999.
- [176] E. Diener, R. A. Emmons, R. J. Larsen, S. Griffin. "The satisfaction with life scale," *Journal of Personality Assessment*, vol. 49, no. 1, pp. 71-75, 1985.
- [177] D. C. Park, J. M. Glass, M. Minear, L. J. Crofford. "Cognitive function in fibromyalgia patients," *Arthritis & Rheumatism*, vol. 44, no. 9, pp. 2125-2133, 2001.
- [178] J. A. Yesavage, T. Brink, T. L. Rose, et al. "Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report," *Journal of psychiatric research*, vol. 17, no. 1, pp. 37-49, 1983.
- [179] G. Vilagut, J. M. Valderas, M. Ferrer, et al. "Interpretation of SF-36 and SF-12 questionnaires in Spain: physical and mental components," *Med Clin (Barc)*, vol. 130, no. 19, pp. 726-735, 2008.
- [180] D. C. Turk, R. H. Dworkin, R. R. Allen, et al. "Core outcome domains for chronic pain clinical trials: IMMPACT recommendations," *Pain*, vol. 106, no. 3, pp. 337-345, 2003.
- [181] P. R. Olivares, N. Gusi, J. Prieto, M. A. Hernandez-Mocholi. "Fitness and health-related quality of life dimensions in community-dwelling middle aged and older adults," *Health Qual Life Outcomes*, vol. 9, p. 117, 2011.
- [182] A. Gómez-Cabello, G. Vicente-Rodríguez, U. Albers, et al. "Harmonization Process and Reliability Assessment of Anthropometric Measurements in the Elderly EXERNET Multi-Centre Study," *PloS One*, vol. 7, no. 7, p. e41752, 2012.
- [183] F. Rodriguez, N. Gusi, A. Valenzuela, et al. "Evaluation of health-related fitness in adults (I): background and protocols of the AFISAL-INEFC battery," *Apunts Educacion Fisica y Deportes*, vol. 52, pp. 54 - 75, 1998.
- [184] V. A. Aparicio, F. B. Ortega, A. Carbonell-Baeza, et al. "Relationship of weight status with mental and physical health in female fibromyalgia patients," *Obesity facts*, vol. 4, no. 6, pp. 443-448, 2011.
- [185] C. J. Jones, R. E. Rikli, J. Max, G. Noffal. "The Reliability and Validity of a Chair Sit-and-Reach Test as a Measure of Hamstring Flexibility in Older Adults," *Research Quarterly for Exercise and Sport*, vol. 69, no. 4, pp. 338-343, 1998.
- [186] R. E. Rikli, C. J. Jones. *Senior fitness test manual*. Human Kinetics, 2013.
- [187] D. Podsiadlo, S. Richardson. "The timed" Up & Go": a test of basic functional mobility for frail elderly persons," *Journal of the American Geriatrics Society*, vol. 39, no. 2, pp. 142-148, 1991.
- [188] R. E. Rikli, C. J. Jones. "Development and validation of a functional fitness test for community-residing older adults," *Journal of Aging and Physical Activity*, vol. 7, pp. 129-161, 1999.
- [189] R. E. Rikli, C. J. Jones. "Functional fitness normative scores for community-residing older adults, ages 60-94," *Journal of Aging and Physical Activity*, vol. 7, pp. 162-181, 1999.

- [190] J. M. Motyl, J. B. Driban, E. McAdams, L. L. Price, T. E. McAlindon. "Test-retest reliability and sensitivity of the 20-meter walk test among patients with knee osteoarthritis," *BMC Musculoskeletal Disorders*, vol. 14, p. 166, 2013.
- [191] P. W. Duncan, D. K. Weiner, J. Chandler, S. Studenski. "Functional reach: a new clinical measure of balance," *Journal of Gerontology*, vol. 45, no. 6, pp. M192-197, 1990.
- [192] B. L. Arnold, R. J. Schmitz. "Examination of balance measures produced by the Biomedix Stability System," *Journal of athletic training*, vol. 33, no. 4, p. 323, 1998.
- [193] T. Ito, O. Shirado, H. Suzuki, et al. "Lumbar trunk muscle endurance testing: an inexpensive alternative to a machine for evaluation," *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, vol. 77, no. 1, pp. 75-79, 1996.
- [194] P. K. Myint, C. S. Kwok, R. N. Luben, N. J. Wareham, K. T. Khaw. "Body fat percentage, body mass index and waist-to-hip ratio as predictors of mortality and cardiovascular disease," *Heart*, 2014.
- [195] S. M. Savvas, L. M. Zelencich, S. J. Gibson. "Should placebo be used routinely for chronic pain in older people?," *Maturitas*, vol. 79, no. 4, pp. 389-400, 2014.
- [196] S. Kam-Hansen, M. Jakubowski, J. M. Kelley, et al. "Altered placebo and drug labeling changes the outcome of episodic migraine attacks," *Sci Transl Med*, vol. 6, no. 218, p. 218ra215, 2014.
- [197] T. V. Macfarlane, J. McBeth, G. T. Jones, B. Nicholl, G. J. Macfarlane. "Whether the weather influences pain? Results from the EpiFunD study in North West England," *Rheumatology (Oxford)*, vol. 49, no. 8, pp. 1513-1520, 2010.
- [198] L. C. Miranda, M. Parente, C. Silva, et al. "Perceived pain and weather changes in rheumatic patients," *Acta Reumatol Port*, vol. 32, no. 4, pp. 351-361, 2007.
- [199] L. Mirzakhani, P. Pourafa. "The Association between Depression and Climatic Conditions in the Iran Way to Preventive of Depression," *Int J Prev Med*, vol. 5, no. 8, pp. 947-951, 2014.
- [200] F. Wolfe, B. T. Walitt, R. S. Katz, W. Hauser. "Social security work disability and its predictors in patients with fibromyalgia," *Arthritis Care Res (Hoboken)*, vol. 66, no. 9, pp. 1354-1363, 2014.
- [201] F. Estevez-Lopez, C. M. Gray, V. Segura-Jimenez, et al. "Independent and combined association of overall physical fitness and subjective well-being with fibromyalgia severity: the al-Andalus project," *Qual Life Res*, pp. 1-9, 2015.
- [202] M. Bartels. "Genetics of Wellbeing and Its Components Satisfaction with Life, Happiness, and Quality of Life: A Review and Meta-analysis of Heritability Studies," *Behav Genet*, vol. 45, no. 2, pp. 137-156, 2015.
- [203] R. Layard. "Economics. Measuring subjective well-being," *Science*, vol. 327, no. 5965, pp. 534-535, 2010.
- [204] J. Busner, S. D. Targum. "The clinical global impressions scale: applying a research tool in clinical practice," *Psychiatry (Edgmont)*, vol. 4, no. 7, pp. 28-37, 2007.

