



---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

**UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES “DR. ANTONIO FRAGA MOURET”**

**CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA**

## **T E S I S**

**DIFERENCIA ENTRE LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS DE TGF- $\beta$  CON  
LOS 3 PATRONES CAPILAROSCÓPICOS DE ESCLEROSIS SISTÉMICA.**

**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN  
DERMATOLOGÍA**

**PRESENTA**

**Dr. Oscar Alejandro Medina Navarro**

**ASESORES DE TESIS**

**Dra. Nancy Pulido Díaz**

**Dra. María del Pilar Cruz Domínguez**

**Dra. M. En C. Rosa Angélica Carranza Muleiro**



**CIUDAD DE MÉXICO**

**2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## **HOJA DE AUTORIZACION DE TESIS**

---

### **DR. JESUS ARENAS OSUNA**

Jefe de la División de Educación en Salud

U.M.A.E. Hospital de Especialidades “Dr. Antonio Fraga Mouret”

Centro Médico Nacional “La Raza” del IMSS

---

### **DRA. NANCY PULIDO DIAZ**

Profesor Titular del Curso de Dermatología UNAM

Jefe de Servicio de Dermatología U.M.A.E. Hospital de Especialidades “Dr.  
Antonio Fraga Mouret”

Centro Médico Nacional “La Raza” del IMSS

---

### **DR. OSCAR ALEJANDRO MEDINA NAVARRO**

Médico Residente del tercer año en la Especialidad de Dermatología

U.M.A.E. Hospital de Especialidades “Dr. Antonio Fraga Mouret”

Centro Médico Nacional “La Raza” del IMSS

**Núm. de Registro: R-2017-3501-93**

## INDICE

RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
MATERIAL Y MÉTODOS.....	14
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	17
RESULTADOS.....	18
DISCUSIÓN.....	24
CONCLUSIONES.....	27
BIBLIOGRAFÍA.....	28
ANEXO I.....	30

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar alteraciones morfológicas capilaroscópicas en pacientes con Esclerosis sistémica (ES), buscando asociación con una molécula implicada en la angiogénesis e inflamación (TGF- $\beta$ ), así como la correlación con parámetros clínicos y demográficos.

**Material y métodos:** Se realizó un estudio analítico, observacional y transversal, con derechohabientes de la UMAE Centro Médico Nacional La Raza, pertenecientes al servicio de Reumatología con diagnóstico de ES en base a criterios de la ACR/EULAR 2013; a quien se realizó videocapilaroscopia en los últimos 4 dedos de cada mano y determinación de niveles séricos de TGF- $\beta$  (para evaluar la asociación entre hallazgos capilaroscópicos y niveles séricos de la citocina se realizó coeficiente de correlación de Spearman). Análisis estadístico: Estadística analítica.

**Resultados:** De los 31 pacientes incluidos, se observó que la alteración capilaroscópica prevalente son los capilares elongados en 24 (77.4%) pacientes, el patrón capilaroscópico más frecuente es el temprano en 18 (58.1%). En base a las comparaciones realizadas se demostró que no existe diferencia significativa entre concentraciones séricas de las 3 isoformas de TGF- $\beta$  con los 3 patrones capilaroscópicos.

**Conclusiones:** La videocapilaroscopia es un estudio sencillo no invasivo que se debe realizar a todos los pacientes con sospecha de ES. No existe diferencia entre las concentraciones de TGF- $\beta$  con los 3 patrones VC; la isoforma 1 de TGF- $\beta$  se encontró elevada en comparación con controles sanos, sin significancia de la isoforma 2 y 3 en esta correlación. Determinar TGF- $\beta$  como marcador diagnóstico de enfermedad temprana no sería útil.

**Palabras clave:** Esclerosis sistémica, videocapilaroscopia, TGF- $\beta$ .

## **ABSTRACT**

**Objective:** To evaluate the capillary morphological alterations in patients with Systemic Sclerosis (SSc), looking for association with a molecule involved in angiogenesis and inflammation (TGF- $\beta$ ), as well as the correlation with clinical and demographic parameters.

**Material and methods:** An analytical, observational, cross-sectional study was conducted with beneficiaries of the UMAE Centro Médico Nacional La Raza, belonging to Rheumatology service with diagnosis of SSc based on the criteria of ACR/EULAR 2013; who underwent videocapillaroscopy in the last 4 fingers of each hand and determination of serum TGF- $\beta$  levels (Spearman's correlation coefficient was used to evaluate the association between capillaroscopic findings and serum levels of the cytokine). Statistical analysis: Analytical statistics.

**Results:** Of the 31 patients included, it was observed that the most prevalent capillaroscopic alteration is elongated capillaries in 24 (77.4%) patients, the early pattern was the most frequently found in 18 (58.1%). Based on the comparisons made, showed that there is no significant difference between the serum concentrations of the 3 isoforms of TGF- $\beta$  with the 3 capillaroscopic patterns.

**Conclusions:** Videocapillaroscopy is a simple non-invasive study that should be performed in all patients with suspected SSc. There is no difference between the concentrations of TGF- $\beta$  with the 3 VC patterns; isoform 1 of TGF- $\beta$  was found high compared to healthy controls, without significance of isoform 2 and 3 in this same comparison. The determination of TGF- $\beta$  as a diagnostic marker of early disease would not be useful.

**Key words:** Systemic sclerosis, videocapillaroscopy, TGF- $\beta$ .

## INTRODUCCIÓN

La Esclerosis Sistémica (ES) es un desorden heterogéneo multisistémico de etiología desconocida caracterizado por daño del sistema microvascular a nivel local y sistémico, con producción de anticuerpos y disfunción de fibroblastos que reflejan la activación coordinada de la respuesta inmune innata y adaptativa. <sup>(1,3)</sup>

La mayoría de los pacientes con ES desarrollan engrosamiento de la piel de extensión variable y eventualmente involucro de órganos internos; basado en la extensión de la afección en piel se propuso una subclasificación, incluyendo la ES cutánea difusa (EScd), ES cutánea limitada (EScl) y ES sin afección cutánea.

