

**EVALUACION DE BIOMARCADORES INFLAMATORIOS POTENCIALMENTE
PREDICTORES DE LA EVOLUCIÓN HACIA EL COMPROMISO ARTICULAR
CRÓNICO ASOCIADO A LA INFECCIÓN POR EL VIRUS CHIKUNGUNYA**

ZULY MILENA ZARAZA MONCAYO

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BASICAS
MAESTRIA EN CIENCIAS BASICAS BIOMEDICAS
BUCARAMANGA
2020**

**EVALUACION DE BIOMARCADORES INFLAMATORIOS POTENCIALMENTE
PREDICTORES DE LA EVOLUCIÓN HACIA EL COMPROMISO ARTICULAR
CRÓNICO ASOCIADO A LA INFECCIÓN POR EL VIRUS CHIKUNGUNYA**

ZULY MILENA ZARAZA MONCAYO

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar
al título de Magister en Ciencias Básicas Biomédicas**

Director

**LUIS ANGEL VILLAT CENTENO
MD. MSc. En Enfermedades Infecciosas**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BASICAS
MAESTRIA EN CIENCIAS BASICAS BIOMEDICAS
BUCARAMANGA**

2020

DEDICATORIA

Este trabajo quiero dedicarlo principalmente;

A Dios por iluminar mi camino.

*A mi nonita Marina por su apoyo
desde mi infancia, me hubiera encantado
que me hubieras acompañado
recibiendo este logro.*

*A mi madre y hermana por ser mi apoyo,
fortaleza y acompañarme en el proceso.*

AGRADECIMIENTOS

Principalmente quiero agradecer al doctor Luis Ángel Villar que, como tutor de esta tesis, me ha permitido crecer en mi camino científico con sus enseñanzas, aprendizajes y oportunidades.

A Anyela Lozano y Margarita Gelvez quienes me apoyaron con sus conocimientos en el desarrollo de mi trabajo de grado.

Y a todos aquellos que contribuyeron en la realización y culminación de este logro.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION.....	15
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	22
3. MARCO TEORICO	23
3.1 VIRUS CHIKUNGUNYA	23
3.1.1 Características estructurales del virus del Chikungunya	23
3.1.2 Mecanismo de infección y trasmisión del virus Chikungunya	24
3.2 EPIDEMIOLOGIA DEL VIRUS CHIKUNGUNYA.....	25
3.3 PATOGENIA DEL VIRUS CHIKUNGUNYA	28
3.3.1 Fase aguda: Fase temprana de la enfermedad.....	28
3.3.2 Fase de cronicidad: Compromiso articular crónico.....	29
3.3.3 Complicaciones de la infección por Chikungunya	30
3.4 RESPUESTA INFLAMATORIA FRENTE A LA INFECCION POR EL VIRUS CHIKUNGUNYA	32
3.5 CITOQUINAS SELECCIONADAS PARA EL ANALISIS.....	36
3.5.1 IL-6	38
3.5.2 INF- α 2	41
3.5.3 MCP-1	43
3.5.4 GM-CSF	47
3.5.5 IL-8	48
3.5.6 TNF α	51
3.6 ARTRITIS REUMATOIDE.....	53
3.6.1 Respuesta inflamatoria en Artritis Reumatoide	53
3.7 COMPROMISO ARTICULAR CRONICO POSTERIOR A LA INFECCION POR EL VIRUS CHIKUNGUNYA	56
3.7.1 Compromiso articular crónico	58
3.7.2 Compromiso de la calidad de vida asociado a Chikungunya.....	58

3.8 RESPUESTA INFLAMATORIA FRENTE A OTROS ARBOVIRUS DENGUE Y ZIKA	60
3.9 TECNICA EMPLEADA PARA ANALISIS DE LOS NIVELES DE LAS CITOQUINAS	67
3.10 BIOMARCADORES	68
3.10.1 Usos de los Biomarcadores	69
3.10.2 Posibles escenarios del uso e intervenciones de los Biomarcadores	70
4. OBJETIVOS	73
4.1 OBJETIVO GENERAL	73
4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	73
5. JUSTIFICACION	74
6. HIPOTESIS	77
6.1 HIPÓTESIS 1	77
6.2 HIPÓTESIS 0	77
7. METODOLOGIA	78
7.1 TIPO DE ESTUDIO	78
7.2 POBLACION DE ESTUDIO	78
7.2.1 Tamaño de muestra	78
7.3 DEFINICION DE CASO Y CONTROL	80
7.3.1 Caso	80
7.3.2 Controles	80
7.4 CRITERIOS PARA LA SELECCIÓN DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO	80
7.4.1 Criterios de inclusión	80
7.4.2 Criterios de exclusión	80
7.5 VARIABLES DEL ESTUDIO	81
7.5.1 Tabla de Variables Independientes	81
7.5.2 Tabla de Variables Clínicas	81
7.5.3 Variables Dependiente	82
7.5.4 Potenciales Variables de Confusión	82
7.6 MUESTRAS BIOLÓGICAS A ANALIZAR	82

7.6.1 Procedimiento de recolección	82
7.7 MEDICION DE LOS NIVELES DE LAS CITOQUINAS	84
7.7.1 Determinación de los niveles de Citoquinas mediante la técnica de Milliplex.....	85
7.7.2 Curva de calibración y cálculo del resultado	85
8. CONSIDERACIONES ETICAS	87
9. ANALISIS DE DATOS	89
10. RESULTADOS	90
10.1 EVALUACIÓN DE CITOQUINAS.....	91
11. DISCUSIÓN.....	95
12. CONCLUSIONES	101
BIBLIOGRAFÍA.....	102
ANEXOS	116

LISTA DE CUADROS

Pág.

Cuadro 1. Criterios de Bradford Hill aplicado a los Biomarcadores.	72
Cuadro 2. Dilución de los patrones de concentración conocida para el ensayo de Milliplex.....	86
Cuadro 3. Características demográficas y clínicas en los diferentes grupos poblacionales en la primera evaluación.	90
Cuadro 4. Características demográficas de la población seleccionada para la evaluación de marcadores.....	91
Cuadro 5. Resultados de los niveles de las citoquinas en los pacientes durante la visita sub-aguda y crónica	92
Cuadro 6. Evaluación del cambio en los niveles de las citoquinas entre visita subaguda y crónica.....	93
Cuadro 7. Asociación de IL-8 con artropatía persistente a 2 años	93
Cuadro 8. Resultados de los niveles de las mediciones de los marcadores evaluados en la cohorte previamente.	94
Cuadro 9. Asociación de marcadores en primera evaluación y la evolución de los pacientes a poliartropatía crónica	94

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Características estructurales del virus del Chikungunya	23
Figura 2. Ciclo de Transmisión	25
Figura 3. Países de las Américas con transmisión local de chikungunya y casos notificados a la OPS, por mes, diciembre de 2013-septiembre de 2015.	27
Figura 4. Países y territorios donde se han notificado casos de Chikungunya en el 2018	28
Figura 5. Modelo del desarrollo de la artritis alphaviral	35
Figura 6 Patrones inmunes de la infección e inflamación del virus chikungunya (CHIKV).	36
Figura 7. Las diversas funciones de IL-6 en la patogénesis de la AR	40
Figura 8. Modelo de upregulation de la MCP-1 sobre la infección por virus chikungunya en PBMC humanas.	45
Figura 9. Esquema de la fisiopatología de la artritis reumatoide. Interacción de las principales células implicadas en la fisiopatología de la sinovitis y resorción ósea, culminando en la liberación de enzimas y daño tisular	54
Figura 10. Vías inflamatorias activadas por interleuquina (IL) -6. En las articulaciones, la IL-6 induce la formación de pannus, la activación de los osteoclastos y media la sinovitis crónica.	56
Figura 11. Principio de la técnica empleada para el análisis de los niveles de las citoquinas mediante el ensayo de Milliplex.	68
Figura 12. Características para la selección de un marcador biológico y sus usos en la investigación clínica.	70
Figura 13. Escenario 1	70
Figura 14. Escenario 2	71
Figura 15. Escenario 3	71
Figura 16. Escenario 4	71
Figura 17. Escenario 5	71

Figura 18. Flujograma de selección de casos y controles	79
Figura 19. Esquema metodológico del estudio.....	83

LISTA DE ANEXOS

Pág.

Anexo A. Descripción del proceso de recolección y valoración de los pacientes en el estudio de Casos y Controles anidado a una Cohorte.	117
Anexo B. Estandarización de las citoquinas seleccionadas para la medición de los niveles en suero.	121
Anexo C. Carta de aprobación por parte del Comité de Ética de la UIS (CEINCI).....	123

LISTA DE SIGLAS

Anti- CCP: Anticuerpos contra péptido citrulinado.

CHIKV: Virus del Chikungunya.

ELISA: ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas por sus siglas en inglés “Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay”.

Ig G: Inmunoglobulina G.

L: litro.

Mg: Miligramos.

PCR: Proteína C reactiva.

RIQ: Rango intercuartilico.

RESUMEN

TÍTULO: Evaluación de biomarcadores inflamatorios potencialmente predictores de la evolución hacia el compromiso articular crónico asociado a la infección por el virus Chikungunya*

AUTOR: ZULY MILENA ZARAZA MONCAYO**

PALABRAS CLAVE: Poliartropatía crónica inflamatoria post Chikungunya, recuperados, compromiso articular intermedio, interleuquina 8, proteína quimioatrayente de monocitos I, factor de necrosis tumoral alpha.

DESCRIPCIÓN:

La infección por Chikungunya es una enfermedad infecciosa global que puede afectar a una amplia gama de grupos de edad, género y regiones. En Colombia el Chikungunya ingreso en el 2013 ocasionando una alta morbilidad, afectando una porción de la población del país.

Se realizó un estudio de casos y controles anidado a una cohorte. Esta cohorte es una población afectada por un brote de Chikungunya. Los pacientes identificados en ese brote se evaluaron dos años después de forma presencial por parte de un reumatólogo experto permitiendo así la categorización de la población y posteriormente identificar el grupo de casos (compromiso articular crónico) grupo control (recuperados)

En el estudio de casos y controles se incluyeron 55 muestras de los pacientes. Mayores de edad con un predominio de mujeres enfermas (80.0%). El 54.6% de los pacientes al momento del ingreso se encontraban con dolor articular, 12.7% con dolor muscular, 16.4% dolor lumbar, 38.2% rigidez, 7.3% entesitis y 23.6% alteración del estado de ánimo y sueño, (ver tabla 3). Ninguno de los pacientes reportó artritis reumatoide, lupus eritematoso o fibromialgia al momento de ingreso al estudio. Por otro lado, los niveles de la IL-8 para el grupo de poliartropatía crónica aumentaron casi 4 veces más al compararlos con los casos que se recuperaron del cuadro articular. Se resalta, este comportamiento diferencial entre los casos y los controles; no obstante, sus diferencias muestran importancia marginalmente significativa (valor $p=0.057$). El presente estudio amplia el conocimiento sobre la poliartropatía post Chikungunya.

