



***FRACTALCINA/CX3CLI Y SU ROL EN LA FISIOPATOLOGÍA EN ESCLEROSIS
SISTÉMICA.***

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA.

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD.

PROGRAMA DE BACTERIOLOGIA Y LABORATORIO CLINICO.

TRABAJO DE GRADO.

BOGOTA D.C. 19 DE ABRIL DE 2024.



***FRACTALCINA/CX3CL1 Y SU ROL EN LA FISIOPATOLOGÍA EN ESCLEROSIS
SISTÉMICA.***

RODRIGO HERNÁN CORDOBA MORA.

ASESORA INTERNA: DRA. CLAUDIA ANDREA CRUZ VAQUERO.

DIRECTORA: DRA. CAROLINA RAMÍREZ-SANTANA M.SC, PH.D.

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA.

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD.

PROGRAMA DE BACTERIOLOGIA Y LABORATORIO CLINICO.

TRABAJO DE GRADO.

BOGOTA D.C. 19 DE ABRIL DE 2024.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi profundo agradecimiento a mi director de tesis, la Dra. Carolina Ramírez Santana, por su guía experta y valiosos consejos a lo largo de este arduo proceso.

A la Dra. Claudia Andrea Vaquero, quien fue mi asesora interna, gracias por depositar su confianza en mí.

A la Dra. Diana Monsalve, Dra. Yeni Acosta, Sandra Salas, Gabriel Rojas, Benjamín Calderón, quienes hacen parte del equipo del Centro de Estudio de Enfermedades Autoinmunes (CREA) de la Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad Colegio Mayor Nuestra Señora del Rosario, gracias por su dedicación y compromiso, su colaboración fue invaluable para el éxito de este proyecto.

Agradezco a mi familia y amigos por su amor, comprensión y paciencia durante este período de dedicación intensa a mi trabajo de tesis. Su apoyo incondicional me dio la fuerza y la motivación necesarias para superar los desafíos y alcanzar mis metas académicas.

DEDICATORIA

Ha sido un año lleno de esfuerzo, dedicación, entrega y amor por lo que hago, hoy culmina otra etapa más de mi vida. Quiero agradecer a Dios por darme la vida, y en ella la fuerza que empuja la superación personal, aquella fuerza que todos recibimos cuando existe una meta por alcanzar.

Papa, Mamá este logro es de ustedes, sin su dedicación, esfuerzo, apoyo y valor nada de esto sería posible, ustedes son los creadores de mi valentía, son mi voz de lucha y mi abrazo más fuerte si de soñar se trata, son el motor que impulsa la velocidad de mis sueños, a ustedes les debo mi éxito y mis más grandes logros, los amo.

A la vida, por ponerme en el camino a personas invaluable e inigualables que son Janeth Paredes y Ricardo Aguirre, gracias porque con sus palabras de aliento formaron mi carácter e impulsaron mi camino para que el día de hoy todo esto se hiciera realidad.

Quiero dedicar también este logro al cielo, porque sé que desde allá me brindan la fuerza que necesito para salir adelante.

Tabla de contenido

Información General	1
1. RESUMEN	2
2. INTRODUCCIÓN	3
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:	4
4. ANTECEDENTES	6
5. MARCO REFERENCIAL	8
6. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS	10
7. TIPOS DE ESCLEROSIS	15
7.1 Esclerosis sistémica limitada.....	15
7.2 Esclerosis sistémica difusa.....	15
8. MANIFESTACIONES VASCULARES	17
9. MANIFESTACIONES CUTÁNEAS	18
10. FISIOPATOLOGÍA	21
11. FACTORES PREDISPONENTES DE LA ENFERMEDAD	23
12. VASCULOPATÍA	25
13. RESPUESTA Y ACTIVACIÓN DEL SISTEMA INMUNE	26
14. PROCESO FIBRÓTICO	29
15. TRATAMIENTO	31
16. BIOMARCADORES	32
16.1 Tipos de biomarcadores:.....	32
16.2 Quimiocinas.....	33
17. ESTRUCTURA BIOLÓGICA	37
18. EXPRESIÓN CELULAR	39
18.1 Células implicadas en la expresión de CX3CL1 en Enfermedades Autoinmunes (EAI).....	39

19.	UNIVERSO, POBLACIÓN Y MUESTRA	42
19.1	Tipo de estudio:.....	42
20.	HIPÓTESIS, VARIABLES E INDICADORES	45
21.	TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS.....	49
22.	RESULTADOS	52
23.	DISCUSIÓN	72
24.	CONCLUSIONES.....	78
	Bibliografía	80

Índice de Figuras

Figura 1. Expresión de proteínas séricas de pacientes con ES en comparación con individuos sanos, estudio piloto CREA.	8
Figura 2. Presentación triada Esclerosis Sistémica.	9
Figura 3. Clasificación de Esclerosis Sistémica.	16
Figura 4. Esclerodermia, (esclerosis sistémica).	19
Figura 5 . Esclerodermia sistémica: epidemiología, fisiopatología y clínica.	22
Figura 6 Patogénesis de la esclerosis sistémica (proceso fibrótico).	30
Figura 7. Estructura Fractalcina/ CX3CL1 (fkn).	38
Figura 8. Representación gráfica del paso a paso inserto Fractalcina/ CX3CL1(FKN).	51
Figura 9. Poliautoinmunidad en pacientes con Esclerosis sistémica.	58
Figura 10. Variables sociodemográficas más representativas en pacientes con ES e individuos sanos.	59
Figura 11. Modelo metodológico.	61
Figura 12. Curva estándar Fractalcina FKN (Densidad óptica/ concentración FKN).	61
Figura 13. Curva ROC, Expresión de CX3CL1 en pacientes con ES, e individuos sanos. ..	65
Figura 14. Expresión de la concentración de Fractalcina/ CX3CL1, en pacientes con ES e individuos sanos y comparación con subgrupos; esclerosis sistémica limitada, esclerosis sistémica y esclerosis sistémica difusa.	68

Índice de tablas

Tabla 1 Criterios de clasificación de la esclerosis sistémica	11
Tabla 2 Presentación clínica Esclerosis Sistémica Difusa- Esclerosis Sistémica Limitada. .	13
Tabla 3 Características generales de pacientes con esclerosis sistémica y sanos. Fuente: Creación CREA	52
Tabla 4 Concentraciones de pacientes con Esclerosis Sistémica (1) Individuos sanos (2). Fuente: Creación propia	62
Tabla 5 Valores obtenidos prueba T.	65
Tabla 6 Valores de concentración, sensibilidad y especificidad de Fractalcina7 CX3CL1 en pacientes con esclerosis sistémica e individuos sanos.	67

***FRACTALCINA/CX3CL1 Y SU ROL EN LA FISIOPATOLOGÍA EN ESCLEROSIS
SISTÉMICA.***

Información General

Estudiante	Rodrigo Hernán Córdoba Mora.
Título del trabajo	Fractalcina/CX3CL1 y su rol en la fisiopatología en esclerosis sistémica.
Modalidad	Trabajo de grado experimental.
Área de investigación	Inmunología
Director	Dra. Carolina Ramírez-Santana M.Sc, Ph.D. Profesora Titular de Carrera Universidad del Rosario. Directora del Centro de Estudios de Enfermedades Autoinmunes. Directora Doctorado en Ciencias Biomédicas y Biológicas. Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud Universidad del Rosario.

1. RESUMEN

La esclerosis sistémica (ES) es una enfermedad autoinmune del tejido conectivo caracterizada por la presencia de vasculopatía, alteración de la respuesta inmune generando fibrosis en piel y órganos internos. Debido a su alta tasa de mortalidad y la complejidad en el tratamiento, se hace necesario intensificar la búsqueda de nuevos biomarcadores que permitan detectar la fase temprana de la enfermedad, facilitando así el diagnóstico temprano y el tratamiento oportuno. En la búsqueda de nuevos biomarcadores se ha propuesto a las quimioquinas como biomarcadores en las enfermedades autoinmunes. Un ejemplo es la Fractalcina/CX3CL, la cual puede actuar como molécula de adhesión en el endotelio inflamado, promoviendo la retención de monocitos y células T cuando está anclada a la membrana. Además, en su forma soluble, induce la migración de monocitos, células asesinas naturales (NK) y células T. Por tal motivo, se ha propuesto la Fractalcina/ CX3CL1 como candidata a biomarcador en ES, debido a su papel en el proceso inflamatorio en las enfermedades autoinmunes (EA), especialmente en la ES. Este proyecto tiene como objetivo identificar y describir Fractalcina/ CX3CL1 como un posible biomarcador predictivo para el diagnóstico de la esclerosis sistémica.

PALABRAS CLAVE: Esclerosis sistémica, autoinmunidad, vasculopatía, respuesta inmune, biomarcadores, quimioquina, endotelio, diagnóstico, tratamiento.

2. INTRODUCCIÓN

La esclerosis sistémica (ES) presenta un desafío considerable en su manejo clínico debido a la falta de biomarcadores que permitan un diagnóstico temprano y la previsión de su evolución y severidad (1). Estudios clínicos han mostrado que los pacientes con ES frecuentemente presentan autoanticuerpos detectables, destacando así la necesidad urgente de herramientas diagnósticas más precisas. En Colombia, la esclerosis sistémica, es reconocida como una enfermedad huérfana y está entre las siete más prevalentes según el Instituto Nacional de Salud (INS), y además ha enfatizado en la importancia del diagnóstico precoz y del tratamiento integral para mejorar la calidad de vida de los afectados. Por ello, es crucial identificar biomarcadores que permitan un diagnóstico temprano y la identificación de personas con mayor riesgo de resultados adversos. La búsqueda de biomarcadores en las EA se ha intensificado, enfocándose en características como la facilidad de medición, rentabilidad y reproducibilidad en muestras no invasivas, como la sangre periférica. Así, la investigación se ha dirigido hacia los biomarcadores proteómicos, que son más estables en sangre y pueden detectarse mediante diversas metodologías proteómicas. En respuesta a esta necesidad, el Centro de Estudio de Enfermedades Autoinmunes (CREA) de la Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad Colegio Mayor Nuestra Señora del Rosario se ha dedicado a profundizar en la fisiopatología de la ES y a identificar biomarcadores diagnósticos. Este trabajo de grado se centra en investigar el papel de la Fractalcina en la fisiopatología de la ES y su potencial como biomarcador para mejorar el diagnóstico y la gestión clínica de esta enfermedad.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

La ES, es una enfermedad autoinmune crónica del tejido conectivo caracterizada por un depósito desproporcionado de colágeno en la piel y en los órganos internos, esta enfermedad es mediada por diferentes mecanismos inmunológicos (1). Para el año de 1980, el American College of Rheumatology (ACR) definió los primeros criterios para la clasificación de ES, se identifican afectaciones proximales en la piel por cambios esclerodermatosos o la presencia de dos o más criterios menores, como esclerodactilia, cicatrices digitales o pérdida de tejido en la yema del dedo distal, así como la presencia de fibrosis pulmonar basal bilateral (2).

En el 2013 la EULAR/ARC estableció los últimos criterios de clasificación para determinar el grado de afectación de la enfermedad en piel y órganos, sin embargo, la mayoría de criterios depende de la presencia de síntomas clínicos y la identificación de autoanticuerpos como marcadores de diagnóstico de laboratorio, que además de tener propiedades de diagnóstico, también tiene propiedades de pronóstico de la enfermedad (3,4). Estos anticuerpos pueden ser, los anticuerpos anti centrómero (ACA), los anticuerpos anti-topoisomerasa I (Scl-70 o ATA) y los anticuerpos anti-ARN polimerasa III (ARA), que muestran una prevalencia variable con baja especificidad y sensibilidad. Se ha observado que la prevalencia de ATA en pacientes con ES varía ampliamente, entre el 14% y el 71% (5).

El tratamiento de pacientes con ES, es una de las dificultades más significativas ya que reside en la ausencia de marcadores biológicos que permitan un diagnóstico precoz, así como la carencia de indicadores que predigan la progresión, actividad y gravedad de la enfermedad, por consiguiente, el CREA de la Universidad del Rosario tiene como objetivo crear una comprensión

más precisa de la fisiopatología de la ES permitiendo la identificación de biomarcadores óptimos para diagnosticar esta afección, con el propósito de mejorar la calidad de vida de los pacientes afectados y reducir la tasa de mortalidad asociada a esta enfermedad.

Objetivo general

Evaluar los niveles séricos de la quimioquina Fractalcina/CX3CL1 y su papel en la fisiopatología de esclerosis sistémica.

Objetivos específicos

- Describir las características sociodemográficas de pacientes con esclerosis sistémica.
- Identificar la quimioquina Fractalcina/CX3CL1 en suero de pacientes con esclerosis sistémica.
- Describir el rol de la quimioquina Fractalcina/CX3CL1 en la fisiopatología de esclerosis sistémica.

4. ANTECEDENTES

La ES, una condición influenciada por el sistema inmunológico, plantea desafíos significativos tanto para médicos como para pacientes. A pesar de indicios que sugieren una supervivencia mejorada, especialmente en individuos con esclerosis sistémica cutánea difusa, esta enfermedad presenta una elevada tasa de mortalidad, superando a otras enfermedades reumáticas (6). Al ser considerada poco común y catalogada como una enfermedad huérfana con una importante necesidad médica no satisfecha, el diagnóstico de la ES a menudo se demora, lo que incrementa la carga sobre los pacientes (5,6).

En la actualidad se han relacionado estos procesos con ES ya que esta se caracteriza por el desarrollo de una fibrosis progresiva de la piel y de los órganos internos causando de esta manera su disfunción, trastornos de la morfología, función de los vasos sanguíneos y anormalidades del sistema inmune, algunos de los órganos más afectados son, el corazón, pulmones, tracto gastrointestinal y riñones, su clasificación se realiza mediante dos formas clínicas: esclerosis sistémica difusa (ESD) y esclerosis sistémica limitada (ESL), manifestando en esta el síndrome de CREST y la forma clínica en la que se presenta ausencia de afectación cutánea (7,8).

En la ESL se observa una afectación cutánea de la cara y distal a rodillas y codos, con menor compromiso y con una lenta progresión, en cambio para la ESD, las zonas afectadas serán la piel generalmente en extremidades y tronco, su progresión se realiza de manera rápida y dentro de esta podemos encontrar ya un compromiso visceral precoz en un lapso no menor a 5 años. Según estudios se asocian también el síndrome de solapamiento, que es cuando ESD o ESL están siendo afectadas por otras patologías no conocidas (7).

Se desconoce el origen de la ES, pero datos recientes muestran que hay una relación de 3:1, afectando 3 mujeres por cada 1 hombre en millón de habitantes (9). Además, factores como la raza, el ambiente, la edad y la genética son predisponentes para el desarrollo de la misma (9). Denton y colaboradores, determinaron que no en todas las regiones geográficas, se encuentran datos de pacientes con ES, por ejemplo; en Estados Unidos se estableció una incidencia de 19,3 nuevos casos por millón de habitantes. Para Colombia se desconoce el número de pacientes afectados con ES, pero Mayes y colaboradores en 2003 según la asociación Colombiana de Esclerodermia al menos 4.000 personas presentan la enfermedad (10).

En la actualidad el CREA, ha venido trabajando en la búsqueda de biomarcadores de diagnóstico para las enfermedades autoinmunes (11). En el grupo de investigación, se realizó un estudio piloto de pacientes con EA donde se evaluó un panel de 348 proteínas con la estrategia de Olink Proteomics y su tecnología basada en ensayos de extensión de proximidad (PEA), el cual reveló 7 proteínas sobre expresadas en pacientes con ES (ver figura 1).

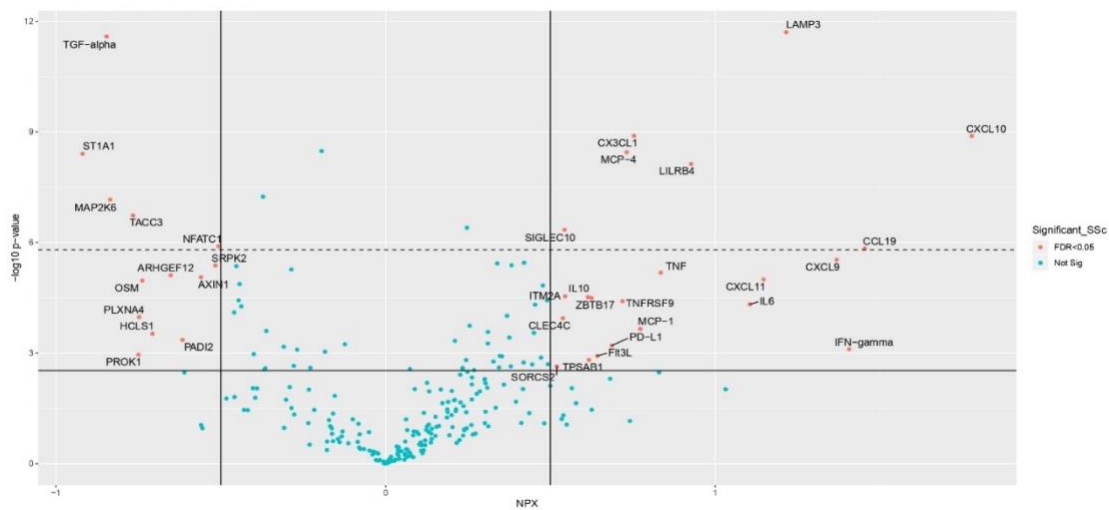


Figura 1. Expresión de proteínas séricas de pacientes con ES en comparación con individuos sanos, estudio piloto CREA.