<sup>(1,5)</sup> El daño vascular endotelial es un evento clave fundamental y hasta el momento poco entendido en la fisiopatogénea de esta enfermedad. La afección de la microvasculatura conduce a hipoxia tisular crónica y contribuye a la fibrosis tisular, lo que lleva a daño sistémico. La angiogénesis es un proceso complejo regulado por muchos factores con propiedades angiogénicas y angiostáticas.

<sup>(1,3,5)</sup> En ES, a pesar de la reducción del flujo sanguíneo y la presencia de hipoxia, paradójicamente no hay evidencia de una respuesta angiogénica suficiente. Esto queda claramente demostrado por los cambios capilaroscópicos en la evolución de la enfermedad, estas anomalías microvasculares parecen estar estrictamente relacionadas con la elevación de los factores angiogénicos.

<sup>(2,3)</sup>

La incidencia de ES es similar en diferentes áreas geográficas que va de 22.8 a 23 nuevos casos/millón/año.<sup>(1)</sup> Igualmente la prevalencia puede variar por área geográfica, presentado en los estudios epidemiológicos más recientes: 233 a

277 casos/millón.<sup>(1)</sup> Es más frecuente en mujeres, con una proporción de 3:1 a 4:1 y su comienzo es más habitual entre los 50 y 70 años, aunque puede ocurrir a cualquier edad.<sup>(2)</sup>

Las anomalías microvasculares típicas de la ES se pueden observar claramente como alteraciones morfológicas de los capilares en el pliegue ungueal proximal, desde la aparición muy temprana, hasta las complicaciones tardías con involucro de órganos internos.<sup>(3)</sup> El mejor método para evaluar la lesión vascular es la videocapilaroscopia (VC), que detecta la morfología capilar periférica, procedimiento con el cual se puede clasificar las anomalías en diferentes patrones de microangiopatía, en los estudios con uso de VC para ES ha mostrado una sensibilidad de 89.47% y una especificidad de 80%<sup>(4)</sup>. La microangiopatía parece ser el mejor predictor evaluable del desarrollo de la enfermedad y se ha observado que precede a otros síntomas por muchos años.<sup>(4)</sup>

En Octubre 2013 el American College of Rheumatology y la European League Against Rheumatism (ACR/ EULAR) validaron nuevos criterios para el diagnóstico de ES, los cuales incluyen las alteraciones en capilares del lecho ungueal.<sup>(3,5,6)</sup>

Los cambios vasculares representan un evento temprano en ES y el fenómeno de Raynaud (FR) constituye la expresión clínica más precoz de la regulación del flujo sanguíneo alterado por daño microvascular, este fenómeno es observado en el 90% de los pacientes con ES.<sup>(3,5)</sup>

En su disposición normal, los capilares son paralelos entre sí, en número de uno (raramente dos) por papila dérmica y perpendicularmente orientados a la

superficie digital. El patrón capilaroscópico normal por evaluación cualitativa se caracteriza por una distribución homogénea de los capilares en forma de horquilla como "estructura parecida a un peine."<sup>(3)</sup>

El patrón capilaroscópico de ES fue descrito por Cutolo et al. en 2006 y se clasificó de la siguiente manera: Patrón "Temprano" se caracteriza por la presencia de pocos capilares dilatados y gigantes, pocas microhemorragias capilares, ninguna pérdida capilar evidente y una distribución capilar relativamente bien conservada. El patrón "Activo", es un marcador de progresión de la enfermedad, se caracteriza por frecuentes capilares gigantes, microhemorragias capilares frecuentes (> 6 por mm), pérdida capilar moderada (20-30%), capilares ramificados o ausentes y una ligera desorganización de la arquitectura capilar. En el patrón "tardío", aunque los capilares gigantes y las microhemorragias están casi ausentes, se observa un aumento irregular de los capilares, una pérdida capilar severa (>50%) con evidentes áreas avasculares extensas, capilares ramificados o espesos y una severa desorganización de los capilares.<sup>(3,7)</sup> El patrón "tipo esclerodermia" se define como un patrón capilar que muestra marcadores microvasculares mixtos de los patrones capilares de la esclerodermia, pero no encaja con la definición de patrón de esclerodermia "temprana", "activa" y "tardía".<sup>(3)</sup> En múltiples estudios se observaron patrón de esclerodermia en casi todos los pacientes con ES (97.2%) y en todos aquellos con úlceras digitales. Un porcentaje similar (95%) fue observado en otro estudio; el resto entra en clasificación de normal y como hallazgos no específicos.<sup>(8,9)</sup>

Los pacientes sin patrón de ES presentaron una afección cutánea menos grave y una afección pulmonar grave menos frecuente; los pacientes con patrón de ES mostraron con mayor frecuencia afección del aparato digestivo o hipertensión arterial pulmonar. La principal manifestación clínica correlacionada con el patrón capilaroscópico de esclerodermia es la aparición de úlceras digitales, confirmando por varios estudios que muestran una correlación.<sup>(6,7,8)</sup> En cualquier caso, la evidencia confirma que la microangiopatía es un proceso dinámico en la ES y la VC tiene un papel relevante tanto en el diagnóstico, como en el seguimiento de pacientes.<sup>(8,10,11)</sup> Sin embargo al momento son pocos los estudios en los que se ha hecho una relación entre el patrón capilaroscópico con las interleucinas (IL) y citocinas que causan daño vascular y fibrosis como método precoz para realizar el diagnóstico temprano de esta enfermedad.<sup>(8,9)</sup>

En la patogenia de la ES, la evidencia indica que la ES comienza con disfunción vascular, seguida de cambios inflamatorios-inmunológicos y fibrosis.<sup>(12,16)</sup> El daño microvascular endotelial es un evento crítico en la fase temprana de la ES. La alteración vista en las células endoteliales (CE) es secundaria a los efectos que los mediadores clave toman en el daño vascular y fibrosis, como lo son (factor de crecimiento transformante- $\beta$ ) TGF- $\beta$ , factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y las moléculas de adhesión.<sup>(12,13)</sup>