* Trabajo de grado

** Facultad de Salud. Maestría en Ciencias Básicas Biomédicas. Director: Luis Ángel Villat Centeno, Médico, MSc en Enfermedades infecciosas.

ABSTRACT

TITLE: Evaluation of inflammatory biomarkers potentially predictive of the evolution towards chronic joint involvement associated with Chikungunya virus infection*

AUTHOR: ZULY MILENA ZARAZA MONCAYO**

KEY WORDS: Post-Chikungunya inflammatory chronic polyarthropathy, recovered, intermediate joint involvement, interleukin 8, monocyte chemoattractant protein I, tumor necrosis factor alpha.

DESCRIPTION:

Chikungunya infection is a global infectious disease that can affect a wide range of age groups, gender and regions. In Colombia, Chikungunya entered in 2013 causing high morbidity, affecting a portion of the country's population.

A case-control study nested to a cohort was conducted. This cohort is a population affected by an outbreak of Chikungunya. The patients identified in that outbreak were evaluated two years later by an expert rheumatologist thus allowing the categorization of the population and subsequently identifying the case group (chronic joint involvement) control group (recovered)

In the case-control study, 55 patient samples were included. Adults with a predominance of sick women (80.0%). 54.6% of the patients at the time of admission were with joint pain, 12.7% with muscle pain, 16.4% low back pain, 38.2% stiffness, 7.3% enthesitis and 23.6% mood and sleep disturbance, (see table 3) . None of the patients reported rheumatoid arthritis, lupus erythematosus or fibromyalgia at the time of study entry. On the other hand, the levels of IL-8 for the group of chronic polyarthropathy increased almost 4 times more when compared with cases that recovered from the joint picture. It is highlighted, this differential behavior between cases and controls; however, their differences show marginally significant importance (p value = 0.057). The present study broadens knowledge about post-Chikungunya polyarthropathy.

* Trabajo de grado

** Facultad de Salud. Maestría en Ciencias Básicas Biomédicas. Director: Luis Ángel Villat Centeno, Médico, MSc en Enfermedades infecciosas.

INTRODUCCION

El virus Chikungunya es el agente etiológico de la fiebre de Chikungunya, pertenece a la familia Togaviridae y género alphavirus. Transmitido por mosquitos *Aedes aegypti* y *albopictus* en América¹.

El Chikungunya es una enfermedad artrítica debilitante que, durante los últimos 7 años, ha causado una alta morbilidad inconmensurable y algunos casos mortales en seres humanos².

Se caracteriza principalmente durante su fase aguda por presentar fiebre y fuertes dolores articulares, produce otros síntomas, tales como dolores musculares, dolores de cabeza, náuseas, cansancio y erupciones cutáneas³.

Durante la fase crónica los signos y síntomas son similares a la Artritis reumatoide excepto por el componente autoinmune que no ha sido asociado frente a los pocos estudios con Chikungunya lo que indica que la artritis posterior a Chikungunya es un tipo diferente de afección inflamatoria crónica⁴. Cabe resaltar que después de los brotes de Chikungunya en La isla Reunión y la India durante 2005-2006 se informó un aumento de incidencias de complicaciones neurológicas y letalidad asociada a la infección^{5,6}.

¹ MATHEW, Ann J., et al. Chikungunya infection: a global public health menace. *Current allergy and asthma reports*, 2017, vol. 17, no 2, p. 13.

² THIBERVILLE, Simon-Djamel, et al. Chikungunya fever: epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. *Antiviral research*, 2013, vol. 99, no 3, p. 345-370.

³ COLOMBIA. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Informe final del evento Chikungunya. [en línea]. 2014. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscadoreventos/Informesdeevento/Chikungun%CC%83a%202014.pdf>.

⁴ NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. *Annual review of virology*, 2017, vol. 4, p. 413-427.

⁵ GOUPIL, Brad A., et al. Novel lesions of bones and joints associated with chikungunya virus infection in two mouse models of disease: new insights into disease pathogenesis. *PLoS one*, 2016, vol. 11, no 5.

⁶ TEO, Teck-Hui, et al. Mouse models for Chikungunya virus: deciphering immune mechanisms responsible for disease and pathology. *Immunologic research*, 2012, vol. 53, no 1-3, p. 136-147.

El virus Chikungunya ha estado involucrado en epidemias en los subcontinentes de África y Asia y en los últimos tiempos, ha trascendido para afectar a las Américas⁷. En América, en 2015 se notificaron a la Organización Panamericana de la Salud (OPS) 693.489 casos sospechosos y 37.480 casos confirmados. De los cuales la mayoría de la carga de la enfermedad correspondió a Colombia, con 356.079 casos sospechosos^{8,9}.

Colombia por su geografía, ambiente y clima tropical facilita la producción de altos índices del vector *Aedes aegypti*, convirtiéndose en un territorio adecuado para la expansión, mantenimiento y posibilidad de reincidencia de arbovirosis como Dengue, Zika y Chikungunya. Por esta razón y frente a la inexistencia de una previa sensibilización del virus en la población, la entrada del virus Chikungunya a Colombia rápidamente se convirtió en una epidemia¹⁰.

Frente a la línea del tiempo de la enfermedad desde su manifestación aguda, subaguda y crónica, se ha establecido la fuerte relación entre sus manifestaciones articulares con una fuerte respuesta inflamatoria. Cuáles y en qué momento de la enfermedad se presentan y manifiestan aquellas citoquinas responsables, es una respuesta que aún no se ha podido esclarecer^{11,12}.

Pocos estudios han informado sobre el papel de las citoquinas y las quimiocinas en el proceso inflamatorio del compromiso articular crónico posterior a la infección por

⁷ MATHEW, Ann J., et al. Chikungunya infection: a global public health menace. *Current allergy and asthma reports*, 2017, vol. 17, no 2, p. 13.

⁸ OMS. Organización Mundial de la Salud. Chikungunya. [en línea]. 2017. (citado en 12 noviembre 2019). Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>.

⁹ OPS - Organización Panamericana DE LA Salud. Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus chikungunya en las Américas. 2011.

¹⁰ COLOMBIA. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Informe final del evento Chikungunya. [en línea]. 2014. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/Chikungun%CC%83a%202014.pdf>.

¹¹ NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. *Annual review of virology*, 2017, vol. 4, p. 413-427.

¹² COUDERC, Thérèse, et al. A mouse model for Chikungunya: young age and inefficient type-I interferon signaling are risk factors for severe disease. *PLoS pathogens*, 2008, vol. 4, no 2.

Chikungunya en muestras humanas, y a pesar de sus importantes hallazgos, los resultados no han permitido aun la selección de aquellas candidatas para mejorar el pronóstico de la fase crónica. Esto probablemente debido a la heterogeneidad de estas citoquinas y quimioquinas en diferentes poblaciones de estudio, los tamaños de muestra pequeños y la falta de validación^{13,14,15,16}.

A pesar de las diferencias entre las investigaciones realizadas en diferentes partes del mundo, se puede afirmar que el compromiso articular crónico está fuertemente asociado con la respuesta inflamatoria desencadenada durante la fase aguda y su no retorno a niveles basales, comportándose no solo como los principales mediadores de la inflamación y destrucción articular, sino también como una causa de la enfermedad en su estado crónico, contribuyendo significativamente a la generación, daño óseo y mantenimiento del dolor^{17,18,19,20,21}.

¹³ MATHEW, Ann J., et al. Chikungunya infection: a global public health menace. *Current allergy and asthma reports*, 2017, vol. 17, no 2, p. 13.

¹⁴ CHAAITHANYA, Itta Krishna, et al. Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. *Viral immunology*, 2011, vol. 24, no 4, p. 265-271.

¹⁵ SIMARMATA, Diane, et al. Early clearance of Chikungunya virus in children is associated with a strong innate immune response. *Scientific reports*, 2016, vol. 6, no 1, p. 1-8.

¹⁶ WAUQUIER, Nadia, et al. The acute phase of Chikungunya virus infection in humans is associated with strong innate immunity and T CD8 cell activation. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 204, no 1, p. 115-123.

¹⁷ SCHAIBLE, Hans George, et al. The role of proinflammatory cytokines in the generation and maintenance of joint pain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, vol. 1193, no 1, p. 60-69.

¹⁸ CHOW, Angela, et al. Persistent arthralgia induced by Chikungunya virus infection is associated with interleukin-6 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 203, no 2, p. 149-157.

¹⁹ JALLER RAAD, Juan, et al. Immunological response of a population from the Caribbean region of Colombia infected with the chikungunya virus. *Revista Colombiana de Reumatología*, 2016, vol. 23, no 2, p. 85-91.

²⁰ CHIRATHAWORN, Chintana, et al. Cytokine levels in patients with chikungunya virus infection. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 2013, vol. 6, no 8, p. 631-634.

²¹ REDDY, Vijayalakshmi, et al. Correlation of plasma viral loads and presence of Chikungunya IgM antibodies with cytokine/chemokine levels during acute Chikungunya virus infection. *Journal of medical virology*, 2014, vol. 86, no 8, p. 1393-1401.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos años, las enfermedades tropicales emergentes y reemergentes han demostrado causar alto impacto social y económico. Para el 2010 la fiebre de Chikungunya se convirtió en la infección más importante en el sudeste de Asia, la región Pacífica y Europa llegando a ser uno de los virus transmitidos por artrópodos más discutidos después del virus del dengue^{22,23}.

La fiebre de Chikungunya es una enfermedad infecciosa global que puede afectar a una amplia gama de grupos de edad, género y regiones. En América, en 2015 se notificaron a la Organización Panamericana de la Salud (OPS) 693.489 casos sospechosos y 37.480 confirmados. La mayoría de la carga de la enfermedad correspondió a Colombia, con 356.079 casos sospechosos. Siendo una cifra menos a la del 2014. Sin embargo, en 2016 se notificó a la OMS para las Américas 349.936 casos sospechosos y 146.914 confirmados. Los países que más casos notificaron fueron Brasil (265.000 sospechosos) y Bolivia y Colombia (19.000 sospechosos cada uno). En 2016 el virus sorprendió extendiéndose a nuevos territorios notificándose por vez primera la transmisión autóctona del virus en Argentina²⁴.

En la época del brote en Colombia la población era susceptible a la infección por Chikungunya, por la ausencia del virus anteriormente y la presencia del vector trasmisor que se encontraba en el 72% de los municipios del país, esto llevo a que

²² NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. Annual review of virology, 2017, vol. 4, p. 413-427.

²³ OPS - Organización Panamericana de la Salud. Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus chikungunya en las Américas. 2011.

²⁴ OMS. Organización Mundial de la Salud. Chikungunya. [en línea]. 2017. (citado en 12 noviembre 2019). Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>.

la población en general estuviera cerca del 95% en riesgo de infectarse tras la picadura de un insecto infectado y así diseminarse^{25,26}.