Fuente: Creación propia.

5. MARCO REFERENCIAL

Esclerosis sistémica: Es una enfermedad crónica caracterizada por fibrosis difusa y anomalías vasculares en la piel, articulaciones, y órganos internos (en especial el esófago, tubo digestivo inferior, pulmones, corazón y riñones). Los síntomas más comunes incluyen el fenómeno de Raynaud (FR), poliartralgia, disfagia, pirosis, hinchazón y finalmente engrosamiento de la piel y contracturas de los dedos, se presentan algunas afecciones tales como: pulmonares, cardíacas y renales que son responsables de la mayoría de los casos de muerte (12). La ES, es una enfermedad del tejido conectivo y de la microcirculación que se caracteriza por la fibrosis de los tejidos afectados y alteraciones vasculares, lo que desencadena una serie de síntomas, que incluyen el FR, esclerosis en piel, úlceras digitales, enfermedad pulmonar intersticial (EPI), hipertensión arterial pulmonar (HAP), fibrosis cardíaca, compromiso gastrointestinal, disfunción hepática (13).

La ES, afecta la piel produciendo fibras de colágeno compactas en la dermis reticular, adelgazamiento epidérmico, pérdida de las crestas epidérmicas y atrofia de los anexos dérmicos. Pueden acumular linfocitos T, y aparece una extensa fibrosis en las capas dérmica y subcutánea. En los pliegues de las uñas las asas capilares se dilatan y se pierden algunas asas microvasculares (Ver figura 2). En las extremidades se produce inflamación crónica y fibrosis de la membrana sinovial y superficies y tejidos blandos periarticulares (14,15).

En cuanto a la epidemiología de ES varía según la ubicación geográfica, por ejemplo; en Europa se presentan de 7,2 a 33,9 por cada 100.000 personas y de 13,5 a 44,3 por cada 100.000 personas en América del Norte, en Colombia, datos demuestran que no hay casi expresión de ES, existen estudios que datan que en algunas regiones se presentan entre 23,7 por cada 100.000 habitantes, y muestra un patrón frecuente en personas entres 65-69 años siendo aproximadamente un 70% mujeres (2,16).

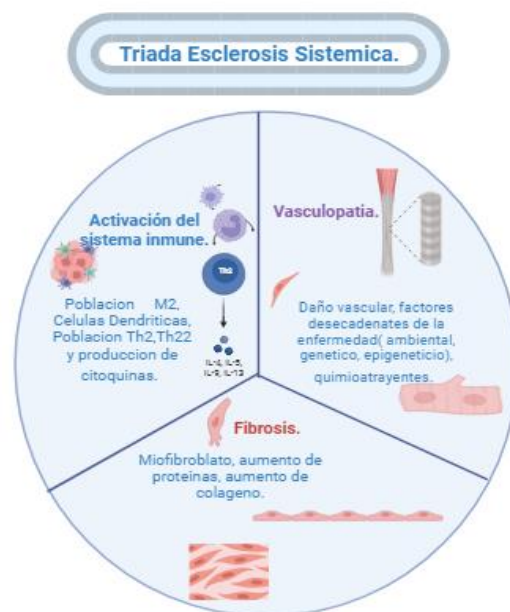


Figura 2. Presentación triada Esclerosis Sistémica. Activación del sistema inmune por poblaciones celulares de M2, células dendríticas; el daño vascular desencadena la vasculopatía y el proceso fibrótica aumenta la producción de proteínas y aumenta la producción de colágeno

Fuente: Creación propia

6. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS

La ES, es una enfermedad que implica numerosos factores, donde uno de los determinantes pueden asociarse a variables genéticas, las que contribuyen a desarrollar susceptibilidad genética, se habla de riesgo en esta enfermedad, lo que dependerá de efectos acumulados mediado por diferentes marcadores genéticos individuales y colectivos puesto que la característica principal de estos es desarrollar “autoinmunidad compartida” que le permitirá a la persona regular el desarrollo de una determinada enfermedad autoinmune.

Desde 1980 se conocen los primeros criterios diagnósticos de la enfermedad propuestos por el ACR. A mediados de 1988 LeRoy y colaboradores mejoran las limitaciones de evaluación propuestos por la ACR, clasificando la ES en esclerodermia difusa y esclerodermia limitada, mostrando características morfológicas identificando algunas asociaciones de anticuerpos a cada uno de los subtipos (17).

A inicios del siglo XXI, LeRoy y Medsger definieron una serie de criterios de evaluación para el diagnóstico precoz y la clasificación de la ES (10). Para el 2013, el ACR y la European League Against Rheumatism (EULAR) presentaron nuevos criterios de clasificación para la ES, clasificándola por medio de un puntaje máximo de 9, donde se evidencian manifestaciones vasculares, inmunológicas y fibróticas, catalogando de esta manera el diagnóstico y tipo de estadio de la enfermedad (1).

Criterios de clasificación ACR/EULAR 2013, podemos evidenciar criterios clínicos y de laboratorio que nos permite identificar y catalogar pacientes con ES, sin embargo, existen

limitaciones en la presentación de pacientes con ES en algunos estadios tempranos que dificultan la presentación clínica y de laboratorio (18). En los criterios diagnósticos y pronóstico de la ES se usa la capilaroscopia del lecho ungueal, que nos permite analizar la morfología y cuantificación de los capilares diferenciando el FR en su etapa primaria o secundaria generando un diagnóstico precoz y presuntivo de la ES mostrando afectación de la microcirculación, ayudando de esta manera a predecir la aparición de complicaciones, como úlceras digitales y compromiso a nivel de cara, manos, cuello, antebrazos y en ocasiones compromiso pulmonar (Ver tabla 1 y 2) (19).

Tabla 1 Criterios de clasificación de la esclerosis sistémica

ÍTEM	CARACTERÍSTICAS	PUNTUACIÓN
Engrosamiento cutáneo de los dedos de ambas manos y estos se extienden.		9
Engrosamiento cutáneo de los dedos.	Dedos en salchicha.	2
	Esclerodactilia.	4
Lesiones en el pulpejo (punta del dedo).	Úlceras digitales.	2

	Lesiones en mordedura de rata.	3
Telangiectasia.	Capilaroscopia patológica.	2
Hipertensión arterial pulmonar- enfermedad pulmonar intersticial.	HTP.	2
	EPI.	2
Fenómeno de Raynaud.		3
Autoanticuerpos relacionados con esclerodermia.	Anti centrómero (ACA) Anti-topoisomerasa I (ATA) Anti-RNA polimerasa III	3

Fuente: - ACR/EULAR 2013

Puntuación ≥ 9 , clasifica como paciente con ES.

Tabla 2 Presentación clínica Esclerosis Sistémica Difusa- Esclerosis Sistémica Limitada.

PRESENTACIÓN CLÍNICA	ESD	ESL
Engrosamiento cutáneo de forma simétrica.	Generalizado.	Progresivo.
Fenómeno de Raynaud.	Evolución reciente.	Varios años de evolución.
Afectación visceral:	De tipo temprano y tardío. Fibrosis pulmonar intersticial. Afectaciones gastrointestinales.	De tipo tardío. HTP. Afectación pulmonar. CBP- Cirrosis biliar primaria.
Anticuerpos antinucleares ANA.	Anti-topoisomerasa- antiScl70- aproximadamente en un 70%. Anti centrómero.	Anti centrómero en un 80%.

Capilaroscopia.	Visualización megacapilares- pérdida total o parcial de los capilares.	Asas dilatadas, no se evidencia pérdida capilar.
Pronóstico.	Afectación 90% hombres. Afectación renal, cardíaca y pulmonar.	Muerte por HTP.

Fuente: Creación propia.

7. TIPOS DE ESCLEROSIS

7.1 Esclerosis sistémica limitada

Una de las principales características para este tipo de ES, es CREST (calcinosis, síndrome de Raynaud, trastornos de la motilidad esofágica, esclerodactilia y telangiectasia), está asociada a un tipo de anticuerpos ACA (anti centrómero) en aproximadamente un 70% (20). Los pacientes presentan compromiso en la piel de la cara, cuello, manos, y antebrazos, se hace visible el FR, que ha sido evidente antes de que se manifieste de forma clínica la ES, su predominancia va ligada al género femenino, esta forma clínica presenta fibrosis pulmonar con anticuerpos To/Th o patrón nucleolar en la IFI y su pronóstico se puede delimitar en ese caso (2,5% de las esclerodermias sistémicas) (Ver figura 3) (20).

7.2 Esclerosis sistémica difusa

Afecta en un 90% la zona cutánea, donde se evidencia hiperpigmentación difusa y discromía en sal y pimienta, su patogenia está ligada a personas jóvenes, siendo estos hombres y mujeres, presenta asociación con anticuerpos antitopoisomerasa del ADN Scl70 y anticuerpos anti pequeños ribonucleoproteínas del núcleo incluidas en el patrón antinucleolar tales como: antifibrilarina: anticuerpos anti U3-RNP acompañada de fibrosis pulmonar con respeto articular (Ver figura 3) (20).

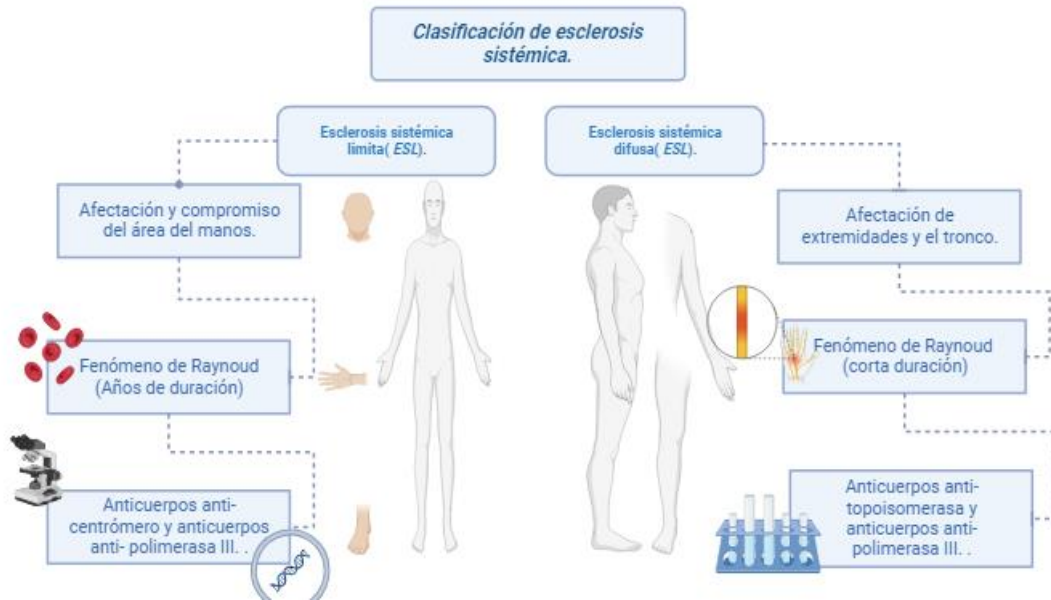


Figura 3. Clasificación de Esclerosis Sistémica. ESL-ESD ESL afecta el área de las manos, es característico el Fenómeno de Raynoud y presencia de anticuerpos; ESD afecciones de extremidades y el tronco, Fenómeno de Raynoud y presencia de anticuerpos.

Fuente: Creación propia.

8. MANIFESTACIONES VASCULARES

Inicia como una anomalía funcional en especial la vasoconstricción que se evidencia en el FR, que generalmente se caracteriza por episodios de palidez, cianosis de los dedos, e hiperemia con reperusión de los tejidos (20).

Esta puede presentarse de forma espontánea, pero en la mayoría de los casos es desencadenada por el frío y el estrés emocional, para la ES, el FR es grave, que muestra lesiones isquémicas que dificultan el tratamiento y empeoran el pronóstico. El FR representa la manifestación clínica más habitual y precoz en pacientes con ES, tiene una prevalencia de 80-90 %, y supone la manifestación inicial de la enfermedad en cerca del 100% de ESL y alrededor de un 70% de ESD (20).

9. MANIFESTACIONES CUTÁNEAS

En cuanto a la piel, es afectada en diferentes fases que se corresponden con hallazgos típicos en la histología de ES (10). Fase edematosa, caracterizada por inflamación perivascular y esto se debe a un depósito de colágeno y matriz extracelular, con fibrosis de la dermis (21).

Se evidencia edema de los dedos, que evoluciona hacia la induración cutánea y, finalmente, hasta la fibrosis o esclerodactilia; hay un aumento de la pigmentación y del brillo de la piel, es notorio la pérdida de pliegues y de anejos cutáneos, lo que resulta habitual en diferentes estudios evolutivos; terminando en una fase donde la piel pasa a una fase de adelgazamiento y atrofia (22).

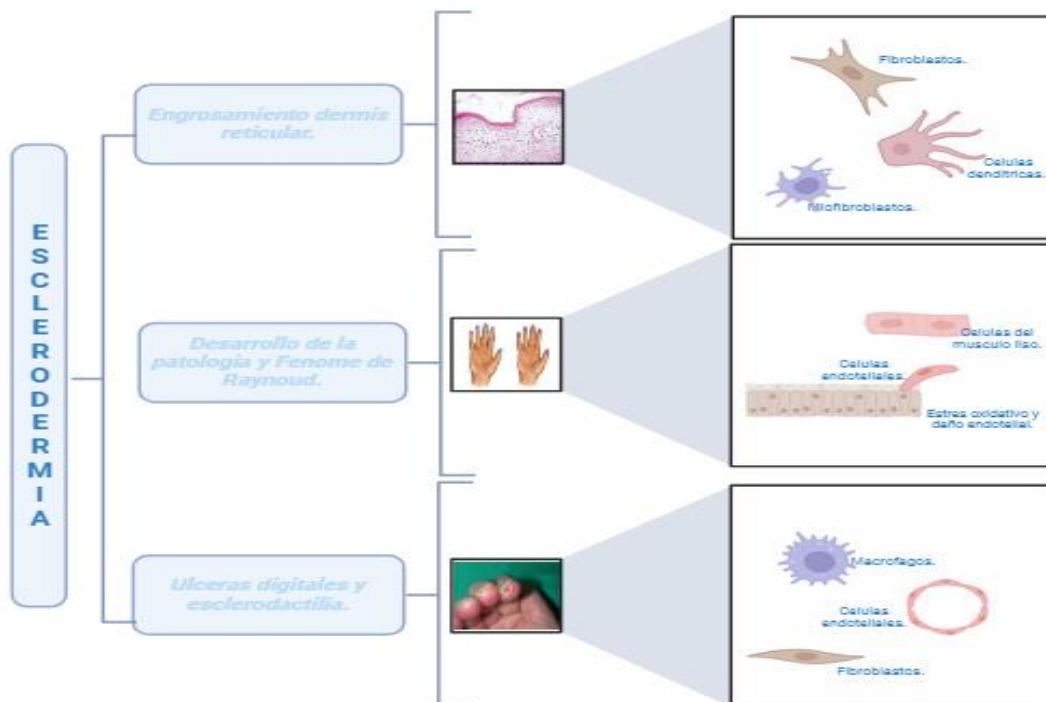


Figura 4. Esclerodermia, (esclerosis sistémica). Fibroblastos, células dendríticas, células del musculo liso, células endoteliales, macrófagos y fibroblastos expresadas en el desarrollo de la Esclerodermia.

Fuente: Aspe L, González M, Gardezabal G (17)

Dentro de este tipo de manifestaciones encontramos 4 categorías, pulmonar, cardiaca, renal y gastrointestinal.

- *Pulmonar:* Entre estas se destacan la enfermedad intersticial pulmonar y la hipertensión arterial pulmonar, la enfermedad pulmonar intersticial es la más común, es más frecuente en pacientes con ESD y que tiene un historial de fumadores, pacientes con SR, úlceras digitales y roces de fricción tendinosos (12,20). La fisiopatología está marcada por fibrosis pulmonar donde hay una alteración en el intercambio gaseoso, produciendo disnea de esfuerzo y enfermedad restrictiva causando una insuficiencia respiratoria (12,20,21).
- *Cardiaca:* Se manifiesta a nivel miocárdico, pericárdico, el sistema de conducción o en forma de arritmias, se presenta en un 10% de los pacientes con ES, su forma clínica es asintomática, produciendo insuficiencia cardíaca congestiva y algunas arritmias ventriculares (22). La afectación es evidente en el tejido de conducción del corazón en la mayoría de los casos en pacientes con ESD (23). De esta manera trastornos del ritmo y de la conducción; produce taquiarritmia, palpitaciones, desmayos, hipertensión arterial pulmonar, dolor de pecho e hipertensión pulmonar siendo esta la última etapa (12).
- *Renal:* Es frecuente en los primeros 4 a 5 años en pacientes con ESD, comprende fases de afectación dérmica de progresión rápida (12,20). Inicia con aparición repentina de

hipertensión grave, y aparece en un 5-10% de los pacientes, caracterizada por proteinuria, alteraciones en el sedimento, hipertensión arterial o disminución del filtrado glomerular.