Como consecuencia del daño vascular existe hipoxia tisular en la piel y otros órganos. La hipoxia es un potente estímulo para angiogénesis a través de la inducción de la expresión de múltiples factores pro-angiogénicos. Uno de los factores pro-angiogénicos más importantes es el factor de crecimiento endotelial

vascular (VEGF), el cuál causa vasodilatación, permeabilidad vascular, proliferación y migración de las CE, e induce la formación de nuevos vasos. Los niveles de VEGF y de sus receptores están fuertemente sobre expresados en piel y suero de pacientes con ES.<sup>(12,15,20)</sup> Las CE alteradas también producen endotelina-1 (ET-1), el cual es un mediador que tiene propiedades vasoconstrictoras que contribuyen a la hipoxia vascular, lo cual conlleva a una disfunción vascular y activación de los fibroblastos, así manteniendo un ciclo vicioso entre estos 2 procesos.<sup>(12,16,20)</sup> Muchas otras sustancias, entre ellas la trombina, adrenalina, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , angiotensina II y la hipoxia pueden estimular la síntesis de ET-1.<sup>(12,16)</sup>

Hablaremos de las alteraciones inmunológicas y su relación con daño vascular en esclerodermia, en las cuales la respuesta celular presentada principalmente por los linfocitos T ha demostrado tener un papel importante en la lesión tisular, en donde se han observado infiltrados inflamatorios perivasculares predominantemente CD3+ y CD4+ que expresan marcadores de activación CD45, antígeno del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) clase II y receptor de IL-2, estos secretando citocinas y mediadores de daño endotelial vascular.<sup>(12,13)</sup> Esta activación sugiere que las células T han sufrido proliferación in situ en la piel y expansión clonal secundaria a una respuesta al antígeno, aunque se desconocen los antígenos, pero se conocen que factores ambientales, genéticos, infecciosos y fármacos favorecen la activación aberrante del sistema inmunológico.<sup>(12,13)</sup> Asimismo las alteraciones en las proporciones de los subgrupos de células T reguladoras también reflejan un evento patógeno

fundamental en el cuál los papeles opuestos de la respuesta Th1 y Th2 ha sido implicados. Los paciente con ES muestran un cambio relativo hacia Th2 por el cual las células T polarizadas hacia este fenotipo secretan citoquinas (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13), las cuales se han relacionado con daño y activación de las CE causando inflamación endotelial, quimiotaxis, producción de factores proangiogénicos y profibróticos.<sup>(12)</sup>

Recientemente se describió la importancia de las células Th17 y la IL-17 en la patogenia de enfermedades humanas; las células Th17 son un nuevo subconjunto de células T cooperadoras CD4 + que secretan IL-17A<sup>(13,18)</sup>. La familia de IL-17 comprende 6 miembros (IL-17A, -B, -C, -D, -E y -F), de las cuales IL-17A es la más estudiada; También es producida por macrófagos, células natural killer y células T $\gamma\delta$ .<sup>(12)</sup> En humanos la IL-17 promueve de forma significativa la secreción de IL-6 e IL-8 por medio de los fibroblastos de humanos adultos, e induce la producción de IL-1, IL-6 y moléculas de adhesión en las CE. Xing et al. indica que la IL-17A puede estimular la expresión de ICAM-1, VCAM-1, receptor de quimiocina 4 (CXCR-4) y ligando de quimiocina 20 (CCL-20) por las CE vasculares y promueve la secreción de colágeno por fibroblastos, lo cual resulta en inflamación endotelial.<sup>(14)</sup> Se ha informado que la concentración de IL-17 se encuentra elevada en el suero, lesiones cutáneas y tejido pulmonar de pacientes con ES, este hallazgo ha sido confirmado en estudios recientes que informaron proporciones drásticamente aumentadas de células Th17 en pacientes con ES; Los niveles de IL-17A se encuentran elevados en las etapas temprana y activa de la ES.<sup>(13,14)</sup>

En la ES existen muchas otras citocinas potencialmente relevantes o factores de crecimiento que pueden ser importantes en la patogénesis o pueden ser útiles marcadores de la patobiología.<sup>(12)</sup> Mientras que TGF- $\beta$  ha sido tradicionalmente considerada como un importante mediador de fibrosis, también puede contribuir a las anomalías vasculares en ES. Se ha demostrado que TGF- $\beta$  induce la síntesis de ET-1, así como su efecto de sinergia entre TGF- $\beta$  y ET-1. El efecto vascular de TGF- $\beta$ , a través de su interacción con el receptor de endoglin también produce la activación de las CE y el músculo liso vascular.<sup>(19)</sup> Existen 3 isoformas codificadas por genes distintos y aunque se ha observado que las 3 isoformas se encuentran elevadas en pacientes con ES, la TGF- $\beta$ 1 ha sido la más estudiada.<sup>(19)</sup> Esta citocina se encuentra en forma latente, TGF- $\beta$  tiene que ser activado en el sitio de destino para inducir respuesta celular. Dado que la activación del TGF- $\beta$  latente es crítica para el funcionamiento de este factor de crecimiento, es probable que los niveles de producción del TGF- $\beta$  activo sean más importantes que los niveles de la forma latente.<sup>(19,20)</sup> El papel importante de TGF- $\beta$  en el daño vascular y fibrosis tisular sugieren que las mediciones de sus niveles séricos pueden reflejar la actividad del proceso inflamatorio, sin embargo existen informes discordantes sobre las concentraciones de TGF- $\beta$  en la sangre periférica de los pacientes con ES, la mayoría de los estudios no han podido establecer una relación entre los niveles séricos de TGF- $\beta$ 1 y las características clínicas en ES.<sup>(19)</sup>

En México se realizó un estudio en donde se observó que el nivel de TGF- $\beta$  se encontró elevada en EScl, estudio en el cual mostró que va en correlación con

los niveles de NLRP3. En este estudio también se encontró que la expresión génica de TGF- $\beta$  es reducida en EScd respecto a EScl.<sup>(17)</sup> Otros estudios han mostrado niveles más altos de TGF- $\beta$ 1 en suero en pacientes con EScd, úlceras digitales, fibrosis pulmonar, involucro cutáneo y anticuerpos antitopoisomerasa I.  
(19)

En el 2002 Ricciari et al, realizó un estudio en el cuál se investigó la correlación de niveles de IL-13 en suero de con el patrón VC en pacientes con ES. En dicho estudio se demostró que la IL-13 se encontraba elevada en comparación con los controles; esta interleucina es una linfocina producida principalmente por linfocitos T y mastocitos, que parece tener efectos reguladores. También es una citocina profibrótica y aumenta la secreción de citocinas inflamatorias, así como la expresión de moléculas de adhesión.<sup>(21)</sup> En dicho estudio se observó que existe relación de la elevación de IL-13 con el patrón “activo” de la capilaroscopia; por lo cual concluyen que esta citocina no solo parece sostener el proceso inmunológico y de fibrosis en la ES, sino que podría tener un papel determinante en la lesión microvascular de la enfermedad.<sup>(21)</sup>

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

El objetivo principal del este estudio fue determinar si existe diferencia entre las concentraciones séricas de TGF- $\beta$  entre los 3 patrones capilaroscópicos en adultos con esclerosis sistémica.