El Chikungunya es una enfermedad vírica transmitida al ser humano por mosquitos infectados. *Aedes Aegypti* y *Albopictus*. Sus síntomas son principalmente fiebre y fuertes dolores articulares, también produce otros síntomas, tales como dolores musculares, dolores de cabeza, náuseas, cansancio y erupciones cutáneas^{27,28}. Los dolores articulares suelen ser debilitantes y su duración puede variar. La artralgia experimentada por pacientes con Chikungunya se parece mucho a los síntomas inducidos por otros alfavirus como el virus Sindbis y Ross River u otro tipo de enfermedad como la Artritis reumatoide²⁹. Esa artralgia se caracteriza por dolor intenso en las articulaciones debido a la inflamación y la destrucción del tejido asociada a respuesta inflamatoria^{30,31,32}.

La inmunopatogénesis del Chikungunya la han descrito diversos autores principalmente su etapa aguda. Durante la infección aguda, los pacientes experimentan fiebre donde se han relacionado las citoquinas llamadas pirogénicas,

²⁵ OMS. Organización Mundial de la Salud. Chikungunya. [en línea]. 2017. (citado en 12 noviembre 2019). Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>.

²⁶ COLOMBIA. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Lineamientos de vigilancia en salud pública, entomológica y de laboratorio ante la introducción del virus Chikungunya en Colombia. [en línea]. 2014. (Citado en 15 agosto 2019). Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ET/Anexo%203%20Lineamientos%20de%20Vigilancia%20CHIKV%202014.pdf>

²⁷ COLOMBIA. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Informe final del evento Chikungunya. [en línea]. 2014. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/Chikungun%CC%83a%202014.pdf>.

²⁸ THIBERVILLE, Simon-Djamel, et al. Chikungunya fever: epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. *Antiviral research*, 2013, vol. 99, no 3, p. 345-370.

²⁹ NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. *Annual review of virology*, 2017, vol. 4, p. 413-427.

³⁰ MATHEW, Ann J., et al. Chikungunya infection: a global public health menace. *Current allergy and asthma reports*, 2017, vol. 17, no 2, p. 13.

³¹ SCHAIBLE, Hans George, et al. The role of proinflammatory cytokines in the generation and maintenance of joint pain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, vol. 1193, no 1, p. 60-69.

³² SIMARMATA, Diane, et al. Early clearance of Chikungunya virus in children is associated with a strong innate immune response. *Scientific reports*, 2016, vol. 6, no 1, p. 1-8.

como IL-1 β , IL-6 y factor de necrosis tumoral α (TNF- α)^{33,34}. Notablemente, estas citoquinas se han detectado a niveles elevados en pacientes con infección aguda y vuelven a la normalidad después de que desaparecen la fiebre y la viremia³⁵. Sin embargo las concentraciones más altas de factores proinflamatorios se observan con mayor frecuencia en pacientes con poliartritis que en aquellos sin compromiso articular, lo que sugiere un posible papel causal en dolor articular y muscular crónico acompañado de una robusta respuesta inflamatoria crónica^{36,37,38}.

Estudios de cohorte en muestras de pacientes recolectadas de epidemias importantes de Chikungunya a lo largo de su historia, han permitido acercarse y conocer sobre la dinámica inflamatoria durante la infección por Chikungunya. Wauquier y cols. al igual que otros investigadores asocian la importancia de una primera respuesta activa y suficiente de interferón tipo I (α/β). Modelos en animales demuestran que en ratones Nock out para INF-I desarrollan una enfermedad crónica incluso severa afectando el sistema nervioso central³⁹. Por otra parte la inmunopatogenia del compromiso articular crónico por Chikungunya podría tener similitudes con otras artritis flavivirales incluso con la Artritis reumatoide. Chaainthanya y cols. y Hoarau y cols. han evaluado la respuesta inflamatoria en la fase de cronicidad de dos diferentes poblaciones afectadas durante la epidemia en

³³ CHOW, Angela, et al. Persistent arthralgia induced by Chikungunya virus infection is associated with interleukin-6 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 203, no 2, p. 149-157.

³⁴ REDDY, Vijayalakshmi, et al. Correlation of plasma viral loads and presence of Chikungunya IgM antibodies with cytokine/chemokine levels during acute Chikungunya virus infection. *Journal of medical virology*, 2014, vol. 86, no 8, p. 1393-1401.

³⁵ NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. *Annual review of virology*, 2017, vol. 4, p. 413-427.

³⁶ HOARAU, Jean-Jacques, et al. Persistent chronic inflammation and infection by Chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response. *The Journal of Immunology*, 2010, vol. 184, no 10, p. 5914-5927.

³⁷ WAUQUIER, Nadia, et al. The acute phase of Chikungunya virus infection in humans is associated with strong innate immunity and T CD8 cell activation. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 204, no 1, p. 115-123.

³⁸ CHOW, Op. cit.

³⁹ COUDERC, Thérèse, et al. A mouse model for Chikungunya: young age and inefficient type-I interferon signaling are risk factors for severe disease. *PLoS pathogens*, 2008, vol. 4, no 2.

la India y Francia. Sus resultados arrojaron posible asociación entre IL-6, MCP-1, INF-I y una notable disminución en los niveles de la citoquina antiinflamatoria IL-10 pudiendo afectar un buen desenlace de la enfermedad. Otros autores como Lisa F.P. Ng y cols. que agregan a la lista el factor GM-CSF como posible biomarcador de la fase de cronicidad⁴⁰.

Frente a estos hallazgos sería pertinente hacerse la pregunta: En las fases tempranas (aguda-subaguda) de la enfermedad producida por el virus de Chikungunya tienen los niveles de las citoquinas pro-inflamatorias (INF- α 2, IL-6) quimioquinas (MCP-1), factores de crecimiento (MG-CSF) y antiinflamatorias (IL-10) un valor pronóstico para desenlaces como compromiso articular persistente asociado a la infección por el virus Chikungunya.?

Pretendiendo en el marco del estudio evaluar la potencial asociación entre los niveles de las citoquinas INF- α 2, IL-6, MCP-1, MG-CSF, TNF- α , IL-8 determinados en la fase subaguda de la enfermedad con el compromiso articular crónico asociado a la infección por el virus Chikungunya.

Esto con el fin de aportar en el conocimiento científico y con el diseño de este estudio poder contribuir a mejorar la calidad de vida de las personas.

⁴⁰ NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. Annual review of virology, 2017, vol. 4, p. 413-427.

2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

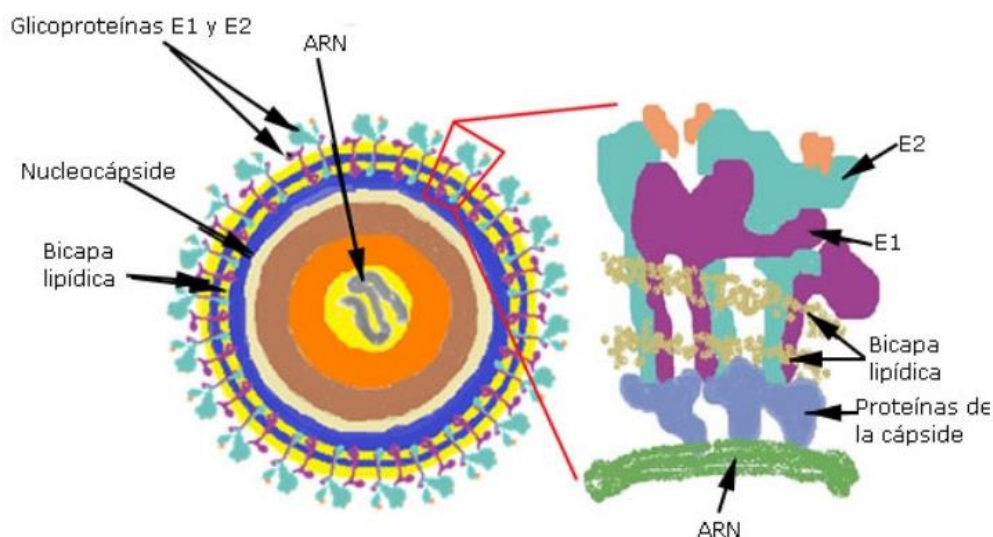
¿En la fase subaguda de la enfermedad producida por el virus Chikungunya, tienen los niveles séricos de las citoquinas moduladoras (INF- α 2) pro-inflamatorias (TNF- α , IL-6,) quimioquinas (MCP-1, IL-8) y factores de crecimiento (MG-CSF) un valor pronóstico para compromiso articular crónico?

3. MARCO TEORICO

3.1 VIRUS CHIKUNGUNYA

3.1.1 Características estructurales del virus del Chikungunya. El virus Chikungunya es un miembro del género *alfavirus* en de la familia *Togaviridae*. Otros virus estrechamente relacionados y bien estudiados son el virus Semliki Forest (SFV), virus del río Ross (RRV), virus Sindbis (SINV) y encefalitis equina venezolana virus (VEEV). Los *Alphavirus* son virus esféricos envueltos con un diámetro de $\sim 700\text{-\AA}^\circ$ y una simetría $T=4$ cuasi-icosahedral. El genoma de los *alfavirus* es un $\sim 12\text{-kb}$ molécula de orientación positiva ARN monocatenario que codifica cuatro proteínas no estructurales (nsP1-4), que son necesarias para la replicación del virus, y cinco proteínas estructurales (proteína C de la cápside, glicoproteínas E1, E2, E3 y 6K)⁴¹. (Ver figura 1)

Figura 1. Características estructurales del virus del Chikungunya



Fuente: MARTÍNEZ FERNÁNDEZ, Liodelvio; TORRADO NAVARRO, Yeimy Paola. Fiebre Chikungunya. Revista Cubana de Medicina, 2015, vol. 54, no 1, p. 74-96.

⁴¹ YAP, Moh Lan, et al. Structural studies of Chikungunya virus maturation. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2017, vol. 114, no 52, p. 13703-13707.

3.1.2 Mecanismo de infección y transmisión del virus Chikungunya. El virus Chikungunya se transmite a las personas a través de las picaduras de mosquitos. Los mosquitos se infectan cuando se alimentan de una persona que ya está infectada con el virus. Lo cual permite que mosquitos infectados puedan transmitir el virus a otras personas a través de las picaduras. El virus Chikungunya cuenta con una transmisión selvática que incluye primates silvestres y otras especies de monos participando en el ciclo de transmisión como reservorios, y especies de mosquitos *Aedes* que habitan en los bosques, principalmente *Aedes furcifer*, *Aedes taylori*, *Aedes luteocephalus*, *Aedes africanus* y *Aedes Neoafricanus* como vectores. Este ciclo se limita a África (Senegal, Costa de Marfil, República Centroafricana y Sudáfrica) y es responsable de casos humanos esporádicos y pequeños brotes⁴².