- *Gastrointestinal:* Es característica de ESD-ESL (12). Hay una desaparición paulatina de las papilas en la lengua, engrosamiento de la membrana mucosa que cubre los procesos alveolares, pérdida de su placa cortical, gingivitis, disfunción esofágica, disfunción motora del tercio distal generando disfagia (12,22). A nivel del estómago presenta trastornos en la motilidad y sobre todo la aparición de telangiectasias, con hemorragias crónicas que originen anemia o incluso episodios agudos de hemorragia digestiva alta, hay incremento de bacterias gástricas y cambios en la flora habitual del intestino (22).

10. FISIOPATOLOGÍA

La patogenia de esclerosis sistémica está compuesta por 3 aspectos importantes: vasculopatía de vasos pequeños, desregulación de la inmunidad innata y adaptativa, y fibrosis extensa de la piel y de las vísceras, siendo esta uno de los principales factores determinantes de la enfermedad, ya que los fibroblastos tisulares sensibles, aumentan la producción de proteínas de la matriz extracelular en la piel (12,13).

Hay producción de fibras de colágeno en la dermis reticular, adelgazamiento epidérmico, pérdida de las crestas epidérmicas y atrofia de los anexos dérmicos (12). En cuanto a las células inmunológicas, los LT aparecen y producen fibrosis en las capas dérmica y subcutánea, en las extremidades se produce una inflamación crónica y fibrosis de la membrana sinovial y superficies (12,20).

En la activación de células endoteliales aumentaran la expresión de las moléculas de adhesión celular (MAC), proteína 1 de adhesión celular vascular (VCAM-1), la molécula de adhesión intercelular (ICAM) y la E-selectina (12,23). Se activa una serie de quimiocinas como: MCP-1, MIP-1 α y MIP-1 β ; producen endotelina-1 y factor de crecimiento del tejido conectivo (Ver figura 5) (12,13,20).

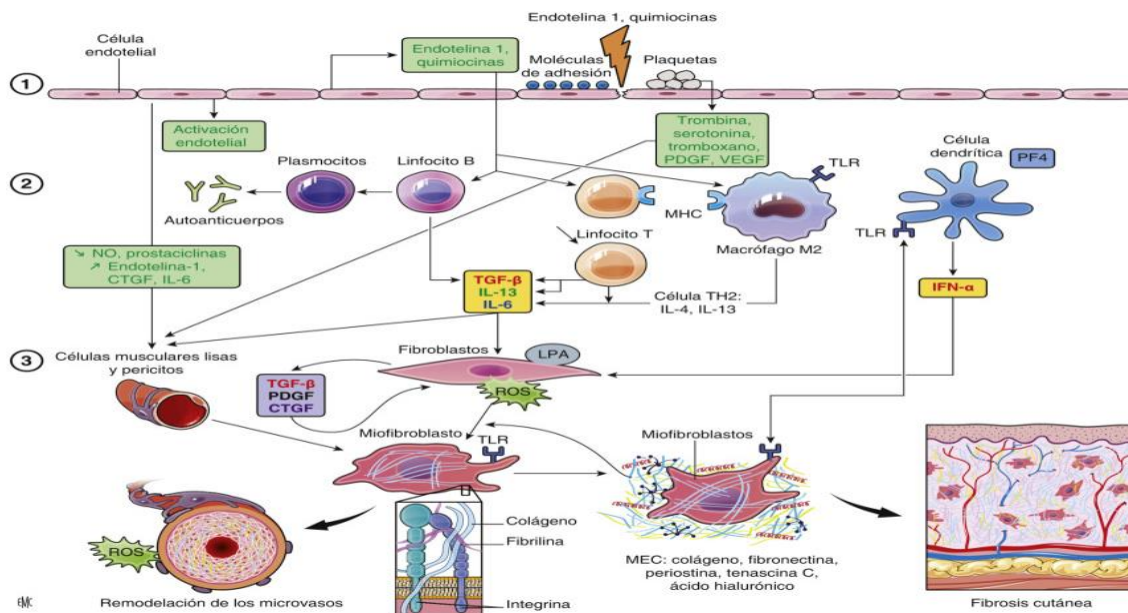


Figura 5 . Esclerodermia sistémica: epidemiología, fisiopatología y clínica. Células endoteliales, células musculares lisas presentes en la activación del endotelio de la esclerosis sistémica.

Fuente: Allanore Y (25).

11. FACTORES PREDISPONENTES DE LA ENFERMEDAD

- *Factores ambientales:* Es uno de los principales desencadenantes de la enfermedad, Ferri en 2014, define que algunos virus, como el citomegalovirus humano, el parvovirus B y el virus de Epstein-Barr aumentan la aparición de ES, induciendo daño vascular y proliferación de fibroblastos (12,14). Entre otros factores tenemos las drogas, las exposiciones ambientales y ocupacionales a diversos disolventes orgánicos y de igual manera la exposición a sustancias químicas, como el cloruro de vinilo o la sílice (12,24).
- *Factores genéticos:* Varios genes pueden influir en la susceptibilidad de dicha enfermedad, para ES, los genes asociados pertenecen a la familia de genes del complejo antígeno leucocitario humano (HLA), los que ayudan al sistema inmunológico a diferenciar las proteínas del propio organismo entre las proteínas de agentes extraños (25,26). En cuanto a los genes implicados en procesos inmunológicos tenemos IRF5 (ESCD) y STAT4 (ESCL) (27). Estos genes son detectados por proteínas que se unen a regiones específicas de ADN codificando respectivamente señales para regular la actividad entre las citoquinas y los interferones (20,25,27).

El papel de las citoquinas es combatir las infecciones por medio de la inflamación y el de los interferones que son producidos por las células NK es bloquear la actividad del virus (25). Cuando hay una activación de las proteínas, por ejemplo, STAT4; esta codifica una proteína específica que actuará como factor de transcripción generando una respuesta inflamatoria para combatir la infección (25).

- *Factores epigenéticos:* Para este tipo de factores, se evidencia que las modificaciones postraduccionales como son; de las histonas , en la que la hipo metilación del ADN y los microARN codifican y participan en los procesos de activación inmune y fibrosis en pacientes con ES (28). Cuando se realizan modificación de la posotraducción de histonas, se muestra una regulación de células endoteliales de pacientes con ES , implicando la metilación del ADN (29).

12. VASCULOPATÍA

Se cree que estas son desarrolladas por agentes infecciosos, radicales libres relacionados con el óxido nítrico, células T citotóxicas o anticuerpos anti célula endotelial. De forma clínica, se les atribuye a las alteraciones de la microcirculación, que están presentes en el fenómeno de Raynaud, las telangectasia, las hemorragias subungueales lineales o hemorragias y la úlcera (30).

Se evidencia una participación del endotelio para la regulación del tono vascular a través de mediadores de vasodilatación como la prostaciclina, óxido nítrico, o de vasoconstricción atribuyéndose a la endotelina 1, liberando neurotransmisores (31). Dentro de los mecanismos del FR y su asociación a la ES, causa daño endotelial activando las células lisas vasculares, que migran y se diferencian en fibroblastos que secretan colágeno y matriz extracelular, produciendo proliferación intimal y posterior fibrosis (31). El daño endotelial incrementa la adhesión plaquetaria, que origina la producción de factores vasoconstrictores, permitiendo la activación de la cascada de coagulación y evidenciando un problema con los vasos sanguíneos en pacientes con ES (31).

13. RESPUESTA Y ACTIVACIÓN DEL SISTEMA INMUNE

Está mediada por anticuerpos que median la respuesta inmunitaria mediante una reacción inflamatoria con gran tendencia a la cronicidad, causando alteraciones en los vasos sanguíneos aumentando la permeabilidad y facilitando la migración de los leucocitos a través del endotelio hacia el tejido dañado, así como la activación de los macrófagos y linfocitos T (31). Estos a su vez producen citoquinas, como la IL-2, IL-4, la IL-6 y el TNF α que perpetúan y retroalimentan el cuadro inflamatorio.

Sistema inmune: Como características generales de la fibrosis en ES, tenemos el aumento de la rigidez de la matriz, el estrés oxidativo crónico y la acumulación extracelular de patrones moleculares asociados al daño (DAMP) (32). Es importante determinar algunos factores que funcionan como marcadores específicos de la patología, entre los cuales se destacan: factor de crecimiento transformante β (TGF- β) que es el encargado de inducir todo el repertorio de respuestas fibróticas, se observan múltiples vías intracelulares, además de los receptores tipo peaje (TLR) con la actividad del TGF- β y las respuestas fibróticas, que son sensores celulares moleculares asociados a patógenos (PAMP) microbianos (exógenos) y DAMP endógenos (32).

Por otra parte, los macrófagos en pacientes con ES, participan en la fisiopatología induciendo al organismo a que inicie su proceso de inflamación (32). Dentro de la fisiopatología de ES se ha descrito que CD163 se encuentra de forma soluble y funciona como receptor de los macrófagos M2 (32).

De la misma manera los macrófagos, inducen una respuesta pulmonar en pacientes con ES y fibrosis pulmonar, es aquí donde se muestra un aumento específico en la expresión de genes relacionados con el tráfico de lípidos y colesterol lo que conlleva a la alteración a nivel general del paciente (32). A nivel molecular se puede observar un bloqueo del receptor de IL-6 por parte de los macrófagos M2, que inhibe la diferenciación de los macrófagos M2 y la producción de IL-6 (32).

Dentro de la activación celular, encontramos la IL-4 e IL-13 que son las encargadas de inducir la producción de una molécula alfa en reposo por parte de los macrófagos haciendo que los monocitos y los M2 se observen en la sangre, la piel y los pulmones de los pacientes con ES y están implicados en la fibrosis de la enfermedad (32).

Durante el progreso de la enfermedad es evidente la inflamación tisular, aquí las células mononucleares LT CD4+, expresan el antígeno DR de la clase II del CMH, que es un indicador de activación inmunológica, las células inflamatorias son activadas por contacto con el antígeno putativo o por mecanismos autocrinos, produciendo citocinas y factores de crecimiento proinflamatorios y profibroticos, los cuales inician el proceso de fibrosis y causan las lesiones endoteliales y vasculares (33).

Las células T, están disminuidas, alterando el equilibrio normal de las células inmunorreguladoras, estos a su vez activan la expresión de interleucina 2 de alta afinidad (IL-2R) en sus membranas elevando el nivel de producción de IL-2 en el suero y células T en pacientes con esclerosis sistémica (33). En cuanto a los linfocitos B expresan CD19 que son regulados y permiten la activación de los mismos, presentan hiperreactividad crónica de células B de memoria y producen autoanticuerpos específicos para ES (34). Los patrones de células B

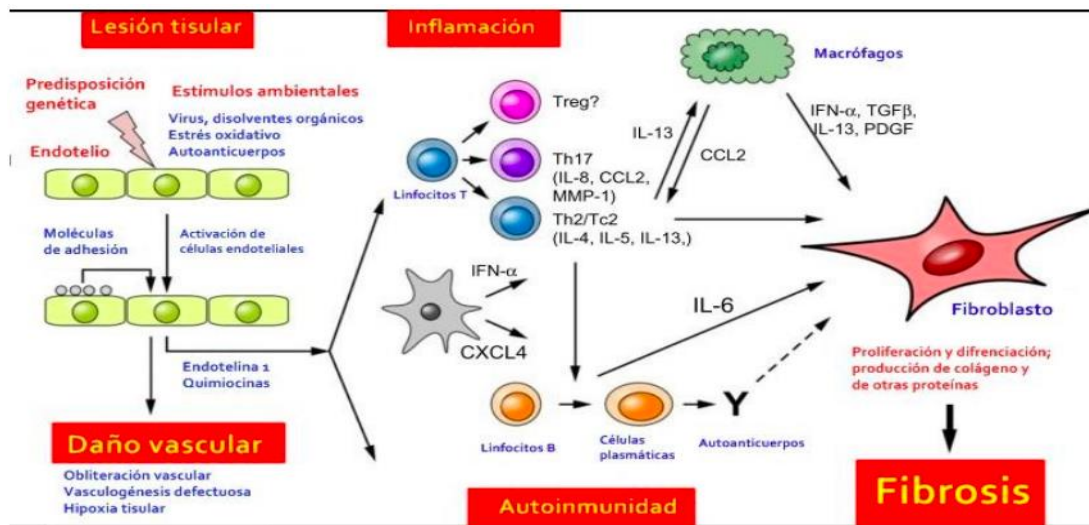
se asocian con la fibrosis de la piel y los pulmones, expresando autoantígenos y regulando las manifestaciones de la enfermedad en ES (34)

14. PROCESO FIBRÓTICO

Los fibroblastos y los miofibroblastos en su papel de activación se encargan de depositar proteínas de matriz extracelular, cambiando el tejido dañado y produciendo la mayoría de los síntomas en la ES (35). La fibrosis inicia en la dermis profunda y en la parte superficial del tejido celular subcutáneo (TCS), los encargados de desencadenar este proceso son las citoquinas y factores de crecimiento de múltiples vías de señalización (10).

En la patogenia de la ES los fibroblastos se convierten en miofibroblastos produciendo citoquinas, TGF- β y receptores asociados, este se produce en células mononucleares del infiltrado inflamatorio mediante regulación autocrina que permite la expresión de genes de colágeno en fibroblastos, causando la progresión de la enfermedad (Ver figura 6) (10).

TGF- β es capaz de activar una vía de señalización, capaz de traducir señales en los receptores de la superficie celular siendo mensajeros específicos para los factores de transcripción llamados Smads que son conocidas como proteínas de respuesta a la vía TGF- β (35).



*Figura 6 Patogénesis de la esclerosis sistémica (proceso fibrótico). Tomada de Allanore Y.
Esclerodermia sistémica: epidemiología, fisiopatología y clínica. EMC - Apar Locomot.*

Fuente: Allanore Y. (25)

15. TRATAMIENTO

Para iniciar un tratamiento, se deben conocer las afecciones ya sean de inflamación o vasoconstricción, estas pueden cursar por enfermedad activa y en ocasiones presentan daño irreversible como fibrosis o necrosis isquémica (35). Para ello el European League Against Rheumatism Scleroderma Trials and Research group recomienda:

- *Fenómeno de Raynaud, úlceras digitales*: El nifedipino y el iloprost intravenoso reducen la frecuencia y la gravedad de los ataques del fenómeno de Raynaud.
- *Hipertensión arterial pulmonar*: Se recomienda usar bosentan para mejorar la capacidad de ejercicio, la clase funcional y algunas medidas hemodinámicas en la HAP (35). Se recomienda también el epoprostenol intravenoso.
- *Afectación cutánea*: El metotrexato mejora la puntuación de la piel en ES (35).
- *Enfermedad pulmonar intersticial*: Uso de ciclofosfamida (35).
- *Crisis renal*: Uso de inhibidores de la enzima angiotensina y esteroides (35).
- *Afectación gastrointestinal*: debe utilizarse fármacos procinéticos en las alteraciones de la motilidad intestinal, bloqueadores H2 que mejoran los síntomas de los reflujos (35).
- *Enfermedad cardíaca*: Bloqueadores de los canales de calcio, ventrículo izquierdo, inhibidores de ECA, que mejoran la perfusión miocárdica (35).

16. BIOMARCADORES

Son sustancias que indican un estado biológico, se usan también para detectar enfermedades, se pueden medir objetivamente, evalúan indicadores de los procesos biológicos en estado patogénico o en respuesta a un tratamiento médico, perfiles genéticos, metabolitos, proteínas, parámetros fisiológicos o anatómicos, análisis del genoma, proteoma, metaboloma y transcriptoma (36). Existen actualmente diferentes definiciones, una de las más acertadas es la que da “Biomarkers Definitions Working Group”, quienes definen que un biomarcador es una característica que se puede medir de manera objetiva y es evaluada como un indicador de un proceso biológico normal, un proceso patogénico o como la respuesta farmacológica a una intervención” (37).

16.1 Tipos de biomarcadores:

- *Biomarcadores de diagnóstico:* son aquellos que se usan para diagnosticar una enfermedad, su curso, gravedad de la misma (38).
- *Biomarcadores predictivos:* Se encargan de prever la respuesta de un determinado paciente con respecto al tratamiento, evaluando su eficacia y seguridad para permitir desarrollar criterios y tomar ciertas decisiones con respecto al proceso que el paciente esté cursando (36,37).
- *Biomarcador de respuesta:* Se usa para demostrar una respuesta biológica, que puede usarse como un determinante beneficioso o maligno para tratar o determinar la enfermedad (35,36,37).

- *Biomarcador de pronóstico*: Nos ayuda a determinar la probabilidad de un evento clínico, la frecuencia, el estado en el que se encuentra la enfermedad en un determinado paciente (35,36).

Las EA se manifiestan por un proceso inmunológico coordinado, que está dirigido a autoantígenos que el mismo sistema inmunológico confunde con ajenos, como resultado, se originan alteraciones en el desarrollo genético, especialmente los genes que se encargan de controlar las vías que regulan la auto tolerancia en la patogénesis de estas enfermedades (36,37).

Procesos como la PTM (metodología fosfoproteómicas), y la producción de autoanticuerpos, de esta manera se pueden abordar por medio de estudios proteómicos para detectar los autoantígenos principales de una de las enfermedades como es la artritis reumatoide (AR), además de detectar anticuerpos dirigidos a algunas proteínas y péptidos presentes en este (37,38,39). En cuanto a la rama de la proteómica, renueva la visión y misión de la atención clínica proporcionando herramientas para el desarrollo de la predicción de la enfermedad, guiar y proponer el tratamiento así mismo observar respuesta a la terapia o tratamiento que haya recibido el paciente (37,40).