Se realizó un estudio analítico, observacional, transversal, prolectivo y prospectivo. Se estudiaron pacientes con el diagnóstico de Esclerosis Sistémica con base a los criterios de EULAR/ACR 2013, mayores de 18 años, derechohabientes al IMSS pertenecientes a la consulta externa de Reumatología del hospital de especialidades “Dr. Antonio Fraga Mouret” de Centro Médico Nacional La Raza (HECMNR); por un periodo que abarcó del 01 de Junio del 2017 al 01 de Septiembre del 2017. Los pacientes tuvieron una evaluación clínica detallada y el involucro de órganos fue investigado, los datos obtenidos se recabaron en la hoja de recolección de datos (anexo 1).

Se incluyeron pacientes derechohabientes adscritos a la UMAE CMN La Raza que aceptaron participar en el estudio y que firmaron el consentimiento informado, con diagnóstico de esclerosis sistémica según los criterios de EULAR/ACR 2013, ambos géneros, mayores de 18 años con resultados de TGF- $\beta$  en sangre periférica. Los criterios de no inclusión fue la presencia de alguna comorbilidad catabólica como virus de inmunodeficiencia humana (VIH), cáncer, enfermedad renal crónica terminal y procesos infecciosos activos actualmente diagnosticados por clínica. Los criterios de exclusión fue la revocación del consentimiento informado posterior a la firma del mismo,

pacientes con un aumento en el grosor de la piel o a la presencia de microtraumatismos repetidos en la zona estudiada que no permitan la visualización de capilares de cada dedo a evaluar y la presencia de gangrena digital. Aquellos pacientes que no reunieron los requisitos considerados en el protocolo se excluyeron del análisis final.

La medición de niveles séricos de TGF- $\beta$  en sus 3 isoformas se realizó obteniendo muestras de suero y de células mononucleares de sangre periférica, las cuales se obtuvieron y analizaron a partir de muestras de sangre venosa fresca de 31 pacientes con ES. Se tomaron muestras de sangre de 5 ml de todos los pacientes; la muestra de sangre fue obtenida por la mañana con el paciente en ayunas, luego se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos. El suero obtenido se dividió en 200  $\mu$ l y se criopreservó a -70°C hasta su uso.

Las concentraciones de las isoformas de TGF- $\beta$  en suero fueron determinadas usando un kit comercial de ELISA, TGF- $\beta$ 1 (R&D systems, Inc. USA & Canadá), TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3 (R&D systems, Inc. USA & Canadá) acorde con las recomendaciones del fabricante. Cada muestra fue procesada por duplicado. La concentración de isoformas de TGF- $\beta$  fue expresada en pg/mL y ng/mL.

### **Videocapilaroscopia**

El estudio se realizó con microscopio digital MS200 OBI, conexión USB, cámara 2MP, Zoom 200x, WIN-MAC, el cual fue conectado a computadora portátil y se obtuvieron imágenes seriadas de los últimos 4 dedos de cada mano.

Cada paciente se aclimató durante 20 min en sala de espera con una temperatura promedio en la sala de 22°C, en esa misma instancia se otorgó el consentimiento informado.

Los pliegues a evaluar fueron de los últimos 4 dedos, previa colocación de una gota de aceite de inmersión, la VC fue realizada en todos los pacientes con técnica estandarizada por el mismo operador. Los siguientes parámetros morfológicos se buscaron de forma dirigida en base a lo reportado en la literatura: distrofia, arquitectura irregular, microhemorragia, densidad de capilares, campos avasculares, capilares gigantes, capilares elongados y dilatación de capilares. Al término del estudio se otorgó una evaluación rápida global a la paciente (Anexo 2).

Los pacientes se catalogaron en 3 patrones capilaroscópicos descritos por Cutolo et. al. como ya se mencionó. Los patrones fueron “temprano”, “activo” y “tardío”.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos de las variables cuantitativas son presentados como la media  $\pm$  SD o medianas y rangos (mínimo-máximo). Las variables cualitativas son presentadas como número y porcentajes.

Las diferencias entre las múltiples determinaciones de los grupos observados fueron comparadas Kruskal-Wallis. Para las variables categóricas se empleó U de Mann Whitney.

Para evaluar si existe una asociación entre los hallazgos capilaroscópicos y los niveles séricos de TGF- $\beta$ 1, 2 y 3, se realizó un análisis de correlación de Spearman. Valores de Rho  $\geq$  6 fueron considerados como de buena correlación. Los valores de  $p < 0.05$  son considerados estadísticamente significativos y  $p < 0.001$  como altamente significativos.

Antes del procesamiento de la información se elaboró una base de datos en Excel de Microsoft y el análisis estadístico se realizó con el paquete computacional Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 21. Los gráficos se realizaron en GraphPad Prism V.5 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, USA).

## RESULTADOS

### Características basales

Durante el periodo comprendido del 01 de Junio al 01 de Septiembre 2017 se evaluaron 37 pacientes con ES con los criterios de inclusión mencionados y se excluyeron 6 ya que presentaban engrosamiento de la cutícula, por lo cual la capilaroscopia no pudo ser valorable. Al final se incluyeron 31 pacientes, de los cuales 30 (96.7%) fueron mujeres y 1(3.3%) fue hombre. En cuanto la edad de la población estudiada mostró una media de 54.8 años  $\pm$  11.1, siendo la edad mínima de 28 años y la máxima de 76. En relación a los años de evolución de la ES la media fue de 11.58 años. De las comorbilidades de los pacientes evaluados la más frecuente fue la enfermedad tiroidea, el resto de los datos demográficos, comorbilidades y tratamiento se resumen en la tabla 1.