El ciclo de transmisión humano-mosquito-humano mantiene la infección del virus en las áreas urbanas. Se trata principalmente de un vector, el mosquito *Aedes aegypti*, que es un vector urbano extremadamente eficiente porque se alimenta preferentemente de humanos, a menudo pica a varias personas durante una sola comida de sangre y está adaptado para vivir y reproducirse periódicamente; el mosquito es, por lo tanto, el iniciador más probable de los grandes brotes de la enfermedad⁴³. (Ver figura 2)

En los últimos años, *A. albopictus* se ha convertido en el segundo vector para transmitir de manera eficiente Chikungunya; este mosquito ha mostrado importancia en áreas donde *A. aegypti* está ausente. Por lo tanto, la globalización de *A. albopictus* ha creado nuevas áreas de riesgo para el brote de esta infección^{44,45}.

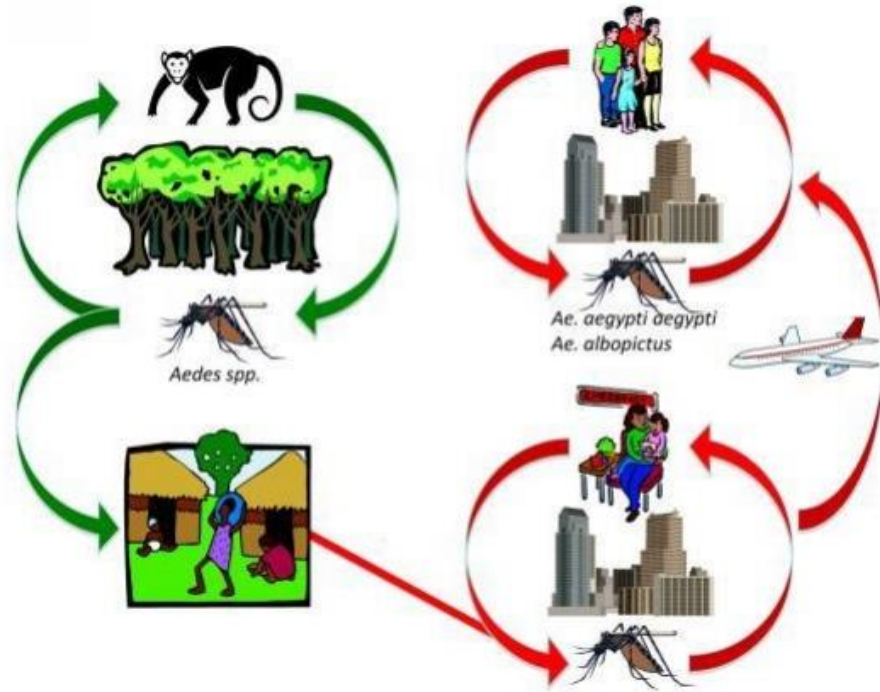
⁴² THIBERVILLE, Simon-Djamel, et al. Chikungunya fever: epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. *Antiviral research*, 2013, vol. 99, no 3, p. 345-370.

⁴³ SCHWARTZ, Olivier; ALBERT, Matthew L. Biology and pathogenesis of chikungunya virus. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, vol. 8, no 7, p. 491-500.

⁴⁴ CDC – Centers for Disease Control and Prevention. Through mosquito bites. Disponible en: <https://www.cdc.gov/chikungunya/transmission/index.html>.

⁴⁵ ALLA, Sanae Ali Ou; COMBE, Bernard. Arthritis after infection with Chikungunya virus. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 2011, vol. 25, no 3, p. 337-346.

Figura 2. Ciclo de Transmisión Urbano y Selvático del Virus Chikungunya



Fuente: TSETSARKIN, Konstantin A., et al. Chikungunya virus: evolution and genetic determinants of emergence. *Current opinion in virology*, 2011, vol. 1, no 4, p. 310-317.

3.2 EPIDEMIOLOGIA DEL VIRUS CHIKUNGUNYA

El virus Chikungunya es un alfavirus transmitido por artrópodos principalmente por mosquitos *Aedes*, que son endémicos en áreas tropicales de África, Asia y América. También es capaz de causar brotes explosivos de enfermedades humanas en áreas sin inmunidad previa, como las de Europa y las Américas^{46,47}.

Los primeros brotes urbanos significativos de fiebre Chikungunya se documentaron a principios de la década de 1960 en Bangkok y de 1963 a 1973 en la India. Brotes menores ocurrieron periódicamente durante los siguientes 30 años, pero no se

⁴⁶ YACTAYO, Sergio, et al. Epidemiology of Chikungunya in the Americas. *The Journal of infectious diseases*, 2016, vol. 214, no suppl_5, p. S441-S445.

⁴⁷ PETERSEN, Lyle R.; POWERS, Ann M. Chikungunya: epidemiology. *F1000Research*, 2016, vol. 5.

registraron brotes importantes hasta 2004, cuando comenzó una gran epidemia en la costa de Kenia. Este brote comenzó un período de 4 años en el que el virus se extendió a lo largo de numerosas islas del Océano Índico, India y partes del sudeste asiático. Además, al menos 18 países de Asia, Europa y América del Norte documentaron casos importados de fiebre Chikungunya, con algunos de estos países desarrollando transmisión autóctona local del virus^{48,49}.

En América, en 2015 se notificaron a la Organización Panamericana de la Salud (OPS) 693.489 casos sospechosos y 37.480 confirmados. La mayoría de la carga de la enfermedad correspondió a Colombia, con 356.079 casos sospechosos. Siendo una cifra menos a la del 2014. Sin embargo, en 2016 se notificó a la OMS para las Américas 349.936 casos sospechosos y 146.914 confirmados. Los países que más casos notificaron fueron Brasil (265.000 sospechosos) y Bolivia y Colombia (19.000 sospechosos cada uno). En 2016 el virus sorprendió extendiéndose a nuevos territorios notificándose por vez primera la transmisión autóctona del virus en Argentina^{50,51}. (Ver Figura 3)

Colombia por sus características geográficas, hídricas y los altos índices del vector *Aedes aegypti*, es un territorio adecuado para la expansión, mantenimiento y posibilidad de reincidencia de arbovirosis como Dengue, Zika y Chikungunya. La entrada del virus Chikungunya a Colombia rápidamente se convirtió en una epidemia⁵². Para la región de la Amazonia correspondió la mayor incidencia a

⁴⁸ STAPLES, J. Erin; BREIMAN, Robert F.; POWERS, Ann M. Chikungunya fever: an epidemiological review of a re-emerging infectious disease. *Clinical infectious diseases*, 2009, vol. 49, no 6, p. 942-948.

⁴⁹ PETERSEN, Lyle R. y POWERS, Ann M. Chikungunya: epidemiology. *F1000Research*, 2016, vol. 5.

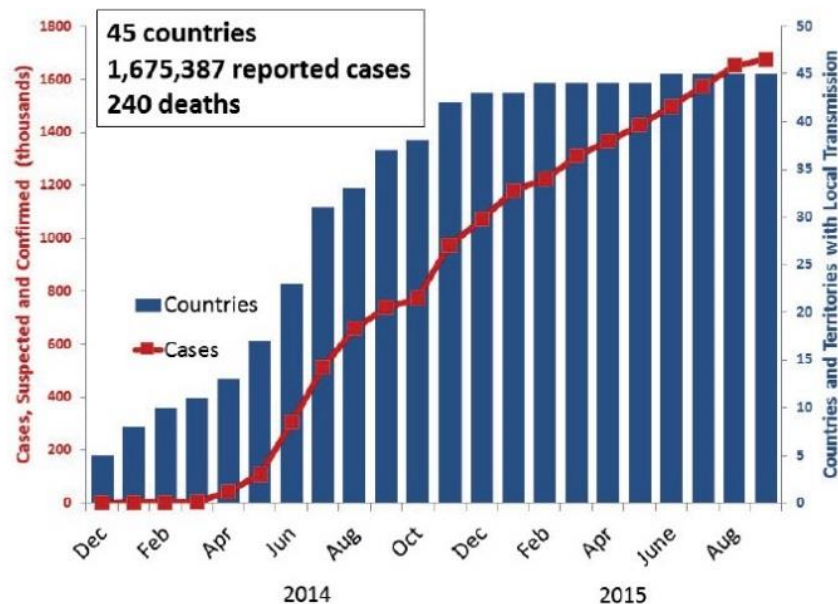
⁵⁰ OMS. Organización Mundial de la Salud. Chikungunya. [en línea]. 2017. (citado en 12 noviembre 2019). Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>.

⁵¹ OPS - Organización Panamericana de la Salud. Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus chikungunya en las Américas. 2011.

⁵² COLOMBIA. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Informe final del evento Chikungunya. [en línea]. 2014. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/Chikungun%CC%83a%202014.pdf>.

Putumayo con 51,2 casos X 100.000 habitantes en riesgo. En la región Central la mayor incidencia se registró en Cundinamarca con 364,4 casos x 100.000 habitantes en riesgo. La región Oriental registró casos confirmados en Santander y Norte de Santander teniendo este último departamento el mayor número de afectados con 2.336 casos x 10.000 habitantes en riesgo. Para la región de la Orinoquia Arauca fue la entidad territorial con la mayor proporción de incidencia (145,1 casos x 10.000 habitantes en riesgo). La región Caribe registró el 68,8% de los casos confirmados en el país, con casos en todas sus entidades territoriales. Y finalmente la región Pacífica reporto mayor incidencia en el Valle del Cauca con 8,9 casos x 10.000 habitantes en riesgo^{53,54}.

Figura 3. Países de las Américas con transmisión local de Chikungunya y casos notificados a la OPS, por mes, diciembre de 2013-septiembre de 2015.



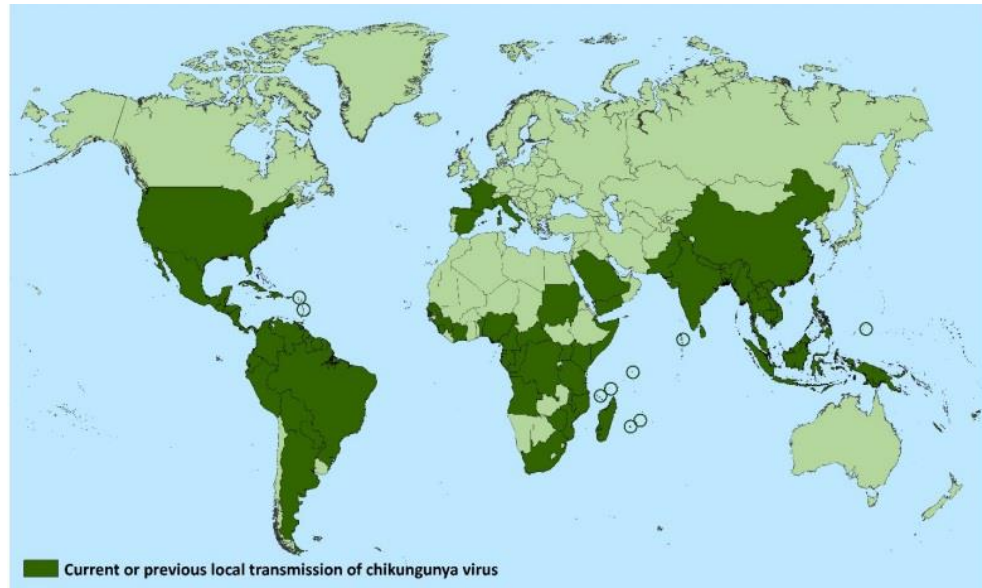
Fuente: PETERSEN, Lyle R.; POWERS, Ann M. Chikungunya: epidemiology. F1000Research, 2016, vol. 5.