16.2 Quimiocinas

Dentro de los biomarcadores propuestos para diagnóstico y/o pronóstico de la ES se ha en identificado que las quimioquinas juegan un papel importante en la fisiopatología de la enfermedad. Dentro de estas quimioquinas podemos encontrar por ejemplo la quimioquina CXCL10, que es una proteína que puede actuar como quimioquina inflamatoria en enfermedades de tipo autoinmune, esta se une al receptor CX3CR1 quien está unido a la

proteína G, al momento de unirse regula la respuesta inmune mediante la activación y el reclutamiento de leucocitos como células T, eosinófilos, monocitos y células NK (39).

Antonelli y colaboradores encontraron que los niveles séricos de CXCL10 se encuentran elevados en fase inicial de la enfermedad (40). Otra de las quimioquinas es CXCL9 que se expresa por la interacción de la citoquina IFN- γ asociada a *Th1*, dando paso a la infiltración tisular de linfocitos T, además regulan el reclutamiento de células efectoras en los sitios de inflamación y se encuentra con una mayor expresión en pacientes con ES (41). La quimioquina CXCL4 contribuye a la marcación de IFN tipo I permitiendo la unión de ADN para formar complejos que amplifican la estimulación celular, CXCL4 se expresa a nivel de plasma y se relaciona con IFN-I como con TNF- α y amplifica la modulación de las funciones efectoras mieloides en pacientes con ES (42,43,44).

Méndez y colaboradores muestran que MCP4 funciona como una molécula fundamental implicada en el reclutamiento selectivo de linajes celulares en tejidos inflamados y su posterior activación (45). Así mismo Affandi y colaboradores demuestran que los pacientes que cursen con ES van a presentar un nivel de MCP4 elevado (46,47). Esto se debe a que MCP4 funciona como una molécula quimioatrayente para eosinófilos, basófilos, monocitos, macrófagos, células dendríticas CD y células T lo que producirá respuestas inmunomoduladoras en células epiteliales, musculares y endoteliales (45). Otra de las quimioquinas que está implicada en la fisiopatología de ES, es la CXCL11, esta quimioquina se une a los receptores CCR1, CCR2, CCR3, CCR5 y CCR11 provocando la migración de eosinófilos, monocitos, células T y CD, induciendo la degranulación de eosinófilos, liberación de histamina, expresión de moléculas de adhesión y la secreción de citoquinas proinflamatorias en células epiteliales, endoteliales y musculares en enfermedades autoinmunes (48).

En 1997 se logró identificar CX3CL1, siendo denominada por los autores como neurotactina y/o fractalquina o también conocida como una glicoproteína de superficie. Pan y colaboradores, lograron identificar CX3CL1 después de haber realizado la secuenciación del plexo coroideo murino, mientras que Bazan y colaboradores lo identificaron buscando secuencias similares a las quimiocinas por medio de una base de datos de etiquetas de secuencias expresadas en el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) (49). CX3CL1, se expresa en células endoteliales que se activan mediante citocinas proinflamatorias (50). CX3CL1 es un miembro de la familia de quimiocinas CX3C y se expresa de manera constitutiva y abundante en las neuronas, es decir se expresa de manera más abundante en el SNC que en la periferia (51).

Lo que diferencia a esta proteína de las demás es que puede cumplir el papel de una glicoproteína estática que va a estar unida a la membrana, lo que permite mediar la adhesión celular, esta forma soluble se origina por producto de la escisión proteolítica por desintegrinas y metaloproteinasas (ADAM10 y ADAM17) contribuyendo de esta manera a CX3CL1 características quimiotácticas (51).

Stavros y colaboradores, definen que CX3CL1 es una quimiocina estructural, su forma unida a la membrana promueve la adhesión firme de los leucocitos que rodean la pared del vaso, mientras que en su forma soluble sirve como un potente quimioatrayente para las células, tiene efectos citotóxicos sobre el endotelio, así como efectos antiapoptóticos y proliferativos sobre las células vasculares (51,52).

Las isoformas quimiotácticas de CX3CL1 están mediadas por un receptor de siete dominios transmembrana acoplados a una proteína G específica (CX3CR1) que está presente exclusivamente en las células microgliales realizando una comunicación precisa y eficaz entre

las neuronas y las células microgliales asociadas a la coordinación de muchos aspectos de la función cerebral (53) .

CX3CL1 tiene diferentes afinidades y actividades biológicas, por ejemplo, en la transmisión intracelular de señales está mediada por la activación de numerosas moléculas de señalización, incluidos varios mensajeros secundarios, factores de transcripción, transductores de señales y la proteína activadora de la transcripción AP-1 (53). En algunas patologías puede promover la activación de la microglía y estimular la liberación de factores inflamatorios (54).

17. ESTRUCTURA BIOLÓGICA

CX3CL1 y su rol de quimioquina atípica se asocia al desarrollo de numerosas enfermedades inflamatorias, consta de 373 aminoácidos y está funcionalmente dividida en 4 dominios: un dominio extracelular de 76 aminoácidos conectado a un tallo extendido similar a mucina de 241 aminoácidos, seguido de dominios transmembrana e intracelulares de 21 y 35 aminoácidos respectivamente (Ver figura 7) (51).

CX3CL1 al ser sintetizada como una molécula unida a membrana permite realizar una escisión en la base de este tallo por una proteasa como TNF- α y como resultado de esta escisión la forma soluble funcionara como quimioatrayente de las células diana (55). Estas envían señales a través de un único receptor unido a proteína G: CX3CR1, este receptor se expresa en monocitos, NK, células T y células del músculo liso y son las encargadas de mediar la migración, la adhesión y la proliferación en condiciones homeostáticas como inflamatorias

(56).

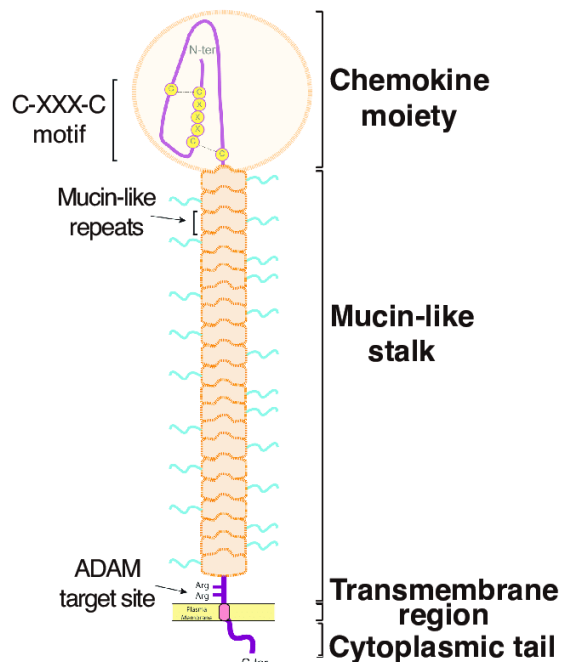


Figura 7. Estructura Fractalcina/ CX3CL1 (fkn). Dominio de quimiquina, tallo de mucina, región transmembrana y tallo.

Fuente: Lu X (54)

18. EXPRESIÓN CELULAR

Nishimura y colaboradores expresan que las células auxiliares CD4 + (Th) y las células T citotóxicas CD8 + (Tc) según las quimiocinas que las producen pueden dividirse en dos grupos, por un lado, tenemos las células Th1 y Tc1 que van a secretar IFN- γ , TNF- α e IL-2, encargadas de la respuesta inmune contra patógenos y las células Th2 y Tc2 producen IL-4, IL-5 e IL-13, que responden contra patógenos extracelulares y están asociadas con respuestas inmunes alérgicas (57,58). Fraticelli argumenta que la mayoría de las células que tienen gránulos citoplasmáticos y contienen perforina y granzima B expresan receptores de tipo CX3CR1, las células Th1 responden a fractalquina/CX3CL1, y en células como T CD4, CD8, células $\gamma\delta$ y células NK, también expresan CX3CR1 (58).

18.1 Células implicadas en la expresión de CX3CL1 en Enfermedades Autoinmunes (EAI).

Entre las principales células que están presentes en el desarrollo de EAI tenemos, TNF- α que es una citocina pleiotrópica con efectos proinflamatorios y está implicada en la aterosclerosis y otros trastornos metabólicos e inflamatorios como la obesidad y la AR, el TNF- α regula de manera positiva la fractalquina/CX3CL1 aumentando significativamente la expresión de CX3CL1 cuando el paciente se encuentra en un proceso inflamatorio (59). Por otro lado, el interferón- γ , que se encarga del reconocimiento de patógenos, el procesamiento y la presentación de antígenos, la defensa viral, la inhibición de la proliferación celular y los efectos sobre la apoptosis, la activación de funciones efectoras microbicidas, la inmunomodulación y el tráfico de leucocitos (59). En relación TNF- α e IFN- γ sirven como agonistas para la inducción de una variedad de citoquinas, y cuando hay coestimulación con TNF- α e IFN- γ inducen la

expresión de fractalquina/CX3CL1 (58,59). También se encuentra la interleucina-1 β que es secretada por monocitos, macrófagos tisulares, CD, linfocitos B y células NK, induciendo la expresión de fractalquina/CX3CL1 y EA (59,60).

Jones y colaboradores describen que CX3CL1 es una quimioquina que está implicada en diversas patologías de tipo autoinmune, esto se debe a que las células que expresan CX3CL1 se relacionan en números procesos, como por ejemplo en la inflamación, siendo la encargada de la proliferación celular que estarán presentes en la fisiopatología de la misma. En la AR, actúa como agente quimiotáctico para monocitos y linfocitos y como molécula de adhesión celular, lo que aumenta la expresión de CX3CL1 (56,61). Otra de las patologías asociadas es la del SS que es una enfermedad autoinmune donde las células inmunitarias atacan y destruyen las glándulas exocrinas que producen lágrimas y saliva, este mismo estudio identifico que CX3CL1 se encuentra en mayor proporción en glándulas salivales por este motivo aumentara el proceso de quimiotaxis en los pacientes que presenten SS (62).

En LES, una enfermedad de tipo autoinmune que se caracteriza por daño multiorgánico con infiltración y secuestro de varias células inmunes, lo que permite expresar el aumento de la concentración sérica de CX3CL1 puesto que los niveles de ARN mensajero (ARNm) específico para el receptor CX3CR1 aumenta en este tipo de pacientes (63). En la ES, caracterizada por fibrosis y alteraciones vasculares principalmente de la piel, CX3CL1 aumenta el reclutamiento de células mononucleares en el tejido afectado, lo que provoca inflamación, aumentando la expresión mejorada de fractalquina/CX3CL1 en la piel y los tejidos pulmonares afectados de pacientes con ES (57).

Funciones fisiológicas de CX3CL1: CX3CL1-CX3CR1 desempeña un papel antiapoptóticos en el desarrollo y la supervivencia de las células mieloides, en relación a este desarrollo, se define una vía de supervivencia para CX3CL1-CX3CR1 donde los monocitos crean supervivencia dentro del desarrollo de las EA (64). Los efectos antiapoptóticos de CX3CL1 están mediados por la proteína G, activando la aterogénesis y la inmunidad humana permitiendo la supervivencia de las células T durante, también median la supervivencia y proliferación de las células del músculo liso vascular a través de la señalización dependiente de ERK y Akt, con la fosforilación de Akt mediada por la transactivación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (64).

19. UNIVERSO, POBLACIÓN Y MUESTRA

19.1 Tipo de estudio:

El presente estudio es de carácter observacional y retrospectivo. Se basó en la base de datos del grupo CREA, que abarca una cohorte de 2149 pacientes diagnosticados con diversas enfermedades autoinmunes, tales como EM, AR, SS, ES, enfermedad tiroidea autoinmune (AITD) y síndrome antifosfolípido (ASP). De esta cohorte, se seleccionaron específicamente 126 pacientes diagnosticados con ES. Para la muestra específica de este estudio, se incluyeron 36 pacientes con ES que cumplieran con los criterios de clasificación ACR/EULAR 2013 y contaban con muestras biológicas disponibles en el Biorepositorio del CREA. Además, se seleccionaron 36 controles sanos con el fin de realizar comparaciones entre los individuos sanos y los pacientes diagnosticados con esclerosis sistémica.

- **Criterios de inclusión:**

Nacionalidad colombiana: Los pacientes seleccionados para el estudio debían ser de nacionalidad colombiana. Este criterio garantiza que la muestra sea representativa de la población colombiana, permitiendo la extrapolación de los hallazgos a esta población específica.

Edad: Se incluyeron en el estudio únicamente pacientes mayores de 18 años. Este criterio se estableció para enfocarse en la población adulta, donde la ES es más prevalente y clínicamente relevante.

Criterios ACR/EULAR 2013: Todos los pacientes debían cumplir con los criterios de clasificación ACR/EULAR 2013 para esclerosis sistémica. Estos criterios, desarrollados por el ACR y EULAR, aseguran que los pacientes tengan un diagnóstico confiable y estandarizado de ES, aumentando la validez de los resultados del estudio.

Consulta de reumatología: Los pacientes debían asistir a la consulta de reumatología del CREA de la Universidad del Rosario. Este requisito asegura que los pacientes reciban una evaluación y seguimiento adecuados por especialistas en EA.

Consentimiento informado: Se requirió que todos los pacientes proporcionaran un consentimiento informado, avalado por el comité de ética. Esto garantiza que los pacientes estén plenamente informados sobre el estudio y que su participación sea voluntaria, cumpliendo con los principios éticos de la investigación médica.

- **Criterios de exclusión:**

Registro de pacientes sin consentimiento informado: Se excluyeron los registros de pacientes que no contaban con el consentimiento informado.

Muestras faltantes: Se excluyeron los registros de pacientes con muestras biológicas faltantes. La disponibilidad completa de muestras biológicas es crucial para realizar las pruebas necesarias y obtener resultados fiables.

Enfermedades infecciosas o inflamatorias: Se excluyeron pacientes con presencia de enfermedades infecciosas o condiciones inflamatorias que pudieran interferir con los resultados del estudio. Estas condiciones podrían afectar los niveles de Fractalcina/CX3CL1 y, por lo tanto, sesgar los hallazgos relacionados con la fisiopatología de la ES.

Esta metodología asegura que la población estudiada sea homogénea y cumpla con los criterios necesarios para evaluar de manera precisa el papel de la Fractalcina/CX3CL1 en la fisiopatología de ES, permitiendo así obtener resultados relevantes y aplicables a la práctica clínica.

20. HIPÓTESIS, VARIABLES E INDICADORES

Se ha identificado que la proteína Fractalcina/ CX3CL1 al ser una proteína soluble y actuar como un factor quimiotáctico para los leucocitos, especialmente los monocitos y las células T, se caracteriza por su estructura única de tres aminoácidos de cisteína y se unirá específicamente al receptor CX3CR1 en la superficie de los leucocitos, lo que desencadena respuestas celulares como la migración y la adhesión a células endoteliales, regulando la inflamación, la respuesta inmune y la patogénesis de diversas enfermedades, incluyendo las enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, su función principal es promover el reclutamiento de monocitos y células T en el tejido afectado cooperando con la producción de citoquinas proinflamatorias que conllevan a vasculopatía e inflamación en diferentes tejidos en ES. Por ejemplo, en el estudio de Hasegawa y colaboradores evaluó la expresión de fractalcina/ CX3CL1 y CX3CR1 en la piel y tejidos pulmonares y fractalcina soluble en suero en pacientes con ES. El estudio arrojó un aumento de fractalcina en células endoteliales vasculares de la piel lesionada y en los tejidos pulmonares y un aumento en la expresión de CX3CR1 en células T CD4+ y TCD8+ y monocitos/macrófagos en pacientes con ES. Estos hallazgos se correlacionaron con el aumento de fractalcina en suero de estos pacientes. Estos resultados sugieren que esta interacción entre fractalcina/ CX3CL1- CX3CR1 pueden estar contribuyendo al mecanismo fisiopatológico de la enfermedad (65).

De esta manera se ha logrado establecer que Fractalcina / CX3CL1 regula el tráfico de células inflamatorias a través del endotelio vascular lo cual juega un papel crucial en la patogénesis de la HAP, una complicación severa en los pacientes con ES (66). Se ha demostrado que las

células T de pacientes con HAP regulan al alza CX3CR1, junto con altas concentraciones plasmáticas de fractalcina e hiperexpresión de fractalcina en el parénquima pulmonar y en células endoteliales de la arteria pulmonar (67).

Es importante saber que la ES, es una enfermedad compleja y poco comprendida que puede tener consecuencias graves en la calidad de vida de los pacientes. Identificar y comprender los mecanismos subyacentes de la enfermedad, incluyendo el papel de la Fractalcina, puede proporcionar información crucial para el desarrollo de estrategias terapéuticas más efectivas. De esta manera la Fractalcina/CX3CL1 es una quimioquina que desempeña un papel clave en la regulación de la migración y activación de células del sistema inmunitario, así como en la comunicación entre células inflamatorias y células del tejido afectado. Estudios previos han sugerido su participación en procesos inflamatorios y fibrosantes, que son características distintivas de esta enfermedad (68).