- [205] M. Izal, I. Montorio, R. Nuevo, G. Perez-Rojo, I. Cabrera. "Optimising the diagnostic performance of the Geriatric Depression Scale," *Psychiatry Res*, vol. 178, no. 1, pp. 142-146, 2010.
- [206] L. A. Pham-Huy, H. He, C. Pham-Huy. "Free radicals, antioxidants in disease and health," *Int J Biomed Sci*, vol. 4, no. 2, pp. 89-96, 2008.
- [207] M. Lamprecht, P. Hofmann, J. F. Greilberger, G. Schwaberger. "Increased lipid peroxidation in trained men after 2 weeks of antioxidant supplementation," *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, vol. 19, no. 4, pp. 385-399, 2009.
- [208] M. C. Gomez-Cabrera, C. Borras, F. V. Pallardo, et al. "Decreasing xanthine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats," *J Physiol*, vol. 567, no. Pt 1, pp. 113-120, 2005.
- [209] M. La Rubia, A. Rus, F. Molina, M. L. Del Moral. "Is fibromyalgia-related oxidative stress implicated in the decline of physical and mental health status?," *Clin Exp Rheumatol*, vol. 31, no. 6 Suppl 79, pp. S121-127, 2013.
- [210] P. Rossi, D. Buonocore, E. Altobelli, et al. "Improving Training Condition Assessment in Endurance Cyclists: Effects of Ganoderma lucidum and Ophiocordyceps sinensis Dietary Supplementation," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2014, p. 979613, 2014.
- [211] P. Juuso, L. Skar, M. Olsson, S. Soderberg. "Meanings of feeling well for women with fibromyalgia," *Health Care Women Int*, vol. 34, no. 8, pp. 694-706, 2013.
- [212] M. D. Cordero, E. Alcocer-Gomez, F. J. Cano-Garcia, et al. "Clinical symptoms in fibromyalgia are associated to overweight and lipid profile," *Rheumatol Int*, vol. 34, no. 3, pp. 419-422, 2014.
- [213] M. A. Newman, K. K. Pettee, K. L. Storti, et al. "Monthly variation in physical activity levels in postmenopausal women," *Med Sci Sports Exerc*, vol. 41, no. 2, pp. 322-327, 2009.
- [214] N. M. Delzenne, L. B. Bindels. "Gut microbiota: Ganoderma lucidum, a new prebiotic agent to treat obesity?," *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2015.
- [215] C. J. Chang, C. S. Lin, C. C. Lu, et al. "Ganoderma lucidum reduces obesity in mice by modulating the composition of the gut microbiota," *Nat Commun*, vol. 6, p. 7489, 2015.
- [216] Y. Shimojo, K. Kosaka, T. Shirasawa. "Effect of Ganoderma lucidum extract on adipocyte differentiation and adiponectin gene expression in the murine pre-adipocyte cell line, 3T3-L1," *Phytotherapy Research*, vol. 25, no. 2, pp. 202-207, 2011.
- [217] I. Lee, H. Kim, U. Youn, et al. "Effect of lanostane triterpenes from the fruiting bodies of Ganoderma lucidum on adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells," *Planta Medica*, vol. 76, no. 14, pp. 1558-1563, 2010.
- [218] K. C. Cheong, S. M. Ghazali, L. K. Hock, et al. "The discriminative ability of waist circumference, body mass index and waist-to-hip ratio in identifying metabolic syndrome: Variations by age, sex and race," *Diabetes Metab Syndr*, vol. 9, no. 2, pp. 74-78, 2015.

[219] S. V. Mousavi, R. Mohebi, A. Mozaffary, et al. "Changes in body mass index, waist and hip circumferences, waist to hip ratio and risk of all-cause mortality in men," *Eur J Clin Nutr*, vol. 69, pp. 927-932, 2015.