⁵³ COLOMBIA. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Informe final del evento Chikungunya. [en línea]. 2014. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/Chikungun%CC%83a%202014.pdf>.

⁵⁴ COLOMBIA. Instituto Nacional de Salud. Chikungunya en Colombia, año 2014 Informe Quincenal Epidemiológico Nacional 2015, vol 20, no 5, p. 79.

La situación en el 2018 de casos de Chikungunya en el mundo de acuerdo al CDC se muestra en la figura 4, donde se observan reportes de casos en Países y territorios donde se notificaron casos de Chikungunya en ese año 2018⁵⁵.

Figura 4. Países y territorios donde se han notificado casos de Chikungunya en el 2018



Fuente: CDC – Centers of Disease Control and Prevention. Countries and territories where chikungunya cases have been reported. [en línea]. 2018. (citado en 15 junio 2019). Disponible en: https://www.cdc.gov/chikungunya/pdfs/Chik_World_Map_05-29-18-P.pdf

3.3 PATOGENIA DEL VIRUS CHIKUNGUNYA

3.3.1 Fase aguda: Fase temprana de la enfermedad. Después de la exposición al virus Chikungunya hasta el 95% de las personas infectadas desarrollan síntomas agudos de 2 a 6 días después una picadura de mosquito infectante. Después de esta incubación, los síntomas comienzan abruptamente con fiebre alta,

⁵⁵ CDC – Centers of Disease Control and Prevention. Countries and territories where chikungunya cases have been reported. [en línea]. 2018. (citado en 15 junio 2019). Disponible en: https://www.cdc.gov/chikungunya/pdfs/Chik_World_Map_05-29-18-P.pdf

poliarthralgia, mialgia, erupción (a menudo maculopapular), dolor de cabeza y dolor de espalda^{56,57}.

La infección por Chikungunya puede ser similar a la infección viral por dengue u otros arbovirus. Ya que estas enfermedades presentan fiebre y mialgia y se transmiten por el mismo vector de mosquito. En general, las artraltrias son más prominentes en chikungunya y por el contrario las hemorragias, cuando están presentes, es más una característica de la infección viral por dengue⁵⁸. Otros síntomas agudos de Chikungunya incluyen fatiga intensa, anorexia, náuseas, vómitos y diarrea⁵⁹. La viremia dura de 5 a 10 días y puede ser seguido de una fase postviremica o subaguda de 6-21 días con pirexia, poliartrosis / artritis, linfadenopatía, fatiga y anorexia. Las artraltrias son a menudo simétricas, afectando tobillos, muñecas, manos, codos, hombros, rodillas y pies. Dentro de las articulaciones atípicas se incluye la columna vertebral, la región temporo-mandibular, o articulaciones esternoclaviculares^{60,61,62}.

3.3.2 Fase de cronicidad: Compromiso articular crónico. La característica definitoria de la mayoría de las artritis alfavirales es la poliartrosis crónica y episódica, a menudo debilitante, y / o poliartrosis, que a menudo se asocia con la fatiga.

⁵⁶ NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. Annual review of virology, 2017, vol. 4, p. 413-427.

⁵⁷ ALLA, Sanae Ali Ou; COMBE, Bernard. Arthritis after infection with Chikungunya virus. Best Practice & Research Clinical Rheumatology, 2011, vol. 25, no 3, p. 337-346.

⁵⁸ SUTARIA, Ravi B.; AMARAL, Jose K.; SCHOEN, Robert T. Emergence and treatment of chikungunya arthritis. Current opinion in rheumatology, 2018, vol. 30, no 3, p. 256-263.

⁵⁹ GASQUE, Philippe, et al. Chikungunya virus pathogenesis and immunity. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 2015, vol. 15, no 4, p. 241-249.

⁶⁰ ALLA, Op. cit.

⁶¹ TANAY, Amir. Chikungunya virus and autoimmunity. Current opinion in rheumatology, 2017, vol. 29, no 4, p. 389-393.

⁶² ALLA, Op. cit.

La enfermedad prolongada, principalmente artralgia, está bien documentada para el virus Sindbis, la enfermedad del virus Ross River y Chikungunya. Por ejemplo, la enfermedad artrósica por Chikungunya permanece sin resolverse después de 6 meses a 3 años en el 5 a 7% de los pacientes. Y en los estudios realizados en fase de cronicidad se evidencia la presencia de individuos con condiciones tales como osteoartritis o artritis autoinmunes en cohortes de pacientes con enfermedad por Chikungunya⁶³.

Durante la fase crónica los signos y síntomas son similares a la Artritis reumatoide excepto por el componente autoinmune que no ha sido asociado frente a los pocos estudios con Chikungunya lo que indica que la artritis posterior a Chikungunya es un tipo diferente de afección inflamatoria crónica. Por lo tanto, es importante destacar que Chikungunya produce una lesión artrítica importante en pacientes mayores de 60 años, lo que contribuye a la artritis incapacitante crónica descrita en otras enfermedades por alfavirus en Australia, América del Sur y el norte de Europa. Además, algunos pacientes desarrollan una enfermedad similar a la artritis reumatoide y otros manifiestan artritis erosiva progresiva. No obstante, la falta actual de modelos animales relevantes para estudiar la cronicidad inducida por Chikungunya limita la comprensión de estos eventos raros, y el desarrollo de tales modelos es un área de considerable interés⁶⁴.

3.3.3 Complicaciones de la infección por Chikungunya. Aunque solo aproximadamente el 15% de los casos son asintomáticos, la infección con CHIKV sigue siendo una enfermedad incapacitante no mortal. A pesar de que menos del 10% de los pacientes retienen los síntomas de las articulaciones residuales tres años después de la infección, son síntomas incapacitantes y que afectan la calidad

⁶³ SUHRBIER, Andreas; JAFFAR-BANDJEE, Marie-Christine; GASQUE, Philippe. Arthritogenic alphaviruses—an overview. *Nature Reviews Rheumatology*, 2012, vol. 8, no 7, p. 420.

⁶⁴ NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. *Annual review of virology*, 2017, vol. 4, p. 413-427.

de vida⁶⁵. Siendo síntomas que imitan la artritis reumatoide (AR) con casos que muestran erosiones óseas. Las manifestaciones reumáticas en hasta 50% de los pacientes son adultos (6 meses a 1 año después de la enfermedad) por lo general consisten en artritis que afecta las extremidades (tobillos, muñecas y falanges). Sin embargo, las formas graves de enfermedad, incluida la muerte, aunque son raras, a menudo se asocian con comorbilidades. Estas manifestaciones se reportaron en el brote de las islas del océano Índico en 2005-2006 y el brote de islas caribeñas en 2013-2015⁶⁶.

Cabe resaltar que después de los brotes de Chikungunya en La isla Reunión y la India durante 2005-2006 se informaron aumento de incidencias de complicaciones neurológicas y letalidad asociada a la infección. En adultos, las complicaciones neurológicas requirieron hospitalización (incidencia del 15-25%) fueron presentados como encefalopatía, encefalitis, Guillian- Síndrome de Barre y encefalomielodicitis. En niños, las manifestaciones neurológicas ocurrieron a una tasa de incidencia del 61% en niños de 3 a 18 años, pero solo el 16% en niños menores de 3 años. Sin embargo, los signos neurológicos fueron menos severos en los niños, y estos incluyen encefalitis, convulsiones febriles, síndrome meníngeo y encefalopatía aguda. Las observaciones sugieren fuertemente que la edad es un importante factor de predisposición que podría afectar en la patogenia neurológica de Infección por Chikungunya. Sin embargo, los mecanismos que conducen a estas complicaciones permanecen en gran parte desconocidas^{67,68}.

⁶⁵ BOUQUILLARD, Éric; COMBE, Bernard. A report of 21 cases of rheumatoid arthritis following Chikungunya fever. A mean follow-up of two years. *Joint Bone Spine*, 2009, vol. 76, no 6, p. 654-657.

⁶⁶ NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. *Annual review of virology*, 2017, vol. 4, p. 413-427.

⁶⁷ TEO, Teck-Hui, et al. Mouse models for Chikungunya virus: deciphering immune mechanisms responsible for disease and pathology. *Immunologic research*, 2012, vol. 53, no 1-3, p. 136-147.

⁶⁸ GOUPIL, Brad A., et al. Novel lesions of bones and joints associated with chikungunya virus infection in two mouse models of disease: new insights into disease pathogenesis. *PloS one*, 2016, vol. 11, no 5.

3.4 RESPUESTA INFLAMATORIA FRENTE A LA INFECCION POR EL VIRUS CHIKUNGUNYA

La mayoría de los pacientes infectados presentan manifestaciones agudas, subagudas y crónicas, aunque del 3 al 15% cursan asintomáticos. Durante la incubación un periodo silencioso (2 a 4 días), interviene el sistema inmunitario innato, y tiempo después la respuesta inmunitaria específica en la mayoría de los casos logra un barrido inicial del virus^{69,70}. Durante la respuesta inflamatoria inicial, el INF- 1 β , al unirse a su receptor de superficie celular, produce la activación de tirosinquinazas, que conducen a la producción de varias enzimas inhibitoras de la replicación del virus en las células infectadas, que han escapado a la acción de las células asesinas naturales (NK)⁷¹.

El ácido nucleico viral induce la secreción de interferón 1 β que, al unirse a su receptor de superficie celular, libera enzimas que frenan la síntesis proteica, inhiben la transducción del ARN viral y degradan de esta manera el ARN mensajero viral^{72,73,74}.

La producción del INF- α es mediada por linfocitos T activados por antígenos que le son presentados; este interferón actúa sobre células NK, macrófagos, linfocitos T y B, modificando la producción de anticuerpos. Posteriormente, se desarrolla la

⁶⁹ SCHAIBLE, Hans George, et al. The role of proinflammatory cytokines in the generation and maintenance of joint pain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, vol. 1193, no 1, p. 60-69.

⁷⁰ CHAAITHANYA, Itta Krishna, et al. Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. *Viral immunology*, 2011, vol. 24, no 4, p. 265-271.