**Tabla 1.** Características generales de adultos con ES. (n=31)

Datos demográficos	
Género femenino **	30 (96.7)
Género masculino **	1 (3.3)
Edad (años) *	54.8 $\pm$ 11.1
Edad de inicio de los síntomas *	39.6 $\pm$ 10.9
Años de diagnóstico *	11.58 $\pm$ 7.7
Subtipo clínico	
Limitado **	17 (54.8)
Difuso **	14 (45.2)
Comorbilidades	
Sjögren **	4 (12.9)
Artritis Reumatoide **	3 (9.6)
Dermato/polimiositis **	1 (3.2)
Cirrosis biliar primaria **	1 (3.2)
Lupus eritematoso sistémico **	2 (6.5)
Síndrome de Anticuerpos Antifosfolipido **	1 (3.2)
Diabetes mellitus tipo 2 **	4 (12.9)

Hipertensión arterial sistémica **	6 (19.4)
Enfermedad tiroidea **	8 (25.8)
<b>Tratamiento</b>	
Calcioantagonistas **	16 (51.6)
Esteroides **	10 (32.3)
Otros **	18 (58.1)

\*media  $\pm$  DE, \*\*(n / %)

A los 31 pacientes que conformaron el estudio se valoró la afección orgánica sistémica, predominando la afección esofágica seguida de la pulmonar. En cuanto a los signos de alteraciones vasculares periféricas evaluadas se encontró que 25 de los 31 pacientes presentaban fenómeno de Raynaud, que fue el síntoma más precoz de la enfermedad (Tabla 2).

**Tabla 2.** Alteraciones por órganos y sistemas en adultos con ES.

Involucro de órganos	
Pulmón **	12 (38.7)
Esófago **	17 (54.8)
Articular **	6 (19.4)
Cardiaco **	4 (12.9)
Renal **	0
Alteraciones en piel	
Fenómeno de Raynaud **	25 (80.6)
Ulceras digitales **	8 (25.8)
Calcinosis **	9 (29)
Esclerodactilia **	19 (61.3)
Telangiectasias **	8 (25.8)

\*\* (n / %)

Observamos en esta serie que la alteración capilaroscópica más prevalente fueron los capilares elongados en 24 (77.4%) de los 31 pacientes, seguido por los capilares dilatados y desorganización vascular en 20 de ellos (Tabla 3).

El patrón capilaroscópico temprano se encontró en 18 (58.1%) pacientes, el patrón activo en 8 (25.8%) pacientes y el tardío en 5 (16.1%) pacientes, (Tabla 3).

**Tabla 3.** Alteraciones morfológicas y patrones capilaroscópicos en pacientes con ES.

Alteraciones capilaroscópicas	
Densidad de capilares normal **	14 (45.2)
Capilares ramificados/arboriforme **	18 (58.1)
Capilares gigantes **	9 (29)
Elongación de capilares **	24 (77.4)
Capilares dilatados **	20 (64.5)
Microhemorragias **	2 (6.5)
Campo avascular **	15 (48.4)
Desorganización vascular **	20 (64.5)
Patrón capilaroscópico	
Temprano **	18 (58.1)
Activo **	8 (25.8)
Tardío **	5 (16.1)

\*\* (n / %)

En base a las comparaciones realizadas se demostró que no existe diferencia significativa entre las concentraciones séricas de las 3 isoformas de TGF- $\beta$  con los 3 patrones capilaroscópicos (Tabla 4).

**Tabla 4.** Concentraciones de las 3 isoformas de TGF- $\beta$  respecto al patrón capilaroscópico

	Temprano	Activo	Tardío	P
TGF- $\beta$ 1 (ng/dL)	38.56 (14.0-55.6)	38.47 (20.96-46.05)	49.72 (31.08-58.06)	0.495*
TGF- $\beta$ 2 (ng/dL)	1.67 (0.015-16.48)	5.67 (15.65-25.11)	1.60 (0.015-10.51)	0.945*
TGF- $\beta$ 3 (ng/dL)	0.015 (0.015-10.95)	15.65 (15.65-18.48)	15.65 (15.65-417.86)	0.242*

\*Kruskal Wallis

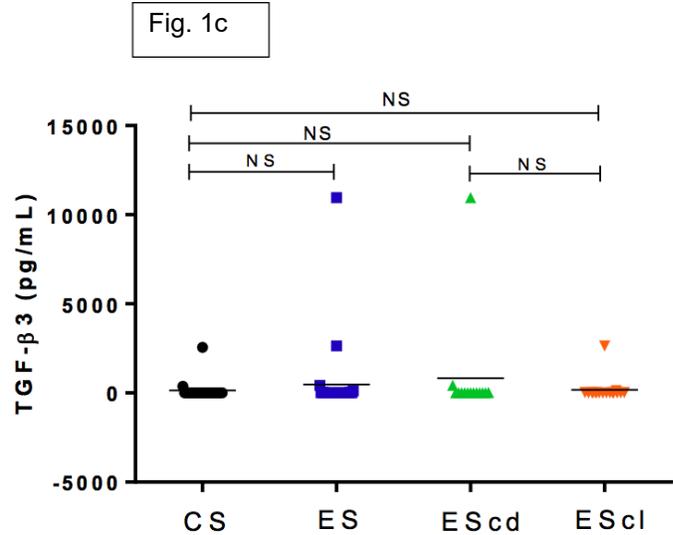
El único contraste significativo que se encontró en este estudio, es que existe diferencia entre las concentraciones séricas de TGF-β3 y la dilatación de capilares, con una  $p < 0.025$ .

De las 3 isoformas de TGF-β investigadas se observó que las cifras de TGF-β1 fueron significativamente mayores en pacientes con ES que en los controles, pero sin significancia entre subtipo limitado y difuso. Entre las isoformas 2 y 3 no existe significancia de los valores comparando controles con pacientes con ES (Fig. 1a-c).