Por esta razón, se plantea una hipótesis que muestra una interacción entre la fractalcina y su receptor CX3CR1, los que contribuyen al reclutamiento de monocitos y células T en el tejido afectado, lo que a su vez coopera con la producción de citoquinas proinflamatorias. Esto a su vez, promovería la vasculopatía e inflamación en diferentes tejidos en la ES, lo que podría influir en la gravedad y la progresión de la enfermedad. Esta hipótesis se explorará y sustentará en el presente trabajo de grado mediante la investigación y análisis de datos clínicos y experimentales relacionados con la expresión y función de la Fractalcina en pacientes con ES.

En cuanto a las variables que se tendrán en cuenta para el desarrollo del siguiente trabajo, podemos mencionar varios aspectos relevantes tales como :

Variables sociodemográficas: Edad de los pacientes, genero, cantidad de pacientes (pacientes con ES y pacientes control), duración de la enfermedad, nivel educativo, estado civil, estrato, régimen de salud.

Variables clínicas: Diagnóstico confirmado de HTA, infarto agudo de miocardio, diagnostico confirmado de IAM, enfermedad cerebro vascular, diagnostico confirmado de ECV, dislipidemia, diagnostico confirmado de dislipidemia, enfermedad arterial periférica, diagnóstico de EAP, diagnostico diabetes mellitus tipo 2, presencia de algún tipo de neoplasia, presencia de algún antecedente trombótico, osteoporosis, fibromialgias, depresión.

Variables clínicas de ES según la EULAR 2013: Engrosamiento de la piel de los dedos, que se extiende mínimo hasta región metacarpofalángica y engrosamiento de la piel de los dedos, lesiones en la punta de los dedos, telangectasia, capilaroscopia normal, hipertensión pulmonar y/o enfermedad intersticial pulmonar, FR, ANAs, Scl-70, anti centrómero, Anticuerpo anti ARN polimerasa III (7).

Otros síntomas relacionados con ES: Depósito de calcio en tejido subcutáneo, morfea, esclerosis cutánea, microstomia, limitación en la apertura oral, hipopigmentación, aumento en la producción de melanina por lo que se observa zonas de piel más oscuras, alopecia, pérdida de peso a nivel localizado, distrofia ungueal, reflujo gastroesofágico, disfagia, disnea, tos.

Tratamiento: Tipo de tratamiento, mofetilmicofenolato, ciclofosfamida, metotrexate, rapamicina ciclosporina A, nintedanib, tocilizumab, bosentán, la frecuencia del tratamiento, tiempo de administración del tratamiento.

Se analizó también la expresión de Fractalcina y su receptor CX3CR1 en diferentes pacientes con ES e individuos sanos, se tuvo en consideración otros biomarcadores inflamatorios y vasculares, así como la presencia de autoanticuerpos específicos asociados con la ES. Estas variables se utilizaron para investigar la posible relación entre la Fractalcina y la fisiopatología de la ES, lo que ayudará a comprender mejor los mecanismos subyacentes de la enfermedad, también se tuvo en cuenta el tipo de estudio que se realizó, la elección de los pacientes y los individuos sanos, las muestras biológicas, la técnica usada que fue una ELISA, la correlación de parámetros clínicos y los niveles séricos de la quimiocina Fractalcina/ FKN.

21. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

Con el fin de desarrollar los objetivos planteados dentro del estudio, se hace uso de la información registrada en la base de datos del CREA de los pacientes con ES (n=36) y de los individuos sanos (n=36), con el fin de extraer la información sociodemográfica y clínica. Esta información se correlaciona con los resultados de la concentración de Fractalcina / CX3CL1. La base de datos del CREA cumple con los estándares de anonimidad requerida para estos estudios.

Para desarrollar la parte experimental, el CREA realizó procesos de laboratorio esenciales para garantizar la obtención de muestras de alta calidad, estas muestras se obtuvieron y se recolectaron en tubos donde se encontraba la muestra de los pacientes que fueron diagnosticados con ES y la de los individuos sanos, fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 10 minutos para poder separar y obtener el suero. El suero fue alicuotado bajo condiciones de esterilidad y almacenado a -80°C. Estos procesos son fundamentales en la investigación y el diagnóstico médico (69).

Una vez fueron obtenidas las muestras de los pacientes diagnosticados con ES y de los individuos sanos, se realizó con cada uno de ellos (36 pacientes con ES y 36 individuos sanos) una técnica de ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas ELISA. Para esto se usó un kit Quantikine ELISA (Human CX3CL1/Fractalkine Immunoassay) de la casa comercial R&D Systems (RD), este consta de una microplaca de poliestireno, de 96 pocillos las cuales estarán recubiertas con un anticuerpo monoclonal específico para la Fractalcina humana, un conjugado de un anticuerpo monoclonal para CX3CL1, un estándar liofilizado que funciona como recombinante para una base proteica tamponada, y un diluyente de ensayo RD1-88, siendo una

base proteómica tamponada con adicción de conservantes . Un diluyente calibrador RD6-11, un tampón de lavado concentrado tensoactivo, que será útil para realizar el lavado de la microplaca, un cromógeno el cual contiene reactivo A siendo este peróxido de hidrogeno estabilizado y reactivo B que es tetrametilbencidina, los dos funcionan como una sustancia que da color a las muestras con una mayor concentración de antígeno produciendo una señal directamente proporcional a la cantidad de antígeno correspondiente a la muestra (69).

Para la interpretación de los resultados se promediaron las lecturas duplicadas de cada valor para cada estándar, para los controles y las respectivas muestras y a estas se les resto la densidad óptica (OD) correspondiente, con esto se crea una curva de tipo log/log, haciendo que los datos puedan linealizarse trazando el registro de las concentraciones de fractalquina humana frente al registro de la OD en una escala lineal para realizar la interpretación de los resultados (Ver figura 8) (69).

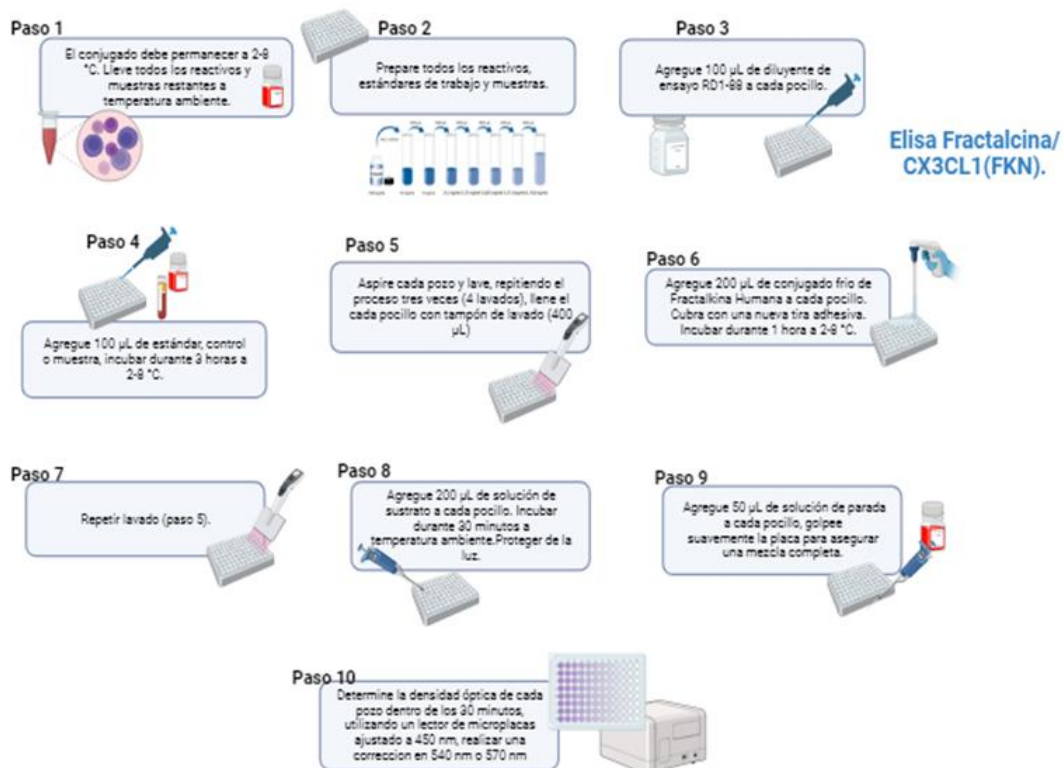


Figura 8. Representación gráfica del paso a paso inserto Fractalcina/ CX3CL1(FKN).

Fuente: Creación Propia

Al momento de realizar el montaje, en cada uno de los pocillos correspondientes se agregaron 100ul de diluyente de ensayo RD1- 88, luego se agregaron 100ul de la muestra de los pacientes que habían sido diagnosticados con ES y los individuos sanos. Una vez agregado el diluyente y las muestras respectivamente se llevaron a incubar durante 3 horas de 2-9 °C. Después de haber incubado la microplaca, se aspira cada uno de los pocillos y se agregan 400ul de tampón de lavado. Este proceso se lo realizó cuatro veces. Una vez lavado todos los pocillos, se agregaron 200ul de conjugado frío de Fractalcina humana a cada pocillo, se cubrió la microplaca con una tira adhesiva y se incubó por una hora de 2-9 °C. Luego de incubar por una hora, se realizó nuevamente un lavado, seguido de esto se agregaron 200ul de solución de sustrato a cada pocillo, se incuba nuevamente la microplaca por 90 minutos a temperatura ambiente protegida de la luz. Se dejaron pasar 90 minutos y se agregaron 50ul de solución de parada a cada pocillo y por ultimo se determina la densidad óptica de cada uno de los pocillos utilizando un lector de microplacas ajustado a 400nm.

Para la interpretación de los resultados se promediaron las lecturas duplicadas de cada valor para cada estándar, para los controles y las respectivas muestras y a estas se les resto la OD correspondiente, con esto se crea una curva de tipo log/log, haciendo que los datos puedan linealizarse trazando el registro de las concentraciones de fractalquina humana frente al registro de la OD en una escala lineal para realizar la interpretación de los resultados (69).

22. RESULTADOS

Para el cumplimiento de los objetivos se tuvo en cuenta:

Objetivo 1: Describir las características sociodemográficas de pacientes con esclerosis sistémica.

Para el cumplimiento de este objetivo se realizó un análisis detallado de las características sociodemográficas y clínicas de los pacientes diagnosticados con esta enfermedad. La información recopilada y presentada en las tablas abarca una variedad de variables que incluyen, pero no se limitan a, la edad, género, nivel socioeconómico, y ubicación geográfica de los pacientes, así como datos clínicos específicos relacionados con la enfermedad. El análisis sociodemográfico es fundamental para comprender mejor el perfil de los pacientes con ES y su distribución dentro de la población colombiana. A continuación, se presentan las tablas que detallan las características sociodemográficas, clínicas y otras variables relevantes de los pacientes con ES incluidos en este estudio (Ver tabla 3).

Tabla 3 Características generales de pacientes con esclerosis sistémica y sanos. Fuente: Creación CREA

Variable (%)	ES (n = 36)
Sociodemográficos.	
Edad	57 (11.8) (50,8-63)
Sexo	

Masculino	1 (2,8%)
Femenino	35 (97,2%)
Edad de inicio (Mediana – IQR)	46 (37-51)
Duración de la enfermedad (Mediana-IQR)	8 (4-17)
Logro educativo (Mediana-IQR)	11 (11-16)
Nivel escolar.	
Menos de 9 años	14 (38,8)
Mas de 9 años	22 (61,1)
Características clinicas	
Calcinosis	
Si	7 (19,4)
No	20 (55,6)
NA	9 (25)
Hipopigmentacion	
Si	8 (22,2)
No	19 (52,8)

NA	9 (25)
Hiperpigmentación	
Si	11 (30,6)
No	16 (44,4)
NA	9 (25)
Poliautoinmunidad	
Lupus eritematoso sistémico	6
Enfermedad autoinmune de la tiroides	5
Artritis reumatoide	4
Síndrome de Sjögren	2
Dermatopolimiositis	1
Autoanticuerpos	
Anticuerpos antinucleares	
Si	25 (69,4)
No	1 (2,7)
NA	10 (27,7)

Gestion	
Tratamiento	
Si	28 (77,7)
No	4 (11,1)
NA	4 (11,1)
Corticoides	
Si	19 (52,7)
No	13 (36,1)
NA	4 (11,1)
Inmunosupresores	
Si	9 (25)
No	23 (63,8)
NA	4 (11,1)
Criterios clínicos	
Inflamación de los dedos	
Si	5 (13,8)

No	31 (86,1)
Esclerodactilia	
Si	30 (83,3)
No	6 (16,6)
Lesiones en punta de dedos	
Si	9 (25)
No	27 (75)
Cicatrices en la punta de los dedos	
Si	9 (25)
No	27 (75)
Ulceras digitales	
Si	3 (8,3)
No	33 (91,6)
Telangiectasias	
Si	34 (94,4)
No	2 (5,5)

Fenómeno de Raynaud	
Si	34 (94,4)
No	2 (5,5)
Anticuerpos relacionados con ES	
Si	22 (61,1)
No	14 (38,8)
Anti-centrómero	
Si	20 (55,6)
No	16 (44,4)
Anti-Scl70	
Si	2 (5,6)
No	34 (94,4)
Anti-RNA polimerasa III	
No	36 (100)

En el análisis sociodemográfico de los pacientes con ES incluidos en este estudio, mostró una baja prevalencia de poliautoinmunidad. Específicamente solo el 20% de los pacientes presentaron esta condición. La prevalencia de poliautoinmunidad varía según la población y las EA específicas consideradas dentro del estudio, y que la mayoría de los pacientes con ES no tienen otras enfermedades autoinmunes concurrentes (Ver figura 9). La baja prevalencia observada puede estar influenciada por diversos factores, como el tamaño de la muestra, la metodología de diagnóstico utilizada, y las características específicas de la población estudiada.

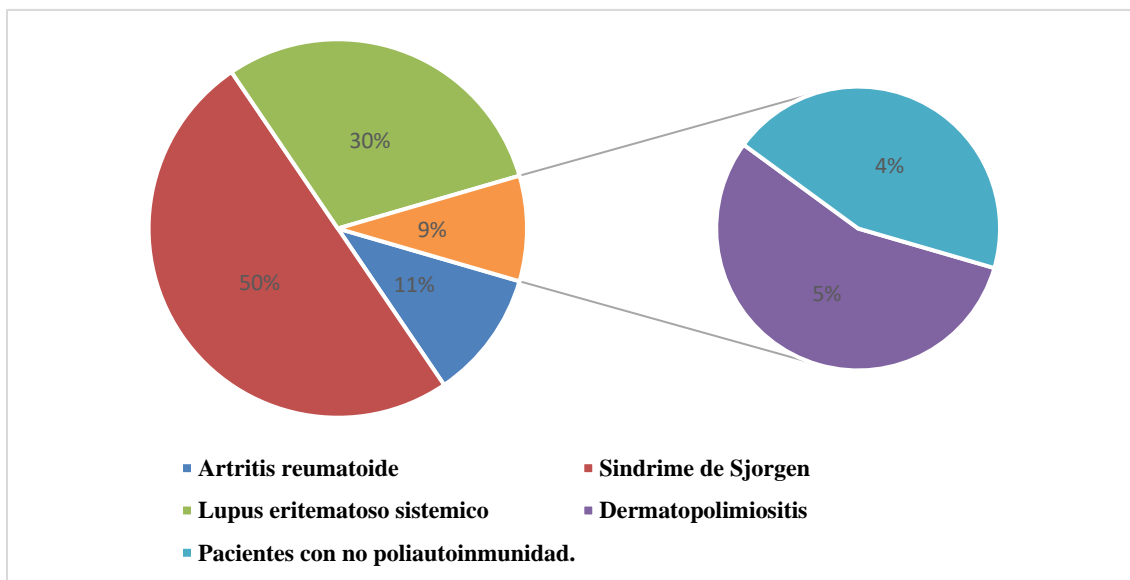


Figura 9. Poliautoinmunidad en pacientes con Esclerosis sistémica. Representación de las patologías encontradas en la población estudio.

Fuente: Creación propia.

Se realizó una evaluación detallada de las características sociodemográficas de los grupos de estudio, donde se encontró que la población con ES tenía una edad promedio de 57 años, con un marcado predominio del sexo femenino, representando el 90% de los casos, mientras que el sexo masculino constituía solo el 10% (Ver figura 10).

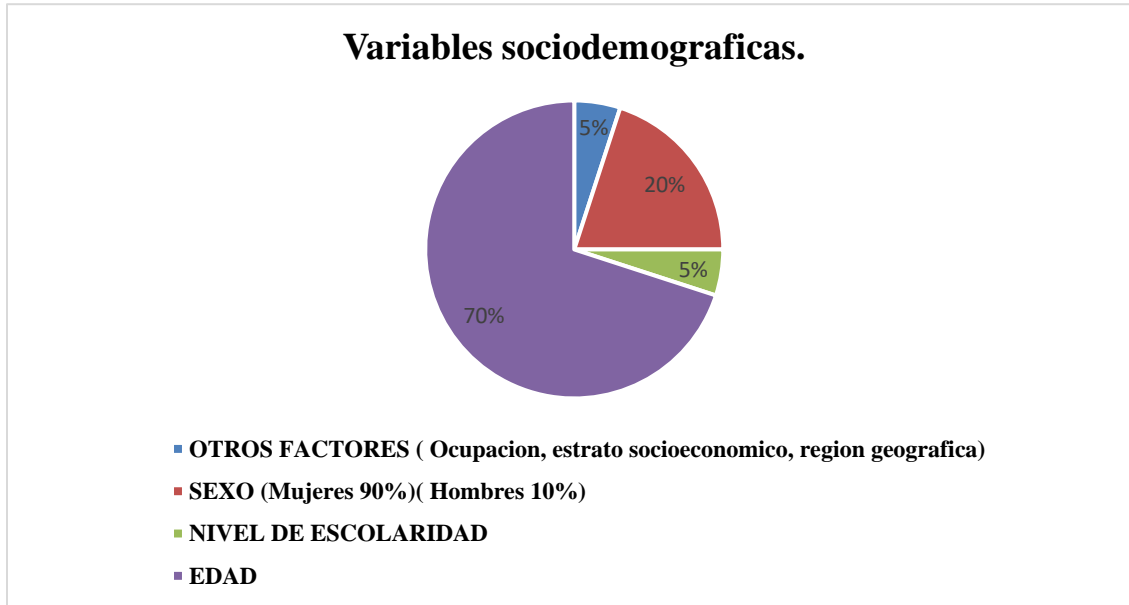


Figura 10. Variables sociodemográficas más representativas en pacientes con ES e individuos sanos. Representación de las variables que hacen parte de la población estudio.