⁷¹ JALLER RAAD, Juan, et al. Immunological response of a population from the Caribbean region of Colombia infected with the chikungunya virus. *Revista Colombiana de Reumatología*, 2016, vol. 23, no 2, p. 85-91.

⁷² SCHAIBLE, Op. cit.

⁷³ CHAAITHANYA, Op. cit.

⁷⁴ JALLER RAAD, Op. cit.

respuesta inmunitaria específica, con liberación de citoquinas, que atraen leucocitos al sitio de la replicación viral^{75,76}.

Por su parte, la inmunidad celular está mediada por linfocitos T citotóxicos (CTL CD8 +), encargados de neutralizar y destruir las células infectadas, mediante la liberación de enzimas, previa unión del receptor de membrana T CD8 +, con el complejo mayor de histocompatibilidad I (HLA I) en la superficie de células infectadas. La respuesta linfocitaria T CD4 + (LTh), se basa en la liberación de interleucinas (IL) específicas. Las células Th1 producen: IL2, interferón gamma (INF- γ), factor de necrosis tumoral (TNF- α), con características proinflamatorias. Las células Th2, secretan IL4, IL5, IL6 e IL10 y promueven la producción de anticuerpos mediada por los linfocitos B. Durante la fase aguda de la infección por el CHIKV, hay elevación del interferón alfa (INF- α 2), mediada por la IL-1, IL-2 y TNF- α .^{77,78}

El IFN- α es producido por linfocitos T, linfocitos B, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, células NK y osteoblastos, entre otros, sus efectos antivirales incluyen la inhibición de la replicación viral, la activación de macrófagos y células NK. Los efectos del IFN- α son potenciados por el INF- γ , una vez es secretado por las células Th1 activadas. Los síntomas como el dolor muscular y la fiebre están relacionados con la producción de interferones^{79,80}.

⁷⁵ SIMARMATA, Diane, et al. Early clearance of Chikungunya virus in children is associated with a strong innate immune response. *Scientific reports*, 2016, vol. 6, no 1, p. 1-8.

⁷⁶ DUPUIS-MAGUIRAGA, Laurence, et al. Chikungunya disease: infection-associated markers from the acute to the chronic phase of arbovirus-induced arthralgia. *PLoS neglected tropical diseases*, 2012, vol. 6, no 3.

⁷⁷ RYMAN, Kate D.; KLIMSTRA, William B. Closing the gap between viral and noninfectious arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, vol. 111, no 16, p. 5767-5768.

⁷⁸ DUPUIS-MAGUIRAGA, Laurence, et al. Chikungunya disease: infection-associated markers from the acute to the chronic phase of arbovirus-induced arthralgia. *PLoS neglected tropical diseases*, 2012, vol. 6, no 3.

⁷⁹ NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. *Annual review of virology*, 2017, vol. 4, p. 413-427.

⁸⁰ KAM, Yiu-Wing, et al. Immuno-biology of Chikungunya and implications for disease intervention. *Microbes and infection*, 2009, vol. 11, no 14-15, p. 1186-1196.

Curiosamente, IL-6 y el factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos (GM-CSF) también se asocian con artralgia persistente⁸¹. Una revisión de la información existente en muestras sueros de pacientes proveniente de brotes en diferentes partes del mundo de Chikungunya demostró que las citocinas proinflamatorias, incluyendo IFN- α , IFN- β , IL-2, IL-2R, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15, IL-17 e IL-18; citoquinas antiinflamatorias tales como IL-1R α , IL-4 e IL-10; y quimiocinas como GM-CSF, IP-10, MCP-1, monokine inducida por IFN- γ (MIG), proteína inflamatoria de macrófagos (MIP) -1 α , MIP-1 β y factor de crecimiento de fibroblastos básico (FGF) forman un patrón agudo de Chikungunya en todas las cohortes de pacientes de todo el mundo. Los diversos biomarcadores son consistentes con una función importante para los mediadores inmunes en la patogénesis de la infección por Chikungunya^{82,83,84}.

Ryman y cols. propone el modelo que se muestra en la figura 5 para el desarrollo de la artritis alphaviral. Donde el periostio sintetizador de hueso infectado por virus las células Osteoblastos en la articulación secretan IL-6, IL-1 β y CCL-2 (MCP-1). Los monocitos se reclutan desde la membrana sinovial a los sitios infectados por gradientes quimioattractivos (por ejemplo, MCP-1, IL-8). Un aumento en la proporción de producción RANKL a OPG por los Osteoblastos infectados diferencia monocitos reclutados en Células Osteoclastos, lo que lleva a la erosión ósea y la artritis⁸⁵.

⁸¹ RODRIGUEZ-MORALES, Alfonso J., et al. Would be IL-6 a missing link between chronic inflammatory rheumatism and depression after chikungunya infection?. *Rheumatology international*, 2017, vol. 37, no 7, p. 1149-1151.

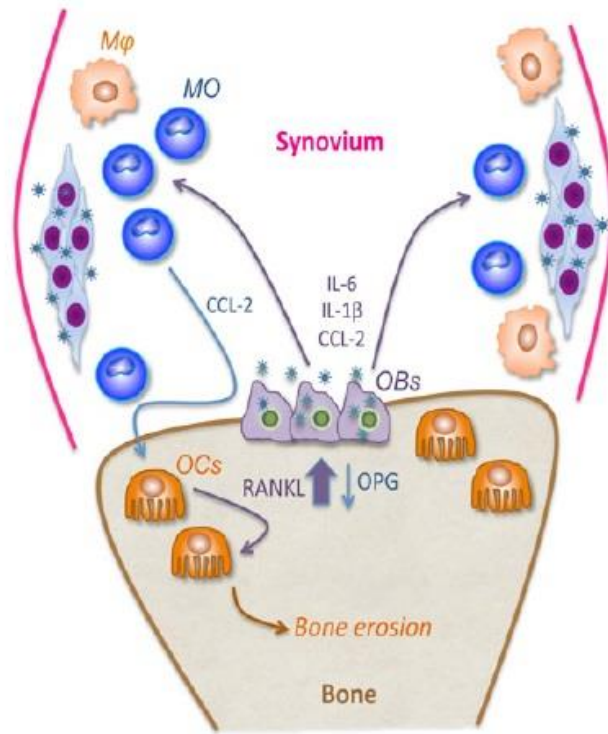
⁸² NG, Lisa FP, et al. IL-1 β , IL-6, and RANTES as biomarkers of Chikungunya severity. *PloS one*, 2009, vol. 4, no 1.

⁸³ CHIRATHAWORN, Chintana, et al. Cytokine levels in patients with chikungunya virus infection. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 2013, vol. 6, no 8, p. 631-634.

⁸⁴ REDDY, Vijayalakshmi, et al. Correlation of plasma viral loads and presence of Chikungunya IgM antibodies with cytokine/chemokine levels during acute Chikungunya virus infection. *Journal of medical virology*, 2014, vol. 86, no 8, p. 1393-1401.

⁸⁵ RYMAN, Kate D.; KLIMSTRA, William B. Closing the gap between viral and noninfectious arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, vol. 111, no 16, p. 5767-5768.

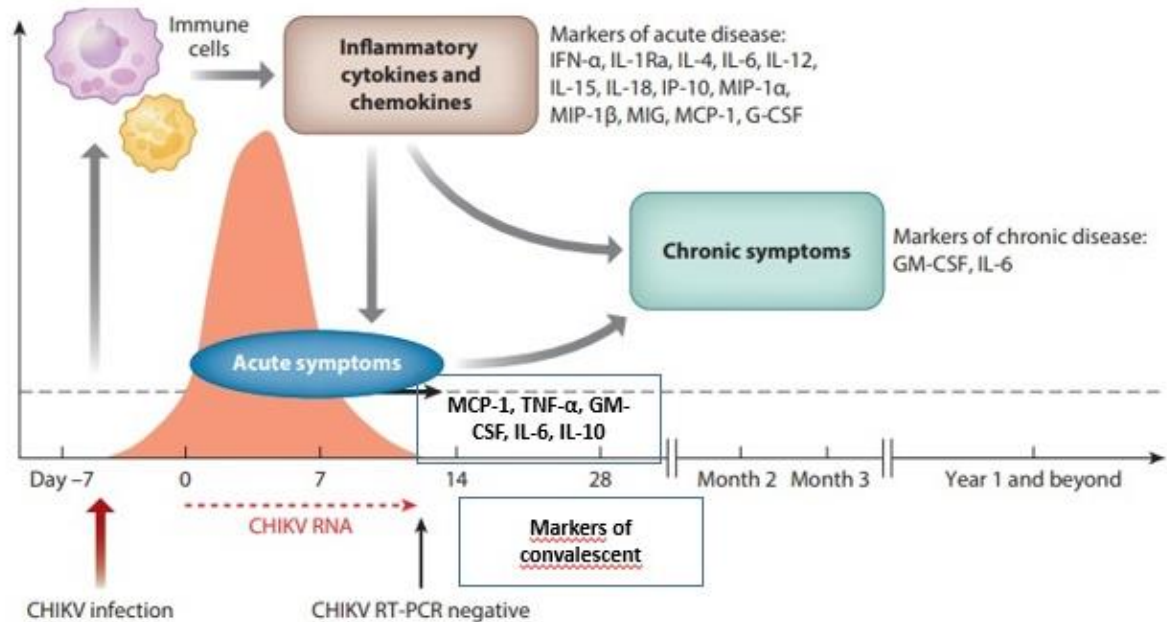
Figura 5. Modelo del desarrollo de la artritis alfaviral



Fuente: RYMAN, Kate D.; KLIMSTRA, William B. Closing the gap between viral and noninfectious arthritis. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2014, vol. 111, no 16, p. 5767-5768.

En resumen, Lisa NG en el 2017 frente a una revisión, presenta en la línea del tiempo de la enfermedad cuales citoquinas y en qué momento de la enfermedad se presentan y manifiestan estas citoquinas, convirtiéndose en biomarcadores de cada fase aguda o crónica. Este modelo es ligeramente modificado ya que dentro de la revisión realizada y apoyando los datos obtenidos por la autora se han identificado algunos otros biomarcadores que son patrón en estudios en fase convaleciente frente a los resultados de las diversas cohortes en humanos en las epidemias presentadas a lo largo de la historia de las epidemias del Chikungunya. (Ver figura 6)

Figura 6 Patrones inmunes de la infección e inflamación del virus chikungunya (CHIKV).



Fuente: NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. Annual review of virology, 2017, vol. 4, p. 413-427.