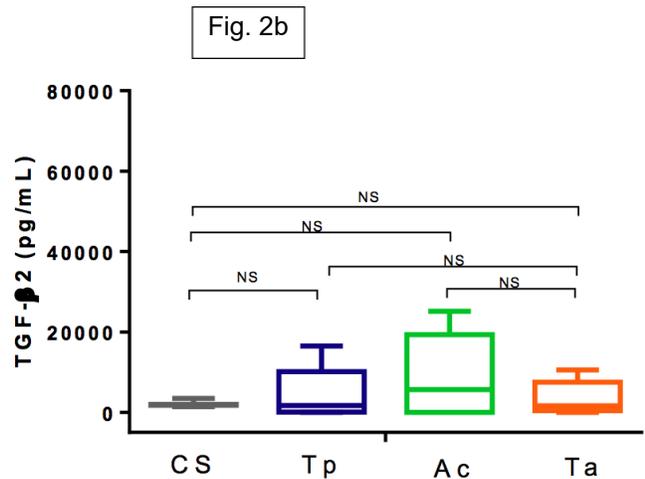
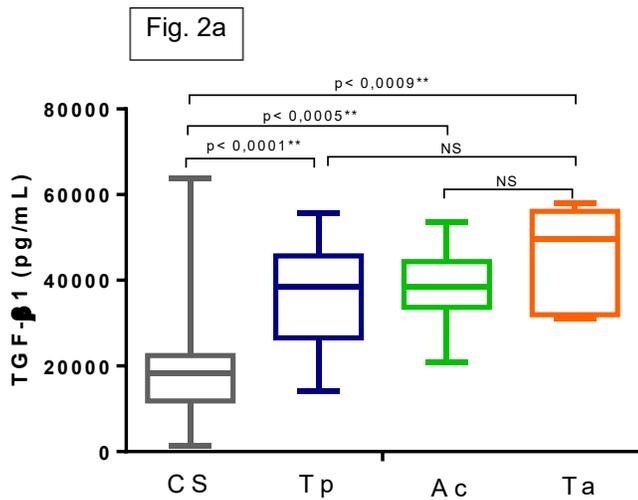
Fig. 1a

Fig. 1b

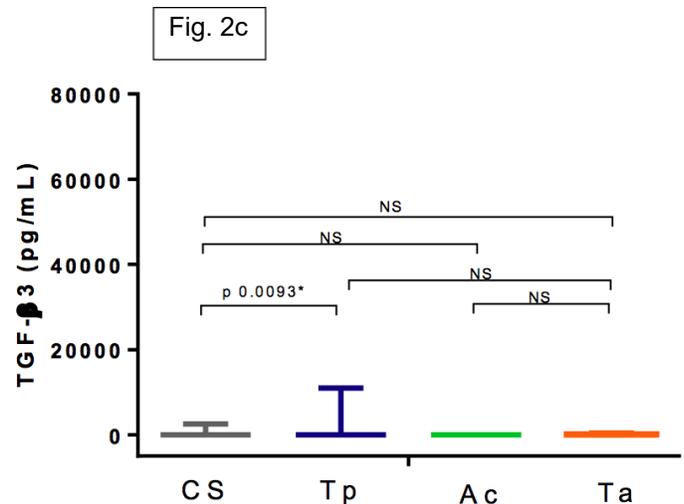
**Fig. 1a-c**  
Concentraciones séricas de TGF-β  
CS: controles sanos  
ES: esclerosis sistémica  
EScd: ES cutánea difusa  
Escl: ES cutánea limitada



Respecto a los niveles de TGF- $\beta$  evaluados, se mostró que existe una elevación significativa de la isoforma 1 en los 3 patrones capilaroscópicos en comparación con los controles, sin mostrar significancia en esta misma comparación con la isoforma 2; al evaluar la isoforma 3 solo se encontró diferencia de los controles y los que presentaron un patrón VC temprano (Fig. 2a-c).



**Fig. 2a-c**  
Concentraciones séricas de TGF- $\beta$  en relación con patrones capilaroscópicos  
CS: controles sanos  
Tp: Patrón VC temprano  
Ac: Patrón VC activo  
Ta: Patrón VC tardío



Finalmente se determinó que si existe una correlación en pacientes con una enfermedad de >11 años de evolución y los niveles séricos elevados de TGF- $\beta$ 1, con una  $p=0.026$ .

## DISCUSIÓN

La ES se considera una enfermedad tripartita en la que se asocian defectos de autoinmunidad humoral y celular, fibrosis y cambios vasculares específicos. La microangiopatía y el daño vascular endotelial son los posibles eventos principales en la fisiopatogénia de esta enfermedad, tal daño es producido por una desregulación de moléculas tales como TGF- $\beta$ , la cual además del daño vascular, inflamación y angiogénesis produce alteraciones en la homeostasis del colágeno y finalmente fibrosis. <sup>(2,19)</sup> El síntoma más precoz de la causa de estas alteraciones microvasculares es el fenómeno de Raynaud, el cual estuvo presente en el 80.6% de nuestros pacientes. <sup>(3,5)</sup>

Existen múltiples ensayos en los que se ha determinado que estas citocinas inflamatorias se encuentran en concentraciones más elevadas en pacientes con mayor involucro de órganos. <sup>(12)</sup>

Debido al ya conocido daño endotelial y angiogénesis en la patogenia de esta enfermedad, uno de los recursos es el uso de la videocapilaroscopia, que es una técnica no invasiva con la cual se han descrito 3 patrones de alteraciones morfológicas ya bien definidos, los cuales han sido incluidos por la ACR/EULAR en 2013 como uno de los criterios diagnósticos para ES. <sup>(3,5,6)</sup> Así mismo se han descrito en estudios previos que existe predominio del patrón tardío en relación a los años de evolución, con afección cutánea y visceral severa. <sup>(7,12)</sup>

En la literatura internacional aún existe discrepancia si coexiste una relación entre la concentración de dichas citocinas inflamatorias y el daño microvascular

en las distintas etapas de la enfermedad, así como la relación con el patrón videocapilaroscópico. <sup>(22,23)</sup>

Vettori et. al. demostró que las concentraciones de TGF- $\beta$  en suero, fue evidentemente más alta en ES definitiva y no en ES temprana. En este estudio las alteraciones morfológicas VC fueron similares en ES temprana y EScl. <sup>(22)</sup>