Fuente: Creación propia.

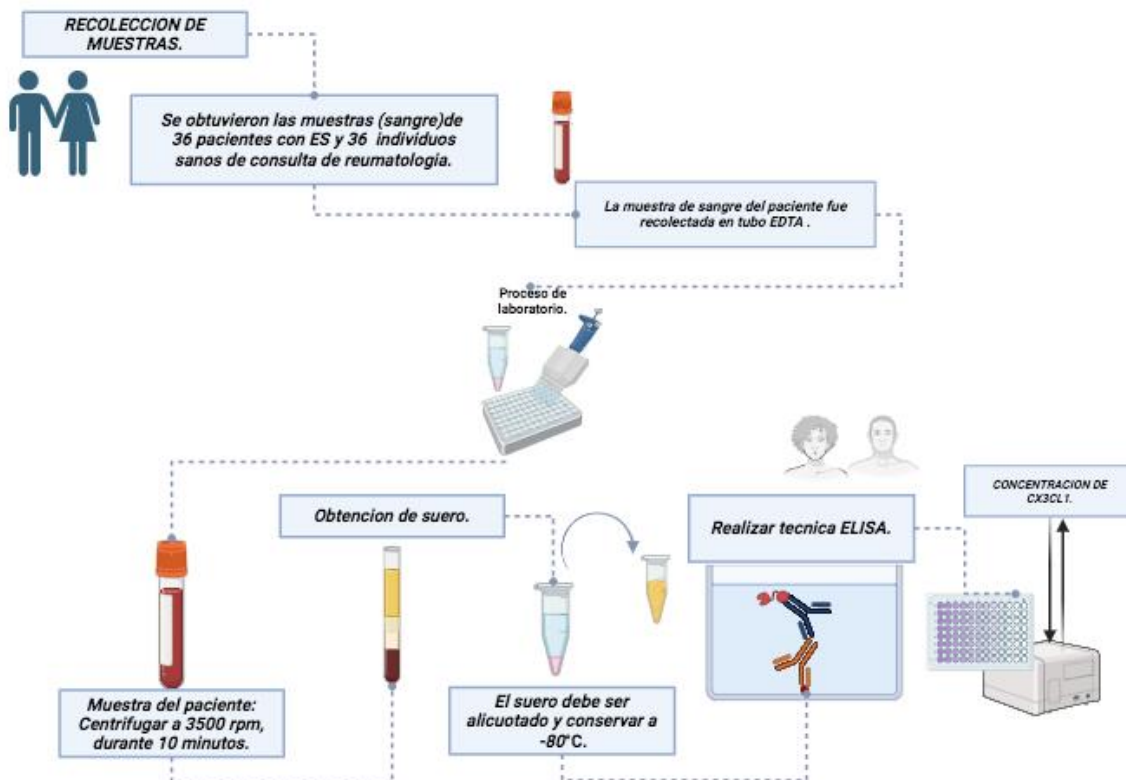
El 72% de los pacientes presentaron engrosamiento en la piel de los dedos, una característica clínica distintiva de la enfermedad, el 94.4% de los pacientes mostraron telangiectasias y FR, indicativos de la vasculopatía asociada con la ES, mostrando de esta manera que CX3CL1 contribuye a desarrollar procesos inflamatorios y fibrogénicos implicados en la ES.

Se destacó la relevancia de los anticuerpos anti centrómero en la ESL Se encontró que el 55.6% de los pacientes fueron positivos para estos autoanticuerpos, sugiriendo una variabilidad en el desarrollo de la enfermedad en los individuos afectados. Esta asociación entre los

autoanticuerpos anti centrómero y la ESL proporciona información valiosa sobre la heterogeneidad clínica de la enfermedad.

Objetivo 2: Identificar la quimioquina Fractalcina/CX3CL1 en suero de pacientes con esclerosis sistémica.

Para cumplir con este objetivo, se llevó a cabo un proceso exhaustivo de recopilación y análisis de datos tanto de pacientes diagnosticados con ES como de individuos sanos. Los datos fueron obtenidos a partir de las consultas realizadas en la sección de reumatología del CREA de la Universidad del Rosario. Este proceso incluyó una revisión minuciosa de las historias clínicas de los pacientes, donde se recogieron datos detallados sobre sus antecedentes médicos, características clínicas, tratamientos recibidos y evolución de la enfermedad. Las muestras de



suero fueron analizadas para medir las concentraciones de Fractalcina/CX3CL1, permitiendo así establecer una correlación entre estos niveles y las manifestaciones clínicas de la enfermedad (Ver figura 11).

Figura 11. Modelo metodológico. Recolección de las muestras de los pacientes, proceso de laboratorio y técnicas empleadas.

Fuente: Creación propia

Una vez se obtuvieron los valores de las concentraciones, estos valores se promedian con las lecturas duplicadas para cada estándar, control y muestra, y se resta la OD del estándar, con estos datos se creó una curva estándar de tipo log/log, trazando la absorbancia media de cada estándar en el eje “y” frente a la concentración en el eje “x”, y una vez trazada la curva los datos se linealizaron trazando el registro de las concentraciones de Fractalcina humana frente al registro de la OD en una escala lineal, y se determinó la línea de mejor ajuste mediante análisis de regresión (Ver figura 12).

CONCENTRACIÓN LOG ng/ml	ABS-LOG
1	0,097
0,699	-0,301
0,398	-0,632
0,097	-0,949
-0,204	-1,240
-0,504	-1,602
-0,807	-1,921

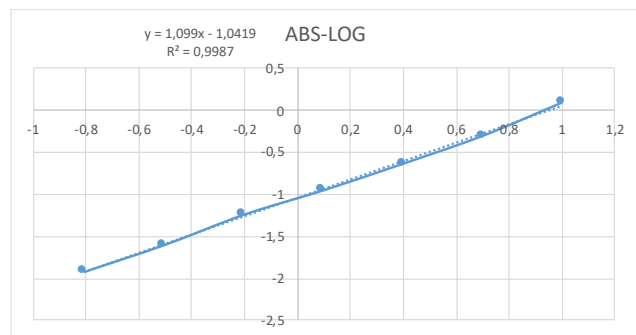


Figura 12. Curva estándar Fractalcina FKN (Densidad óptica/ concentración FKN. Valores densidad óptica y concentración (ng/mL) para el análisis de datos en muestras de suero para Fractalcina/ CX3CL1.

Fuente: Creación propia

Para evaluar la eficacia de los modelos predictivos del estudio, se empleó una representación gráfica conocida como curva ROC, esta curva establece una relación entre la sensibilidad, representada en el eje y, y la especificidad, reflejada en el eje x como el complemento de la especificidad. La curva se realiza con los siguientes datos (Ver tabla 4).

**Tabla 4 Concentraciones de pacientes con Esclerosis Sistémica (1) Individuos sanos (2).
Fuente: Creación propia.**

GRUPOS	CONCENTRACIÓN ng/ml	GRUPOS	CONCENTRACIÓN ng/ml
1	0,675	2	0,758
1	0,602	2	0,675
1	1,002	2	0,507
1	0,820	2	0,309
1	0,851	2	0,581
1	0,911	2	0,982
1	0,623	2	1,042
1	1,338	2	0,769
1	0,789	2	0,602

1	0,748	2	0,581
1	1,396	2	0,810
1	0,696	2	1,062
1	1,240	2	0,665
1	0,727	2	0,517
1	0,442	2	0,453
1	0,686	2	0,738
1	0,982	2	0,779
1	1,210	2	0,442
1	1,122	2	0,463
1	1,299	2	0,442
1	0,881	2	0,810
1	1,220	2	0,707
1	0,707	2	0,613
1	0,665	2	0,549
1	0,592	2	0,830

1	2,822	2	0,485
1	1,012	2	0,717
1	1,032	2	0,623
1	0,921	2	0,665
1	1,062	2	0,420
1	0,644	2	0,442
1	0,570	2	0,507
1	0,871	2	0,644
1	0,901	2	0,431
1	1,072	2	0,287
1	0,972	2	0,485

Mediante el análisis de diferentes puntos de corte o umbrales de clasificación, pudimos realizar una evaluación detallada de la capacidad discriminativa del modelo, en este estudio se utilizó la curva ROC para analizar un grupo de 36 individuos sanos y 36 pacientes diagnosticados con ES para de esta manera poder observar los individuos que más sobre expresaron Fractalcina/CX3CL1.

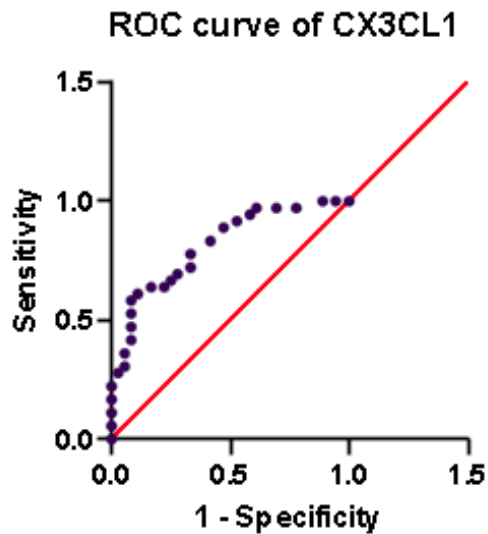


Figura 13. Curva ROC, Expresión de CX3CL1 en pacientes con ES, e individuos sanos. Tasa de verdaderos positivos (sensibilidad), Tasa de falsos positivos (especificidad).

Fuente: Creación CREA.

Los resultados revelaron un AUC (Área Bajo la Curva) de 0.814, lo que indica un buen rendimiento del modelo de clasificación, que nos ayuda a distinguir de manera eficiente entre individuos que presentan una sobreexpresión de CX3CL1 respecto a los que no la expresan.

Para cuantificar y validar estas diferencias, se utilizó una prueba T (Ver tabla 5).

Tabla 5 Valores obtenidos prueba T.

Descripción	Valor
z(Valor observado)	6,378
Z(valor crítico)	1,96
Valor p	<0,0001
alfa	0,05

Fuente: Creación propia.

Los resultados indicaron que los niveles de Fractalcina/CX3CL1 en el suero de los pacientes con ES eran significativamente mayores que en los individuos sanos. Este hallazgo está respaldado por un valor p menor a 0.0001 (Ver tabla 5), lo que sugiere que la probabilidad de que las diferencias observadas se deban al azar es extremadamente baja, proporcionando evidencia sólida de la significancia estadística de los resultados.

Se realizó una comparación entre pacientes diagnosticados con ES y un grupo de individuos sanos. Se identificaron dos puntos de corte distintos para evaluar la sensibilidad y especificidad de la concentración de CX3CL1. En el primer punto de corte, se encontró una concentración de 0,820 ng/ml, con una sensibilidad del 61,1% y una especificidad del 88.9% (Ver tabla 6). Por otro lado, en el segundo punto de corte, la concentración fue de 0,851 ng/ml, con una sensibilidad del 58,3% y una especificidad del 91,7%. Para determinar el punto de corte que indica la sobreexpresión de CX3CL1 en los pacientes, se seleccionaron los valores más altos en términos de concentración, sensibilidad y especificidad. En consecuencia, se estableció que aquellos individuos con una concentración igual o superior a 0,851 ng/ml, una sensibilidad de al menos 58,3% y una especificidad de al menos 91,7% podrían considerarse como pacientes que sobreexpresan CX3CL1 (Ver tabla 6).

Tabla 6 Valores de concentración, sensibilidad y especificidad de Fractalcina7 CX3CL1 en pacientes con esclerosis sistémica e individuos sanos.

<i>Concentración</i>	<i>Sensibilidad</i>	<i>Límite superior</i>	<i>Límite inferior</i>	<i>Especificidad</i>	<i>Límite superior</i>	<i>Límite inferior</i>
0,820	0,611	0,448	0,752	0,889	0,739	0,961
0,851	0,583	0,422	0,728	0,917	0,773	0,977

Los resultados revelaron una diferencia estadísticamente significativa en la expresión de CX3CL1 entre estos grupos. Específicamente, se observó una sobreexpresión de CX3CL1 en los pacientes con ES, en comparación con los individuos sanos, sugiriendo de esta manera un papel relevante de CX3CL1 en la patogénesis de la ES, creando de esta manera perspectivas para una mejor comprensión y el tratamiento para la ES (Ver figura 14).

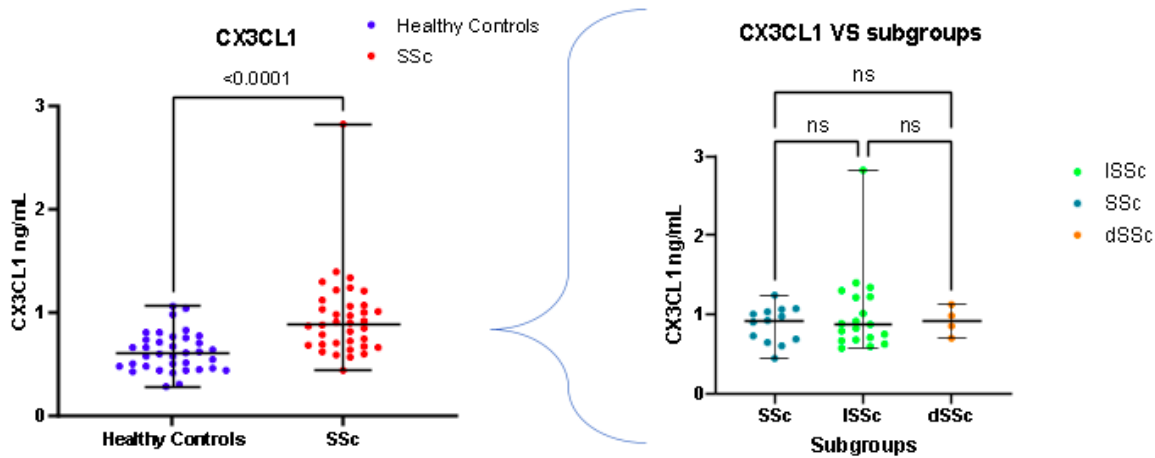


Figura 14. Expresión de la concentración de Fractalcina/ CX3CL1, en pacientes con ES e individuos sanos y comparación con subgrupos; esclerosis sistémica limitada, esclerosis sistémica y esclerosis sistémica difusa.

Fuente: Creación CREA.

Al comparar la concentración de CX3CL1 entre los grupos pacientes con ES e individuos sanos, se observaron diferencias significativas. De los 36 pacientes diagnosticados con ES, 21 mostraron una concentración de CX3CL1 mayor a 0,851ng/ml. En contraste, 2 de los 36 individuos sanos presentaron una concentración de CX3CL1 superior a 1,00 ng/ml, sugiriendo así que CX3CL1 se relaciona en la fisiopatología de ES, resaltando su potencial como un biomarcador relevante en esta enfermedad (Ver tabla 4).

Dentro del grupo de pacientes con ES, se midió las concentraciones de CX3CL1 en los subtipos de ESL y ESD, en cuanto a los pacientes con ESL una proporción mostró concentraciones elevadas de CX3CL1, aunque en menor magnitud comparada con los pacientes con ESD (Ver figura 14). La concentración media de CX3CL1 en este grupo se encontró en un rango

específico; por ejemplo, entre 0.851 y 1.200 ng/ml y el aumento de esta sugiere una correlación con la actividad inflamatoria y la desregulación inmunitaria, aunque de manera menos intensa que en ESD.

Por otro lado en los pacientes diagnosticados con ESD, las concentraciones fueron significativamente más altas de CX3CL1, con valores que superaban consistentemente el umbral de 1.200ng/ml, sugiriendo de esta manera mayor concentración de CX3CL1 en pacientes con ESD indica una relación más estrecha con la inflamación sistémica y la actividad inmunitaria exacerbada, características más pronunciadas en este subtipo de ES.

Objetivo 3: Describir el rol de la quimioquina Fractalcina/CX3CL1 en la fisiopatología de ES.