3.5 CITOQUINAS SELECCIONADAS PARA EL ANALISIS

Pocos estudios han informado sobre el papel de las citoquinas y las quimiocinas en el proceso inflamatorio del compromiso articular crónico posterior a la infección por Chikungunya en muestras humanas, y a pesar de sus importantes hallazgos, los resultados no han permitido aun la selección de aquellas candidatas para mejorar el pronóstico de la fase crónica. Esto probablemente debido a la heterogeneidad de estas citoquinas y quimiocinas en diferentes poblaciones de estudio, los tamaños de muestra pequeños y la falta de validación^{86,87}.

⁸⁶ CHAITHANYA, Itta Krishna, et al. Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. *Viral immunology*, 2011, vol. 24, no 4, p. 265-271.

⁸⁷ WAUQUIER, Nadia, et al. The acute phase of Chikungunya virus infection in humans is associated with strong innate immunity and T CD8 cell activation. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 204, no 1, p. 115-123.

Frente a la evidencia proporcionada por los estudios en diferentes poblaciones se puede afirmar que el compromiso articular crónico está fuertemente asociado con la respuesta inflamatoria desencadenada durante la fase aguda y su no retorno a niveles basales, comportándose no solo como los principales mediadores de la inflamación y destrucción articular, sino también como una causa de la enfermedad en su estado crónico, contribuyendo significativamente a la generación y el mantenimiento del dolor^{88,89,90}.

Las citoquinas INF- α 2, IL-6, MCP-1, IL-8, GM-CSF e IL-10 son aquellas que frente a la revisión realizada presentan un patrón en la fase crónica de la enfermedad. A pesar de que los resultados obtenidos en los estudios de cohorte provenientes de las diversas epidemias de Chikungunya no coinciden en su totalidad ya que estudios en fase crónica de pacientes con compromiso articular crónico posterior a una infección por chikungunya solo se reportaron dos Chaaithanya y cols. 2011 y Hoarau y cols. 2010. Donde permiten observar la comparación entre los dos tipos de pacientes, los recuperados y los que pasaron a una fase crónica. Y teniendo en cuenta el tipo de población de la Isla Reunión en Francia e India, poblaciones muy diferentes a la colombiana y con tamaños de muestras pequeños^{91,92,93,94}.

⁸⁸ JALLER RAAD, Juan, et al. Immunological response of a population from the Caribbean region of Colombia infected with the chikungunya virus. *Revista Colombiana de Reumatología*, 2016, vol. 23, no 2, p. 85-91.

⁸⁹ CHIRATHAWORN, Chintana, et al. Cytokine levels in patients with chikungunya virus infection. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 2013, vol. 6, no 8, p. 631-634.

⁹⁰ REDDY, Vijayalakshmi, et al. Correlation of plasma viral loads and presence of Chikungunya IgM antibodies with cytokine/chemokine levels during acute Chikungunya virus infection. *Journal of medical virology*, 2014, vol. 86, no 8, p. 1393-1401.

⁹¹ NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. *Annual review of virology*, 2017, vol. 4, p. 413-427.

⁹² OMS. Organización Mundial de la Salud. Chikungunya. [en línea]. 2017. (citado en 12 noviembre 2019). Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>.

⁹³ COUDERC, Thérèse, et al. A mouse model for Chikungunya: young age and inefficient type-I interferon signaling are risk factors for severe disease. *PLoS pathogens*, 2008, vol. 4, no 2.

⁹⁴ CHAAITHANYA, Itta Krishna, et al. Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. *Viral immunology*, 2011, vol. 24, no 4, p. 265-271.

3.5.1 IL-6. La citoquina IL-6 juega un papel importante en la artritis. Su concentración es elevada en el suero y el líquido sinovial de pacientes con artritis, el nivel se correlaciona con la actividad de la enfermedad y la destrucción conjunta del tejido óseo⁹⁵. Los efectos neuronales de IL-6 son probables porque la mayoría de las neuronas DRG expresan a través de la membrana la subunidad transductora de señales gp130 a la cual el complejo de IL-6 y su receptor IL-6R se une. La concentración de IL-6R soluble también se eleva en el tejido sinovial en Artritis reumatoide (AR) y se correlaciona con el grado de infiltración de leucocitos^{96,97,98}.

La IL-6 puede promover la sinovitis y la destrucción articular al estimular la migración de neutrófilos, la maduración de los osteoclastos y la proliferación del pannus estimulada por el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)^{99,100}. La IL-6 también puede estar mediando en muchas de las manifestaciones sistemáticas de la AR, incluida la inducción de la proteína c reactiva en la fase aguda y osteoporosis por su efecto sobre los osteoclastos. Además, IL-6 puede contribuir a la inducción y mantenimiento del proceso autoinmune a través de la maduración de células B y la diferenciación Th17 en AR^{101,102}.

⁹⁵ SRIRANGAN, Srinivasan; CHOY, Ernest H. The role of interleukin 6 in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease*, 2010, vol. 2, no 5, p. 247-256.

⁹⁶ CHOW, Angela, et al. Persistent arthralgia induced by Chikungunya virus infection is associated with interleukin-6 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 203, no 2, p. 149-157.

⁹⁷ CHIRATHAWORN, Chintana, et al. Cytokine levels in patients with chikungunya virus infection. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 2013, vol. 6, no 8, p. 631-634.

⁹⁸ SCHAIBLE, Hans George, et al. The role of proinflammatory cytokines in the generation and maintenance of joint pain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, vol. 1193, no 1, p. 60-69.

⁹⁹ SRIRANGAN, Op. cit.

¹⁰⁰ SÁNCHEZ-RAMÓN, Silvia; LÓPEZ-LONGO, Francisco Javier; CARRENO, Luis. Interleucinas en la fisiopatología de la artritis reumatoide: más allá de las citocinas proinflamatorias. *Reumatología Clínica*, 2011, vol. 6, p. 20-24.

¹⁰¹ CHEN, Zhi; O'SHEA, John J. Th17 cells: a new fate for differentiating helper T cells. *Immunologic research*, 2008, vol. 41, no 2, p. 87-102.

¹⁰² KAM, Yiu-Wing, et al. Immuno-biology of Chikungunya and implications for disease intervention. *Microbes and infection*, 2009, vol. 11, no 14-15, p. 1186-1196.

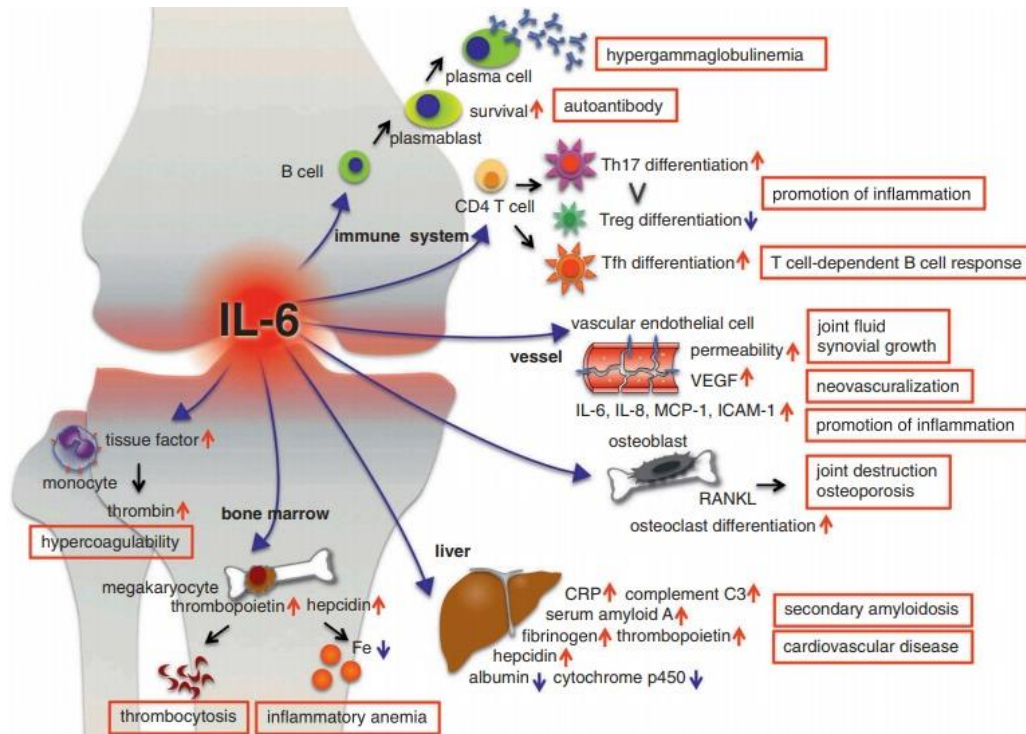
Narazaki y cols. propone el modelo del rol de la IL-6 frente a la Artritis reumatoide. A pesar de que el compromiso articular crónico posterior a una infección por Chikungunya no está asociado a un componente autoinmune, si está claro que pueden o comparten citoquinas patrón en sus procesos inflamatorios, que podrían estar desempeñando funciones similares en la destrucción del hueso y en el mantenimiento del dolor. Podría ser el caso de la IL-6.

Nazaki y cols. en la figura 7 muestra como posiblemente las diversas funciones de IL-6 en la patogénesis de la Artritis reumatoide y asociándola con los síntomas y complicaciones observados en pacientes, es así como se crea el modelo que no del todo aplicaría para pacientes con previa infección por Chikungunya, pero es lo que más se acerca ya que no se cuenta por ahora con un modelo propuesto para compromiso articular crónico por Chikungunya. La IL-6 podría estar involucrada al igual que en la AR, en el estímulo de células inflamatorias, llamado a los Linfocitos a diferenciarse y desregulación celular y producción excesiva de los niveles de citoquinas:

- En las células inmunes, la IL-6 promueve la diferenciación de células B en células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas y apoya la supervivencia de las células B plasmáticas. Las células plasmáticas y los plasmablastos producen anticuerpo anti-citrullinados.
- IL-6 promueve también la diferenciación de células T CD4 + vírgenes en Th17 y suprime su diferenciación en células Treg, lo que modifica el equilibrio Th17 / Treg, hacia el dominio de Th17 y promover la inflamación. IL-6 también actúa sobre las células endoteliales vasculares para promover la filtración vascular directa o indirectamente por medio de la inducción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), que conduce a la acumulación de líquido sinovial, hinchazón de las articulaciones y crecimiento sinovial.
- IL-6 estimula osteoblastos y sinoviocitos para producir un activador de receptor del factor nuclear (NF) - ligando B (RANKL), que activa los osteoclastos y

produce osteoporosis y destrucción articular. En cuanto a los síntomas sistémicos.

Figura 7. Diversas funciones de IL-6 en la patogénesis de la AR



Fuente: NARAZAKI, Masashi; TANAKA, Toshio; KISHIMOTO, Tadamitsu. The role and therapeutic targeting of IL-6 in rheumatoid arthritis. Expert review of clinical immunology, 2017, vol. 13, no 6, p. 535-551.