Por otro lado, Camargo et. al. observó que la anomalía VC más frecuente en pacientes con ES temprana son los capilares elongados al igual que en nuestro estudio, también demostró que las anomalías VC presentes son menos severas en ES temprana comparada con ES definitiva, el patrón VC temprano fue el más comúnmente encontrado en ES temprana. En cuanto a los niveles en suero de TGF- $\beta$ 1, fueron mayores en pacientes con ES definida en comparación con los sujetos control, al igual que en nuestro ensayo; sin diferencia entre ES temprana y definida, lo que sugiere la presencia de la activación de fibroblastos en la enfermedad temprana. <sup>(23)</sup>

En nuestro estudio finalmente se observó que los niveles séricos de TGF- $\beta$ 1 fueron significativamente más elevados en pacientes con ES comparada con los controles sanos, sin alguna diferencia entre los subtipos de ES. En cuanto a la isoforma 2 y 3, no existió diferencia realizando la misma comparación entre controles y pacientes con ES. En cuanto al patrón VC encontrado, el más frecuente encontrado fue el temprano con un total del 58.1%, sin predominio de alguno de los 3 patrones VC con los años de evolución, del subtipo clínico o de la severidad de afección cutánea u sistémica; de todos los hallazgos

morfológicos evaluados la elongación de capilares fue el más frecuente, sin embargo, en los análisis de correlación no existe correspondencia entre las concentraciones séricas de TGF- $\beta$  y los 3 patrones capilaroscópicos evaluados; los resultados conseguidos fueron muy similares a los obtenidos por Vettori et. al. Y Camargo et. al.

## CONCLUSIONES

Nuestros datos demostraron que el patrón capilaroscópico temprano fue el más frecuente y que la anomalía morfológica principal es la elongación de capilares dentro de los sujetos evaluados. Que no existe diferencia entre las concentraciones séricas de TGF- $\beta$  en ninguna de sus 3 isoformas evaluadas con los patrones capilaroscópicos y que esta citocina solo se encuentra elevada en pacientes con el diagnóstico de la enfermedad con un tiempo del padecimiento de larga evolución mayor a 11 años.

Finalmente se concluye que la VC es un estudio sencillo no invasivo que se debe de realizar a todos los pacientes con sospecha de esclerosis sistémica, sin embargo, el TGF- $\beta$  como marcador diagnóstico de una enfermedad temprana no sería útil.

Ya que los patrones capilaroscópicos sirven como apoyo en el diagnóstico y seguimiento de esta enfermedad, empleados en algunos estudios como predictores del daño microvascular y sabiendo que el patrón activo se encuentra en personas con mayor daño microvascular e inflamación, por tal motivo y ante lo antes descrito, la citocina evaluada no serviría como marcador predictivo en la evolución de la ES.

También concluimos que no existe reciprocidad entre el patrón VC encontrado y los años de evolución en ES, pudiendo encontrar pacientes con una evolución de más de 11 años con involucro visceral, pero que presentan un patrón VC temprano con mínimas alteraciones morfológicas, lo que contradice a muchos de los estudios realizados.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Nikpour M, Stevens W. Epidemiology of systemic sclerosis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2010; (24): 857–69.
2. Coral P, Pardo A, Castano N. Systemic sclerosis: a worldwide global analysis. *Clin Rheumatol*. 2009; 28(7): 757-65.
3. Pizzorni C. et al. Capillaroscopy in 2016: new perspectives in systemic sclerosis. *Acta reumatol port*. 2016; (41):8-14.
4. Chang Wu P, Nung Huang M. Clinical applicability of quantitative nailfold capillaroscopy in differential diagnosis of connective tissue diseases with Raynaud's phenomenon. *Journal of the Formosan Medical Association*. 2013; (112): 482-88.
5. Melchor S, Joven B, Andreu JL. Validation of the 2013 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for systemic sclerosis in patients from a capillaroscopy clinic. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 2016; (5):1-19.
6. Hoogen F, Khanna D, Fransen J. 2013 Classification Criteria for Systemic Sclerosis. *Arthritis & Rheumatism*. 2013; (65): 2737-47.
7. Smith V, Thevissen K, Trombetta A. Nailfold Capillaroscopy and Clinical Applications in Systemic Sclerosis. *Microcirculation*. 2016; (23): 364–72.
8. Rossi D, Russo A, Manna E. The role of nail-videocapillaroscopy in early diagnosis of scleroderma. *Autoimmunity Reviews*. 2013; 12 (8): 821-25.
9. Sulli A, Pizzorni C, Smith V. Timing of Transition Between Capillaroscopic Patterns in Systemic Sclerosis. *Arthritis & Rheumatism*. 2012; 64 (3): 821–25.
10. Sebastiani M, Manfredi A, Vukatana G. Predictive role of capillaroscopic skin ulcer risk index in systemic sclerosis: a multicentre validation study. *Ann Rheum Dis*. 2012; (71): 67–70.
11. Ghizzoni C, Sebastiani M. Prevalence and evolution of scleroderma pattern at nailfold videocapillaroscopy in systemic sclerosis patients: Clinical and prognostic implications. *Microvascular Research*. 2015; (99): 92–5.
12. Raja J, Denton C. Cytokines in the immunopathology of systemic sclerosis. *Semin Immunopathol*. 2015; 37(5): 543-57.
13. Yang X, Yang J. Increased frequency of Th17 cells in systemic sclerosis is related to disease activity and collagen overproduction. *Arthritis Research & Therapy*. 2014; 16: 1-11.
14. Liu M, Wu W. New insights into CD4+ T cell abnormalities in systemic sclerosis. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2015; (28): 31-6.
15. Chora I, Guiducci S, Manetti M. Vascular biomarkers and correlation with peripheral vasculopathy in systemic sclerosis. *Autoimmunity Reviews*. 2015; 14(4): 314-22.
16. Brembilla N, Chizzolini C. T cell abnormalities in systemic sclerosis with a focus on Th17 cells. *Eur. Cytokine Netw*. 2012; 23(4): 128-39.
17. Martínez M, Cruz M. Expression of NLRP3 Inflammasome, Cytokines and Vascular Mediators in the Skin of Systemic Sclerosis Patients. *Isr Med Assoc J*. 2015; 17(1): 5-10.