Para conocer y correlacionar los temas que se desarrollarán en el estudio, se realizó una exhaustiva búsqueda bibliográfica en diversas plataformas académicas tales como PubMed, Elsevier, revistas de reumatología, boletines epidemiológicos del instituto nacional de salud y estudios científicos, estos comprendidos durante un periodo de tiempo del año 2018 hasta el 2024; en algunos de ellos se tuvieron en cuenta años anteriores por su definición, aporte y correlación de aspectos que se deberán tener en cuenta en la actualidad y además evalúen el rol de la Fractalcina/ CX3CL1 en la fisiopatología de la ES. Se revisaron mas de 130 artículos, todos relacionados con ES y su fisiopatología, en ellos se tuvieron en cuenta palabras claves como: ES, autoinmunidad, fisiopatología, expresión celular. En cuanto a la revisión documental de la quimiocina Fractalcina/CX3CL1 se revisaron más de 20 artículos de los cuales se tuvieron en cuenta 9 de ellos para realizar una correlación clínica de la proteína y la enfermedad, todos estos correspondientes a las plataformas anteriormente mencionadas.

En el desarrollo de esta parte del estudio se analizaron investigaciones previas que hayan explorado la expresión y función de la Fractalcina en pacientes con ES, así como su potencial implicación en los mecanismos patogénicos subyacentes de la enfermedad. La revisión de la literatura permitió comprender cómo la Fractalcina contribuye a la desregulación inmunitaria y al proceso inflamatorio característicos de la ES, así mismo evaluar su viabilidad como biomarcador para el diagnóstico precoz y la monitorización de la progresión de la enfermedad ya que la Fractalcina es una quimiocina crucial para la regulación del sistema inmunológico y los procesos inflamatorios, su receptor, CX3CR1, se encuentra presente en varios tipos de células, incluyendo los leucocitos, que son fundamentales para la respuesta inmune. La interacción entre fractalcina y su receptor CX3CR1 provoca diversas respuestas biológicas, como la migración de células inmunitarias a través de los tejidos. En ES, se correlaciona, puesto que es una EA que afecta el tejido conectivo, la inflamación y la activación del sistema inmunológico son elementos centrales en la progresión de la enfermedad.

Esta información se correlaciona con los hallazgos de la literatura, los que nos indican que Fractalcina/CX3CL1 es una quimiocina transmembrana con funciones duales: como molécula de adhesión y quimiocina, se expresa en diversos tipos de células inmunitarias, incluyendo linfocitos T y monocitos/macrófagos, que son esenciales para la respuesta inmune.

Dentro de sus funciones, Fractalcina/CX3CL1 tiene una interacción con CX3CR1, siendo este su receptor lo que provoca respuestas biológicas críticas, como la migración de células inmunitarias a través del endotelio vascular y su infiltración en tejidos afectados. En ES, esta interacción contribuye a la inflamación crónica y la fibrosis, características distintivas de la enfermedad.

En la mediación de la migración celular, fractalcina/CX3CL1 realiza un proceso quimiotáctico, donde actúa como una quimiocina, atrayendo células inmunitarias como linfocitos T, monocitos y células NK hacia los sitios de inflamación. Esta atracción es fundamental para la formación y mantenimiento de un entorno inflamatorio adecuado para enfrentar patógenos o células dañadas. Como molécula de adhesión, fractalcina/CX3CL1 facilita la captura y adherencia de células inmunitarias al endotelio vascular. Esto permite que las células inmunitarias salgan del torrente sanguíneo y entren en los tejidos donde se requiere una respuesta inmune. En cuanto a la regulación de la respuesta inmunitaria, la interacción entre fractalcina/CX3CL1 y su receptor CX3CR1 activa diversas vías de señalización que promueven la migración, proliferación y supervivencia de estas células, provocando inflamación sostenida. La inflamación atrae y activa células inmunitarias, haciendo que fractalcina/CX3CL1 contribuya a la perpetuación de la inflamación crónica, una característica común en muchas EA.

Por otro lado en la ES, la fractalcina/ CX3CL1, realiza un proceso de infiltración de Células inmunitarias, atrayendo linfocitos T y monocitos al tejido afectado y cuando ya están dentro del tejido, liberan citoquinas proinflamatorias que perpetúan el ciclo inflamatorio. En cuanto a la promoción de la fibrosis, fractalcina/CX3CL1 contribuye a la activación de fibroblastos, que son las células responsables de la producción de la matriz extracelular y cuando hay una excesiva producción de esta matriz resulta en fibrosis, o un endurecimiento y engrosamiento del tejido conectivo característico de la ES.

23. DISCUSIÓN

En el marco del descubrimiento de biomarcadores proteicos en enfermedades autoinmunes, se ha propuesto a las quimiocinas y sus receptores como candidatos prometedores para el diagnóstico. Este interés se fundamenta en su papel regulador durante el proceso inflamatorio característico de las enfermedades autoinmunes. Entre las diversas clases de quimiocinas, se destaca la fractalcina/CX3CL1 como una molécula multifuncional que desempeña roles quimioatrayentes como moléculas de adhesión (70).

En su forma anclada a la membrana, CX3CL1 opera como una molécula de adhesión expresada principalmente en el endotelio inflamado, favoreciendo la retención de monocitos y células T. Por otro lado, en su forma soluble, actúa como quimioquina, induciendo la migración de monocitos, células asesinas naturales (NK) y células T. Estos hallazgos destacan la versatilidad de CX3CL1 y sugieren su potencial utilidad como biomarcador para el diagnóstico temprano y la comprensión de la patogénesis de las enfermedades autoinmunes (71,72).

Su receptor, CX3CR1, se expresa en diversas células, incluyendo leucocitos, elementos fundamentales en la respuesta inmune. La interacción entre CX3CL1 y CX3CR1 desencadena respuestas biológicas, destacándose la migración de células inmunitarias a través de los tejidos (73). En el contexto de la ES, una entidad patológica de naturaleza autoinmune y del tejido conectivo, la inflamación y la activación del sistema inmunológico se postulan como factores clave en su patogénesis. El incremento observado en la expresión de CX3CL1 y su receptor CX3CR1 en pacientes con ES podría atribuirse a diversos factores (27,74).

Los procesos de quimiotaxis y adhesión son modulados por el receptor CX3CR1, cuya expresión prevalece en células mononucleares (75,76,77). CX3CL1 se conoce como una molécula importante para diversas EA, tales como la artritis reumatoide, el SS y el LES (76,78). La participación relevante de CX3CL1 en estos trastornos radica en su sobreexpresión en los tejidos afectados, lo que conduce al reclutamiento de monocitos y células T mediante la interacción con CX3CR1. Este fenómeno contribuye significativamente a la producción de citoquinas proinflamatorias y al consecuente desarrollo de daño tisular. La evidencia acumulada a través de múltiples estudios consolida la importancia de la vía de señalización CX3CR1 como un componente crítico en la cascada molecular subyacente a la inflamación, promoviendo así la consideración de CX3CL1 como un potencial biomarcador de relevancia diagnóstica y terapéutica en estas complejas enfermedades (74,75).

Se ha logrado establecer que CX3CL1 desempeña un papel fundamental en la regulación del tráfico de células inflamatorias a través del endotelio vascular, lo cual ostenta una relevancia crítica en la patogénesis de la HAP, una complicación de gran gravedad en pacientes con ES (79). En el contexto de la HAP, se ha observado un aumento significativo en la regulación al alza de CX3CR1 en las células T de los pacientes, concomitante con concentraciones plasmáticas elevadas de CX3CL1 y una hiperexpresión de CX3CL1 tanto en el parénquima pulmonar como en las células endoteliales de la arteria pulmonar (79,80) .

A lo largo de las décadas, los continuos avances en la gestión de las EA no han proporcionado una claridad suficiente respecto al origen y desarrollo de estas afecciones. Se ha constatado que la remisión clínica se manifiesta en menos del 50% de los pacientes, lo cual impulsa la urgencia de investigar diversos blancos terapéuticos. Para abordar estos desafíos, resulta crucial emprender la identificación de biomarcadores que no solo faciliten el diagnóstico temprano, sino

que también posibiliten la discriminación de perfiles individuales con un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad. Este enfoque persigue no sólo una comprensión más profunda de las EA, sino también la formulación de estrategias terapéuticas más precisas y personalizadas para mejorar la calidad de vida de los pacientes afectados por estas complejas patologías (70).

La actual tendencia ascendente en la investigación de biomarcadores para las EA es un componente esencial para alcanzar los objetivos planteados. Este incremento en la exploración de biomarcadores se fundamenta en la ponderación de atributos cruciales, entre los que se destacan la facilidad de medición, la rentabilidad y la capacidad de reproducibilidad en muestras no invasivas.

La fractalquina, es expresada en las células endoteliales, facilita la activación y adhesión de los leucocitos, promoviendo así la inflamación crónica y el daño tisular característico de la ES. La forma soluble de la fractalquina también exhibe actividad quimiotáctica, atrayendo leucocitos al sitio de la inflamación, lo que podría exacerbar la patología de la enfermedad, además, se encontró que los niveles de CX3CR1 en monocitos/macrófagos periféricos y células T estaban elevados en pacientes con ESD. El número de células que expresan CX3CR1, incluidos monocitos/macrófagos, aumentó en la piel lesionada y en los tejidos pulmonares de pacientes con Esclerosis sistémica cutánea difusa. Los niveles de fractalcina soluble aumentaron significativamente en el suero y se asociaron con tasas elevadas de sedimentación globular, isquemia digital y gravedad de la fibrosis pulmonar.

Los hallazgos de este estudio aportan una evidencia sólida sobre el papel crucial de la quimiocina Fractalcina/CX3CL1 en la fisiopatología de la ES (73,80). La capacidad discriminativa del modelo de clasificación, representada por un AUC de 0.814, indica que los

niveles de Fractalcina/CX3CL1 en suero pueden ser un biomarcador confiable para distinguir entre individuos sanos y pacientes con ES. Este hallazgo tiene importantes implicaciones para el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad. El uso de la curva ROC en este estudio permitió una evaluación detallada de la capacidad del modelo para diferenciar entre los dos grupos estudio, pacientes diagnosticados con ES e individuos sanos. Un AUC de 0.814 indica un buen rendimiento del modelo, respaldando la validez de Fractalcina/CX3CL1 como un marcador biológico útil en ES. Este nivel de AUC sugiere una buena sensibilidad y especificidad del modelo, lo cual es crucial para su aplicación clínica.

Fractalcina/CX3CL1 ha sido implicada en la regulación del tráfico de células inflamatorias a través del endotelio vascular, además, la sobreexpresión de CX3CL1 en células endoteliales estimuladas con TNF- α proporciona una perspectiva molecular sobre su papel en la migración de linfocitos a través de las paredes vasculares. Esta perspectiva resalta la complejidad de la contribución de CX3CL1 a la patogénesis de ES, sugiriendo una interconexión entre la regulación de la respuesta inflamatoria y la progresión de las complicaciones pulmonares en este contexto clínico.

A pesar de los avances en el manejo de las EA, la remisión clínica se observa en menos del 50% de los pacientes, lo que subraya la necesidad de investigar nuevos objetivos terapéuticos. La identificación de biomarcadores no solo facilita el diagnóstico temprano, sino que también permite discriminar perfiles de riesgo individual, posibilitando el desarrollo de estrategias terapéuticas más precisas y personalizadas. La tendencia ascendente en la investigación de biomarcadores para ES se fundamenta en la facilidad de medición, la rentabilidad y la capacidad de reproducibilidad en muestras no invasivas.

Los hallazgos de Hasegawa y colaboradores indican que los niveles elevados de Fractalcina/CX3CL1 en pacientes con ES podrían estar relacionados con su papel en la mediación de la activación y adhesión de leucocitos que expresan el receptor CX3CR1 (75). La fractalquina, expresada en células endoteliales, facilita la activación y adhesión de leucocitos, promoviendo la inflamación crónica y el daño tisular característico de ES. La forma soluble de fractalquina también muestra actividad quimiotáctica, atrayendo leucocitos al sitio de la inflamación, exacerbando la patología de la enfermedad. En pacientes con ESCD, se ha encontrado que los niveles de CX3CR1 en monocitos/macrófagos periféricos y células T están elevados. El número de células que expresan CX3CR1 aumenta en la piel lesionada y en los tejidos pulmonares de estos pacientes. La fractalcina se expresa fuertemente en las células endoteliales de la piel y los tejidos pulmonares afectados, y sus niveles solubles en suero se asocian con tasas elevadas de sedimentación globular, isquemia digital y gravedad de la fibrosis pulmonar.

La prueba T realizada en este estudio mostró diferencias altamente significativas en los niveles de Fractalcina/CX3CL1 entre los pacientes con ES y los individuos sanos, con un valor p menor a 0.0001 (Ver tabla 5). Esto indica que la probabilidad de que las diferencias observadas se deban al azar es extremadamente baja, proporcionando una evidencia sólida de la significancia estadística de los resultados. Sin embargo, es fundamental abordar las limitaciones del estudio, como la necesidad de investigaciones más detalladas para comprender los mecanismos moleculares precisos subyacentes a esta asociación y la posible interacción de CX3CL1 con otros biomarcadores conocidos de ES.

Lo anterior hace que Fractalcina/CX3CL1 se destaque en comparación con otros biomarcadores debido a su dualidad funcional como molécula de adhesión y quimiocina, lo que le permite

mediar tanto la migración como la adhesión de leucocitos. Otros biomarcadores en ES incluyen interleucina-6 (IL-6), factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y quimiocina CCL2 (MCP-1). A diferencia de CX3CL1, que está directamente involucrada en la migración de células inmunitarias a través de las paredes vasculares, IL-6 y TGF- β están más relacionados con la activación de fibroblastos y la promoción de fibrosis, mientras que CCL2 se centra en la atracción de monocitos.

La elevada especificidad y sensibilidad que fueron determinados en el estudio en relación con los niveles de Fractalcina/CX3CL1 en suero proporcionan una herramienta prometedora para el diagnóstico diferencial y la evaluación de la gravedad de la enfermedad. Este hallazgo no solo aporta una nueva perspectiva en la comprensión de la fisiopatología de la ES, sino que también podría guiar futuras investigaciones y desarrollos terapéuticos dirigidos a modular la vía de CX3CL1 para mejorar los resultados clínicos en los pacientes con ES.

24. CONCLUSIONES

- En el análisis exhaustivo de las características sociodemográficas de los pacientes con ES, se destacó que la mayoría de los pacientes eran mujeres, lo cual concuerda con la tendencia global de predominio femenino en la enfermedad. La edad promedio de los pacientes refleja la incidencia típica de la ES sugiriendo que esta condición afecta principalmente a adultos de mediana edad. Además, la distribución geográfica y el nivel socioeconómico de los pacientes indican que la ES afecta a diversos grupos de la población, sin un área específica o nivel socioeconómico, resaltando de esta manera la importancia de considerar la diversidad demográfica al abordar la ES, permitiendo así la detección temprana, el acceso al tratamiento y la gestión para la enfermedad.
- El análisis de la presencia y la concentración de Fractalcina/CX3CL1 en el suero de pacientes con ES reveló diferencias significativas en comparación con individuos sanos. De los 36 pacientes diagnosticados con ES, 21 presentaron concentraciones de CX3CL1 superiores a 0,851 ng/mL, mientras que solo 2 de los 36 individuos sanos mostraron concentraciones superiores a 1,00 ng/mL. Estos resultados indican claramente que los niveles elevados de CX3CL1 están asociados con la ES. Por lo tanto, la detección de CX3CL1 en el suero podría servir como un biomarcador valioso para el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad, proporcionando así una herramienta prometedora para mejorar la precisión diagnóstica y la monitorización de la progresión de la ES
- El papel de la quimioquina Fractalcina/CX3CL1 en la fisiopatología de la ES ha sido evaluado mediante una revisión exhaustiva de literatura y un análisis detallado de los datos recopilados.

Estos estudios nos permiten concluir que la Fractalcina/CX3CL1 desempeña una función fundamental en la regulación del sistema inmunológico y los procesos inflamatorios, lo que contribuye a la desregulación inmunológica y a la inflamación crónica características de la ES. Además, se ha observado una interacción significativa entre la Fractalcina/CX3CL1 y su receptor CX3CR1, la cual promueve la migración y supervivencia de las células inmunitarias, perpetuando así la inflamación y la fibrosis tisular

- Fractalcina/CX3CL1 funciona como un buen biomarcador, puesto que tiene la capacidad discriminativa del modelo de clasificación, que esta representada por un AUC de 0.814, indica que los niveles de Fractalcina/CX3CL1 en suero son un biomarcador confiable para distinguir entre individuos sanos y pacientes con ES.
- La participación de Fractalcina/CX3CL1 en la activación y adhesión de leucocitos, así como en la inflamación crónica, sugiere que la vía CX3CL1/CX3CR1 podría ser un objetivo terapéutico valioso. Modificar esta vía podría reducir la infiltración leucocitaria en los tejidos afectados, mitigando la inflamación y el daño tisular característicos de la ES
- Los hallazgos de este estudio abren nuevas direcciones para futuras investigaciones. Es necesario validar estos resultados en cohortes más grandes y diversas para confirmar su generalizabilidad, estas deberan también enfocarse en los mecanismos específicos por los cuales Fractalcina/CX3CL1 contribuye a la patogénesis de la esclerosis sistémica, lo que permitirá desarrollar intervenciones más precisas y efectivas, mejorando así el tratamiento y la calidad de vida de los pacientes afectados por esta enfermedad.