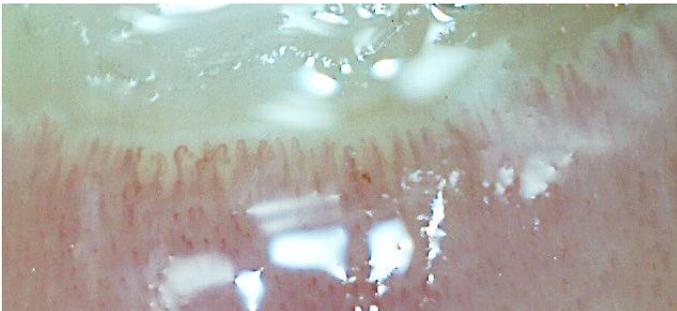
18. Chizzolini C, Boin F. The role of the acquired immune response in systemic sclerosis. *Semin Immunopathol.* 2015; 37(5): 519-28.
19. Tavares A, Calado S. Reassessing the Role of the Active TGF- $\beta$ 1 as a Biomarker in Systemic Sclerosis: Association of Serum Levels with Clinical Manifestations. 2016; 1-6.
20. Liakouli V, Cipriani P, Marrelli A. Angiogenic cytokines and growth factors in systemic sclerosis. *Autoimmunity Reviews.* 2011; (10): 590–94.
21. Riccieri V, Rinaldi T, Spadaro A. Interleukin-13 in systemic sclerosis: relationship to nailfold capillaroscopy abnormalities. *Clin Rheumatol.* 2003; (22): 102–06.
22. Vettori S et. al. Early Systemic Sclerosis: Serum Profiling of Factors Involved in Endothelial, T-cell, and Fibroblast Interplay is Marked by Elevated Interleukin-33 Levels. *J Clin Immunol* 2014; (34): 663–68.
23. Camargo C, Sekiyama J, Arismendi M, Kayser C. Microvascular abnormalities in patients with early systemic sclerosis: less severe morphological changes than in patients with definite disease. *Scand J Rheumatol* 2015; (44):48–55.

## ANEXO ICONOGRÁFICO DE ALTERACIONES MORFOLÓGICAS POR PATRÓN CAPILAROSCÓPICO

### Patrón temprano



Femenino 46 años con EScd desde hace 14 años, presencia de úlceras digitales, calcinosis y esclerodactilia, se observan capilares dilatados, elongados y ramificados.



Femenino 53 años, EScI desde hace 9 años, con FR, se observa distribución capilar relativamente conservada y dilatación capilar.



Femenino 74 años con EScI desde hace 14 años, FR, esclerodactilia, se observa elongación de capilares, distribución capilar relativamente conservada.

### Patrón activo



Femenino 45 años con EScl, FR, esclerodactilia y telangiectasias, fibrosis pulmonar, se observa desorganización de la arquitectura y capilares ramificados.



Femenino 50 años con EScl desde hace 3 años, FR, esclerodactilia, involucro pulmonar y esofágico, se observan capilares dilatados y gigantes.



Femenino 57 años con EScl hace 20 años, con FR, úlceras digitales, esclerodactilica, involucro de esófago y articular, se observan capilares desorganizados, gigantes y zonas avasculares.

## Patrón Tardío



Femenino de 74 años con EScd de 23 años de diagnóstico, con FR, Sjögren, esclerodactilia, úlceras digitales, calcinosis, afección esofágica y articular; se observa desorganización capilar severa y áreas avasculares.



Femenino de 46 años con EScd de 19 años de diagnóstico, FR, síndrome de Sjögren, calcinosis, esclerodactilia, úlceras digitales; se observan capilares ramificados espesos, desorganizados y áreas avasculares extensas.



Femenino 68 años con EScd de 16 años de diagnóstico, FR, esclerodactilia y telangiectasias, afección pulmonar; se observan capilares elongados, desorganizados, y áreas avasculares.

# ANEXO 1

## Hoja de recolección de datos Protocolo de investigación

### DIFERENCIA ENTRE LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS TGF- $\beta$ CON LOS 3 PATRONES CAPILAROSCÓPICOS DE ESCLEROSIS SISTÉMICA.

Nombre: \_\_\_\_\_ NSS: \_\_\_\_\_  
Edad: \_\_\_\_\_ Teléfono: \_\_\_\_\_

Fecha del estudio ____/____/2017	No. progresivo		
Fecha de nacimiento ____/____/____	Genero M:___ F:___	Edad de Inicio de los síntomas (años):	Fenómeno de Raynaud Si:___ No:___
Talla:	Peso:	Años de diagnóstico:	Subtipo clínico EScd____ EScl____
Sjögren: Si ___ No ___ AR: Si ___ No ___ Dermato/polimiositis: Si ___ No ___	CBP: Si ___ No ___ LES: Si ___ No ___ SAF: Si ___ No ___ Cáncer: Si ___ No ___	DM 2: Si ___ No ___ HAS: Si ___ No ___ Otra enfermedad: Si ___ No ___	Ulceras digitales: Si ___ No ___ Clacnosis: Si ___ No ___ Esclerodactilia: Si ___ No ___ Telangiectasias: Si ___ No ___
Normal _____ Rodnan1-14 _____ Rodnan 15-29 _____ Rodnan 30-39 _____ Rodnan > 40 _____	PCR: mm/hr VSG: mg/L ANA: AntiScl-70: Ac. anticentromero	Involucro de órganos Pulmón: Si ___ No ___ Esófago: Si ___ No ___ Articulación: Si ___ No ___ Cardiaco: Si ___ No ___ Renal: Si ___ No ___	Calci antagonistas: Si ___ No ___ Esteroides Si ___ No ___ Ninguno: Si ___ No ___
Nivel de IL-13: _____ pg/mL Nivel de IL-17: _____ Cell/ $\mu$ L Nivel de TGF- $\beta$ : _____ pg/mL	Densidad de capilares: ___/mm Capilares ramificados: Si ___ No ___ Score capilaroscópico: 1: ___ 2: ___ 3: _____	Anormalidades capilaroscópicas Capilares gigantes: Si ___ No ___ Dilatación de Capilares: Si ___ No ___ Capilares elongados: Si ___ No ___ Microhemorragias: Si ___ No ___ Campo avascular: Si ___ No ___ Desorganización vascular: Si ___ No ___	Diámetro arteriolar: ___ $\mu$ m Diámetro venoso: ___ $\mu$ m Diámetro total: ___ $\mu$ m

**ANEXO 2**

**EVALUACIÓN MORFOLÓGICA GLOBAL**

Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