Bibliografia

1. Lepri G, Bellando Randone S, Matucci Cerinic M, Guiducci S. Early diagnosis of systemic sclerosis, where do we stand today? *Expert Rev Clin Immunol*. 2022 Jan 2;18(1):1–3.
2. Masi AT. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum*. 1980 May;23(5):581–90.
3. Van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 Classification Criteria for Systemic Sclerosis: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism Collaborative Initiative. *Arthritis Rheum*. 2013 Nov 3;65(11):2737–47.
4. Fabri M, Hunzelmann N. Differential diagnosis of scleroderma and pseudoscleroderma. *JDDG*. 2007 Nov;5(11):977–83.
5. Burbelo PD, Gordon SM, Waldman M, Edison JD, Little DJ, Stitt RS, et al. Autoantibodies are present before the clinical diagnosis of systemic sclerosis. *PLoS One*. 2019 Mar 26;14(3):e0214202.
6. Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. *The Lancet*. 2017 Oct;390(10103):1685–99.
7. Sobolewski P, Maślińska M, Wiczorek M, Łagun Z, Malewska A, Roszkiewicz M, et al. Systemic sclerosis – multidisciplinary disease: clinical features and treatment. *Rheumatology*. 2019 Sep 24;57(4):221–33.

8. Lepri G, Bellando Randone S, Matucci Cerinic M, Guiducci S. Early diagnosis of systemic sclerosis, where do we stand today? *Expert Rev Clin Immunol*. 2022 Jan 2;18(1):1–3.
9. Cutolo M, Soldano S, Smith V. Pathophysiology of systemic sclerosis: current understanding and new insights. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019 Jul 3;15(7):753–64.
10. van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*. 2013 Nov 3;72(11):1747–55.
11. Wik L, Nordberg N, Broberg J, Björkstén J, Assarsson E, Henriksson S, et al. Proximity Extension Assay in Combination with Next-Generation Sequencing for High-throughput Proteome-wide Analysis. *Molecular & Cellular Proteomics*. 2021;20:100168.
12. Aspe Unanue L, González Hermosa MR, Gardeazabal García J. Esclerodermia (esclerosis sistémica). *Piel*. 2010 May;25(5):252–66.
13. Fernández-Ávila DG, Bernal-Macías S, Gutiérrez JM, Rincón DN, Rosselli D. Prevalence of systemic sclerosis in Colombia: Data from the National Health Registry 2012–2016. *J Scleroderma Relat Disord*. 2020 Jun 19;5(2):137–42.
14. Rodnan GP, Lipinski E, Luksick J. Skin thickness and collagen content in progressive systemic sclerosis and localized scleroderma. *Arthritis Rheum*. 1979 Feb;22(2):130–40.

15. ESCLEROSIS SISTÉMICA (ESCLERODERMIA). Consejo General De Colegios Oficiales De Farmaceuticos [Internet]. :5–19. Available from: <https://www.cofbadajoz.com/wp-content/uploads/2018/03/ESCLEROSIS-SISTÉMICA.pdf>
16. Thombs BD, Hudson M, Taillefer SS, Baron M. Prevalence and clinical correlates of symptoms of depression in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2008 Apr 15;59(4):504–9.
17. Fabri M, Hunzelmann N. Differential diagnosis of scleroderma and pseudoscleroderma. *JDDG.* 2007 Nov;5(11):977–83.
18. Colmenares Roldán LM, Velásquez Franco CJ, Mesa Navas MA. Capillaroscopy in systemic sclerosis: A narrative literature review. *Revista Colombiana de Reumatología (English Edition).* 2016 Oct;23(4):250–8.
19. HASSAN ML. CONSENSO SOBRE ESCLERODERMIA ACTUALIZACIÓN 2015. 2015.
20. Rodnan GP, Lipinski E, Luksick J. Skin thickness and collagen content in progressive systemic sclerosis and localized scleroderma. *Arthritis Rheum.* 1979 Feb;22(2):130–40.
21. ESCLEROSIS SISTÉMICA (ESCLERODERMIA). Consejo General De Colegios Oficiales De Farmaceuticos. :5–19.
22. Aspe Unanue L, González Hermosa MR, Gardezabal García J. Esclerodermia (esclerosis sistémica). *Piel.* 2010 May;25(5):252–66.

23. Aspe Unanue L, González Hermosa MR, Gardeazabal García J. Esclerodermia (esclerosis sistémica). *Piel*. 2010 May;25(5):252–66.
24. Allanore Y. Esclerodermia sistémica: epidemiología, fisiopatología y clínica. *EMC - Aparato Locomotor*. 2022 Dec;55(4):1–27.
25. Allanore Y. Esclerodermia sistémica: epidemiología, fisiopatología y clínica. *EMC - Aparato Locomotor*. 2022 Dec;55(4):1–27.
26. Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. *The Lancet*. 2017 Oct;390(10103):1685–99.
27. Greiffo FR, Viteri-Alvarez V, Frankenberger M, Dietel D, Ortega-Gomez A, Lee JS, et al. CX3CR1–fractalkine axis drives kinetic changes of monocytes in fibrotic interstitial lung diseases. *European Respiratory Journal*. 2020 Feb;55(2):1900460.
28. Thoreau B, Chaigne B, Renaud A, Mouthon L. Pathophysiology of systemic sclerosis. *Presse Med*. 2021 Apr;50(1):104087.
29. Hattori M, Yokoyama Y, Hattori T, Motegi S, Amano H, Hatada I, et al. Global DNA hypomethylation and hypoxia-induced expression of the ten eleven translocation (TET) family, TET 1, in scleroderma fibroblasts. *Exp Dermatol*. 2015 Nov 14;24(11):841–6.
30. Joven BE, Carreira PE. Síndrome de Raynaud: etiología y manejo. *Reumatol Clin*. 2008 Mar;4(2):59–66.
31. Bhattacharyya S, Varga J. Emerging Roles of Innate Immune Signaling and Toll-Like Receptors in Fibrosis and Systemic Sclerosis. *Curr Rheumatol Rep*. 2015 Jan 22;17(1):2.

32. Sociedad Cubana de Reumatología SE, Grupo Nacional de Reumatología (Cuba) G, Avilés del Campo E, Pérez Torres L. Revista cubana de reumatología. Vol. 16, Revista Cubana de Reumatología. Sociedad Cubana de Reumatología; 2014. 304–308 p.
33. Yoshizaki A. Pathogenic roles of B lymphocytes in systemic sclerosis. *Immunol Lett.* 2018 Mar;195:76–82.
34. Sonsoles Piera-Velázquez CTDerk y SAJ. PATOGÉNESIS DE LA ESCLEROSIS SISTÉMICA. SISBIB. 2004;Revista Peruana de Reumatología.
35. Jiménez-Romero ME, Caro-Gómez I. Biomarcadores en el cáncer de próstata. Implicación en la práctica clínica. *Rev Mex Urol.* 2014 Jul;74(4):226–33.
36. Giacomelli R, Afeltra A, Alunno A, Bartoloni-Bocci E, Berardicurti O, Bombardieri M, et al. Guidelines for biomarkers in autoimmune rheumatic diseases - evidence based analysis. *Autoimmun Rev.* 2019 Jan;18(1):93–106.
37. Goodnow CC, Sprent J, de St Groth BF, Vinuesa CG. Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature.* 2005 Jun 2;435(7042):590–7.
38. Harrington C, Krishnan S, Mack CL, Cravedi P, Assis DN, Levitsky J. Noninvasive biomarkers for the diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology.* 2022 Dec 8;76(6):1862–79.
39. Lee EY, Lee ZH, Song YW. CXCL10 and autoimmune diseases. *Autoimmun Rev.* 2009 Mar;8(5):379–83.

40. Antonelli A, Ferri C, Fallahi P, Ferrari SM, Giuggioli D, Colaci M, et al. CXCL10 () and CCL2 () chemokines in systemic sclerosis a longitudinal study. *Rheumatology*. 2008 Jan 1;47(1):45–9.
41. Zheng B, Keen KJ, Fritzler MJ, Ryerson CJ, Wilcox P, Whalen BA, et al. Circulating cytokine levels in systemic sclerosis related interstitial lung disease and idiopathic pulmonary fibrosis. *Sci Rep*. 2023 Apr 24;13(1):6647.
42. Lande R, Lee EY, Palazzo R, Marinari B, Pietraforte I, Santos GS, et al. CXCL4 assembles DNA into liquid crystalline complexes to amplify TLR9-mediated interferon- α production in systemic sclerosis. *Nat Commun*. 2019 May 1;10(1):1731.
43. Silva-Cardoso SC, Tao W, Angiolilli C, Lopes AP, Bekker CPJ, Devaprasad A, et al. CXCL4 Links Inflammation and Fibrosis by Reprogramming Monocyte-Derived Dendritic Cells in vitro. *Front Immunol*. 2020 Sep 17;11.
44. Affandi AJ, Carvalheiro T, Ottria A, de Haan JJ, Brans MAD, Brandt MM, et al. CXCL4 drives fibrosis by promoting several key cellular and molecular processes. *Cell Rep*. 2022 Jan;38(1):110189.
45. Mendez-Enriquez E, García-Zepeda EA. The multiple faces of CCL13 in immunity and inflammation. *Inflammopharmacology*. 2013 Dec 12;21(6):397–406.
46. Yanaba K, Yoshizaki A, Muroi E, Hara T, Ogawa F, Shimizu K, et al. CCL13 is a promising diagnostic marker for systemic sclerosis. *British Journal of Dermatology*. 2010 Feb;162(2):332–6.

47. Gambichler T, Yilmaz E, Höxtermann S, Kolios A, Moritz R, Bechara FG, et al. Serum CCL13 levels in patients with systemic sclerosis and controls. *British Journal of Dermatology*. 2011 Jul;165(1):216–8.
48. Li L, Dai F, Wang L, Sun Y, Mei L, Ran Y, et al. CCL13 and human diseases. *Front Immunol*. 2023 Apr 19;14.
49. Mecca C, Giambanco I, Donato R, Arcuri C. Microglia and Aging: The Role of the TREM2–DAP12 and CX3CL1-CX3CR1 Axes. *Int J Mol Sci*. 2018 Jan 22;19(1):318.
50. Arai M, Ikawa Y, Chujo S, Hamaguchi Y, Ishida W, Shirasaki F, et al. Chemokine receptors CCR2 and CX3CR1 regulate skin fibrosis in the mouse model of cytokine-induced systemic sclerosis. *J Dermatol Sci*. 2013 Mar;69(3):250–8.
51. Bazan JF, Bacon KB, Hardiman G, Wang W, Soo K, Rossi D, et al. A new class of membrane-bound chemokine with a CX3C motif. *Nature*. 1997 Feb;385(6617):640–4.
52. Harrison JK, Fong AlanM, Swain PeterAW, Chen S, Yu YReiA, Salafranca MN, et al. Mutational Analysis of the Fractalkine Chemokine Domain. *Journal of Biological Chemistry*. 2001 Jun;276(24):21632–41.
53. Chandrasekar B, Melby PC, Sarau HM, Raveendran M, Perla RP, Marelli-Berg FM, et al. Chemokine-Cytokine Cross-talk. *Journal of Biological Chemistry*. 2003 Feb;278(7):4675–86.

54. Mattison HA, Nie H, Gao H, Zhou H, Hong JS, Zhang J. Suppressed pro-inflammatory response of microglia in CX3CR1 knockout mice. *J Neuroimmunol*. 2013 Apr;257(1–2):110–5.
55. Haskell CA, Cleary MD, Charo IF. Unique Role of the Chemokine Domain of Fractalkine in Cell Capture. *Journal of Biological Chemistry*. 2000 Nov;275(44):34183–9.
56. Pawelec P, Ziemka-Nalecz M, Sypecka J, Zalewska T. The Impact of the CX3CL1/CX3CR1 Axis in Neurological Disorders. *Cells*. 2020 Oct 13;9(10):2277.
57. Hoffmann-Vold AM, Weigt SS, Palchevskiy V, Volkmann E, Sagar R, Li N, et al. Augmented concentrations of CX3CL1 are associated with interstitial lung disease in systemic sclerosis. *PLoS One*. 2018 Nov 20;13(11):e0206545.
58. Marchesi F, Locatelli M, Solinas G, Erreni M, Allavena P, Mantovani A. Role of CX3CR1/CX3CL1 axis in primary and secondary involvement of the nervous system by cancer. *J Neuroimmunol*. 2010 Jul;224(1–2):39–44.
59. Moon SO, Kim W, Sung MJ, Lee S, Kang KP, Kim DH, et al. Resveratrol Suppresses Tumor Necrosis Factor- α -Induced Fractalkine Expression in Endothelial Cells. *Mol Pharmacol*. 2006 Jul;70(1):112–9.
60. Dénes Á, Ferenczi S, Halász J, Környei Z, Kovács KJ. Role of CX3CR1 (Fractalkine Receptor) in Brain Damage and Inflammation Induced by Focal Cerebral Ischemia in Mouse. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2008 Oct 25;28(10):1707–21.

61. Rosendahl A, Schönborn K, Krieg T. Pathophysiology of systemic sclerosis (scleroderma). *Kaohsiung J Med Sci.* 2022 Mar 2;38(3):187–95.
62. Jones BA, Beamer M, Ahmed S. Fractalkine/CX3CL1: A Potential New Target for Inflammatory Diseases. *Mol Interv.* 2010 Oct 1;10(5):263–70.
63. Julia V, Staumont-Salle D, Dombrowicz D. Rôle de la fractalkine/CX3CL1 et de son récepteur CX3CR1 dans les pathologies allergiques. *médecine/sciences.* 2016 Mar 23;32(3):260–6.
64. Mionnet C, Buatois V, Kanda A, Milcent V, Fleury S, Lair D, et al. CX3CR1 is required for airway inflammation by promoting T helper cell survival and maintenance in inflamed lung. *Nat Med.* 2010 Nov;16(11):1305–12.
65. S Sato, T-Echigo, Y Hamaguchi, M Yasui, K Takehara. Expresión regulada por aumento de fractalquina/CX 3 CL1 y CX 3 CR1 en pacientes con esclerosis sistémica. *BMJ Journals.* 2004 Dec 4;
66. Marasini B, Cossutta R, Selmi C, Pozzi MR, Gardinali M, Massarotti M, et al. Polymorphism of the Fractalkine Receptor CX3CR1 and Systemic Sclerosis-associated Pulmonary Arterial Hypertension. *Clin Dev Immunol.* 2005;12(4):275–9.
67. Balabanian K, Foussat A, Dorfmueller P, Durand-Gasselín I, Capel F, Bouchet-Delbos L, et al. CX₃C Chemokine Fractalkine in Pulmonary Arterial Hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 May 15;165(10):1419–25.

68. Guo L, Lu X, Wang Y, Bao C, Chen S. Elevated levels of soluble fractalkine and increased expression of CX3CR1 in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Exp Ther Med*. 2017 Oct;14(4):3153–8.
69. Quantikine™ ELISA. Human CX3CL1/Fractalkine Quantikine ELISA Kit. 2021 May.
70. Luong VH, Utsunomiya A, Chino T, Doanh LH, Matsushita T, Obara T, et al. Inhibition of the Progression of Skin Inflammation, Fibrosis, and Vascular Injury by Blockade of the CX₃CL₁/CX₃CR₁ Pathway in Experimental Mouse Models of Systemic Sclerosis. *Arthritis & Rheumatology*. 2019 Nov 11;71(11):1923–34.
71. Nanki T, Imai T, Kawai S. Fractalkine/CX3CL1 in rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol*. 2017 May 4;27(3):392–7.
72. Lu X. Structure and Function of Ligand CX3CL1 and its Receptor CX3CR1 in Cancer. *Curr Med Chem*. 2022 Dec;29(41):6228–46.
73. Greiffo FR, Viteri-Alvarez V, Frankenberger M, Dietel D, Ortega-Gomez A, Lee JS, et al. CX3CR1–fractalkine axis drives kinetic changes of monocytes in fibrotic interstitial lung diseases. *European Respiratory Journal*. 2020 Feb;55(2):1900460.
74. Jones B, Koch AE, Ahmed S. Pathological Role of Fractalkine/CX3CL1 in Rheumatic Diseases: A Unique Chemokine with Multiple Functions. *Front Immunol*. 2012;2.
75. Hasegawa M. Up regulated expression of fractalkine/CX3CL1 and CX3CR1 in patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2005 Jan 1;64(1):21–8.

76. Jones B, Koch AE, Ahmed S. Pathological Role of Fractalkine/CX3CL1 in Rheumatic Diseases: A Unique Chemokine with Multiple Functions. *Front Immunol.* 2012;2.
77. Jones B, Koch AE, Ahmed S. Pathological Role of Fractalkine/CX3CL1 in Rheumatic Diseases: A Unique Chemokine with Multiple Functions. *Front Immunol.* 2012;2.
78. Guo L, Lu X, Wang Y, Bao C, Chen S. Elevated levels of soluble fractalkine and increased expression of CX3CR1 in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Exp Ther Med.* 2017 Oct;14(4):3153–8.
79. S Sato, T-Echigo, Y Hamaguchi, M Yasui, K Takehara. Expresión regulada por aumento de fractalquina/CX 3 CL1 y CX 3 CR1 en pacientes con esclerosis sistémica. *BMJ Journals.* 2004 Dec 4;
80. Hoffmann-Vold AM, Weigt SS, Palchevskiy V, Volkman E, Sagar R, Li N, et al. Augmented concentrations of CX3CL1 are associated with interstitial lung disease in systemic sclerosis. *PLoS One.* 2018 Nov 20;13(11):e0206545.