- IL-6 induce rápidamente producción de las proteínas de fase aguda; Proteína C-reactiva (CRP), amiloide A sérico, complemento C3, fibrinógeno, hepcidina y trombopoyetina, pero reduce la albúmina y citocromo p450. El alto nivel persistente de amiloide A sérico da como resultado amiloidosis secundaria.
- IL-6 induce hepcidina en el hígado, lo que lleva a anemia inflamatoria.
- IL-6 también promueve la maduración de los megacariocitos e induce la trombopoyetina, que a su vez promueve la expansión del progenitor megacariocítico y la producción de plaquetas. Los niveles elevados de

fibrinógeno y trombocitosis se asocian con riesgo de enfermedad cardiovascular¹⁰³.

Esta posible asociación se puede comprobar mediante los resultados en muestras de suero de pacientes con artritis crónica, provenientes de infección por Chikungunya. Chaaithanya y cols¹⁰⁴. y Hoarau y cols. en sus estudios, evaluaron IL-6 en pacientes recuperados y en fase crónica de Chikungunya, encontrando niveles elevados en los pacientes en fase crónica y disminuidos en la fase de recuperación.

Con niveles basales para los controles de 0.06 pg/ml en suero y pacientes recuperados con niveles de 0,01 y en fase crónica de 63.5 pg/ ml. En el estudio de Hoarau y cols. los niveles para pacientes recuperados fueron de 1.5 pg/ml y los pacientes crónicos de 57.9 pg/ml. Por lo cual los autores establecen que podría existir alguna asociación entre los niveles de IL-6 en el proceso inflamatorio de la Fase crónica de Chikungunya por su clara participación y acción como un potente biomarcador de AR^{105,106}.

3.5.2 INF- α 2. El sistema de interferón (IFN) es una respuesta antiviral extremadamente poderosa que es capaz de controlar la mayoría de las infecciones de virus, si no todas, en ausencia de inmunidad adaptativa¹⁰⁷.

¹⁰³ NARAZAKI, Masashi; TANAKA, Toshio; KISHIMOTO, Tadimitsu. The role and therapeutic targeting of IL-6 in rheumatoid arthritis. Expert review of clinical immunology, 2017, vol. 13, no 6, p. 535-551.

¹⁰⁴ CHAAITHANYA, Itta Krishna, et al. Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. Viral immunology, 2011, vol. 24, no 4, p. 265-271.

¹⁰⁵ HOARAU, Jean-Jacques, et al. Persistent chronic inflammation and infection by Chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response. The Journal of Immunology, 2010, vol. 184, no 10, p. 5914-5927.

¹⁰⁶ CHAAITHANYA, Op. cit.

¹⁰⁷ KAM, Yiu-Wing, et al. Immuno-biology of Chikungunya and implications for disease intervention. Microbes and infection, 2009, vol. 11, no 14-15, p. 1186-1196.

Está clara la dificultad asociada con el uso de modelos de ratón, ya que es difícil garantizar que imiten con precisión la enfermedad en humanos. Sin embargo, proveen una luz de la relación patógeno hospedero¹⁰⁸. Es lo sucedido con los modelos de ratón que se han hecho frente a la importancia y rol del INF-tipo I frente a la respuesta inmunitaria que el hospedero desencadena en una infección viral, más exactamente contra el virus Chikungunya. Couderc y cols. y Shilte y cols., desarrollaron modelos de ratón y celular frente a la acción del INF-I con la infección en Chikungunya¹⁰⁹.

Ambos obtuvieron resultados similares en modelos distintos, Couderc y cols. demuestra que en los ratones con bloqueo parcial o total de los genes que expresan INF-I eran aquellos ratones quienes desarrollaban la enfermedad crónica de una manera leve o severa, incluso podía afectar el sistema nervioso central¹¹⁰.

Por otro lado, Shilte y cols. en su estudio definió el papel esencial para el IFN de tipo I, producido mediante la cooperación entre múltiples sensores del hospedador y su acción directa sobre células infectadas no hematopoyéticas, en el control de Chikungunya. En el mismo estudio ellos evaluaron los niveles de INF- α 2 en muestras de suero de pacientes comparándolos con la carga viral, obteniendo los siguientes resultados. En los pacientes no infectados, la media de los niveles basales fue de 179 pg/ml mientras que a mayor carga viral la media de los niveles del INF- α 2 estuvo entre 150 y 1000 pg/ml¹¹¹.

INF-I está asociado en su papel principalmente en la fase aguda de la enfermedad, es por esto que frente a la viremia de Chikungunya en fase aguda esta dura entre 2

¹⁰⁸ TEO, Teck-Hui, et al. Mouse models for Chikungunya virus: deciphering immune mechanisms responsible for disease and pathology. *Immunologic research*, 2012, vol. 53, no 1-3, p. 136-147.

¹⁰⁹ SCHILTE, Clémentine, et al. Type I IFN controls chikungunya virus via its action on nonhematopoietic cells. *Journal of Experimental Medicine*, 2010, vol. 207, no 2, p. 429-442.

¹¹⁰ COUDERC, Thérèse, et al. A mouse model for Chikungunya: young age and inefficient type-I interferon signaling are risk factors for severe disease. *PLoS pathogens*, 2008, vol. 4, no 2.

¹¹¹ SCHILTE, Op. cit.

y 10 días, la eliminación del virus ocurre antes de que el huésped pueda comenzar a producir IgG y respuestas de células T. Esto podría deberse principalmente a la fuerte respuesta de IFN- α / β inducida por el virus, y este es muy sensible a la acción del interferón tipo I. Estudios previos han demostrado que se pueden detectar altos niveles de IFN- α durante la fase aguda de la infección por CHIKV en humanos, y después de la eliminación del virus de la sangre, los niveles de IFN- α vuelven a la normalidad¹¹².

Wauquier y cols. en su estudio de 69 muestras de pacientes con chikungunya en fase aguda un panel de 50 citoquinas, donde evaluaba la asociación entre la fuerte respuesta inmunitaria innata con la infección del virus Chikungunya. En sus resultados encontró evidentemente la respuesta durante los primeros 7 días de la enfermedad (fase de viremia) los niveles elevados de INF- α 2 con una media de 500pg/ml en la fase aguda comparándola con los controles sanos de 200 pg/ml. Permite relacionar la respuesta de INF-I como mediadores importantes de la respuesta inmediata a las infecciones virales y la resolución de la enfermedad o aclaramiento del virus¹¹³.

3.5.3 MCP-1. En la respuesta inflamatoria característica en la infección por Chikungunya, destaca la presencia y actuación de los monocitos. La migración de monocitos ha sido identificada que esta mediada por la proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1 / CCL2) la cual es esencial para la vigilancia inmunológica de los tejidos. Sin embargo, durante la infección por el virus chikungunya, la producción excesiva de MCP-1 se ha relacionado con la patogénesis de la enfermedad. Niveles elevados en suero de MCP-1 se detectan durante la fase de viremia de la infección

¹¹² KAM, Yiu-Wing, et al. Immuno-biology of Chikungunya and implications for disease intervention. *Microbes and infection*, 2009, vol. 11, no 14-15, p. 1186-1196.

¹¹³ WAUQUIER, Nadia, et al. The acute phase of Chikungunya virus infection in humans is associated with strong innate immunity and T CD8 cell activation. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 204, no 1, p. 115-123.

correlacionándola con el título del virus y también ha sido encontrada en niveles elevados durante la fase crónica^{114,115}.

También se ha demostrado que la infección por Chikungunya in vitro estimula la producción de MCP-1 en sangre total. Ruiz Silva y cols. encontró que la infección activa de chikungunya estimula la producción de MCP-1 en monocitos. Como también detectó que la comunicación de los monocitos con otros leucocitos es crucial para producir MCP-1 tras la infección por Chikungunya. Ellos proponen un modelo de upregulation MCP-1 sobre la infección por virus chikungunya en PBMC humanas. En la Figura 8 en el paso 1 La infección por Chikungunya de los monocitos desencadena el paso 2 que es la producción de IFN β . En el paso 3 Otros leucocitos son estimulados por IFN β y producen en el paso 4 uno o una combinación de factores solubles que estimulan la expresión de MCP-1 en monocitos¹¹⁶. Esas citoquinas que aparecen como interrogantes en el paso 4 podrían ser IL-6, IL-1 β , TNF- α , IL-10 participando de la activación de monocitos para la producción de MCP-1 de acuerdo a lo encontrado en otros estudios^{117,118,119,120,121}.

¹¹⁴ CHAAITHANYA, Itta Krishna, et al. Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. *Viral immunology*, 2011, vol. 24, no 4, p. 265-271.

¹¹⁵ 55

¹¹⁶ SILVA, Mariana Ruiz, et al. Mechanism and role of MCP-1 upregulation upon chikungunya virus infection in human peripheral blood mononuclear cells. *Scientific reports*, 2016, vol. 6, p. 32288.

¹¹⁷ JALLER RAAD, Juan, et al. Immunological response of a population from the Caribbean region of Colombia infected with the chikungunya virus. *Revista Colombiana de Reumatología*, 2016, vol. 23, no 2, p. 85-91.

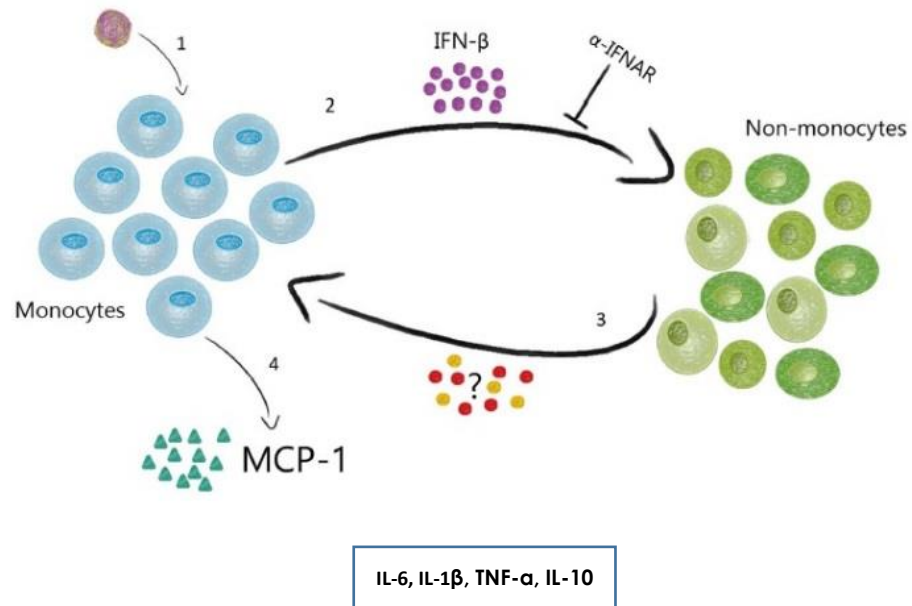
¹¹⁸ REDDY, Vijayalakshmi, et al. Correlation of plasma viral loads and presence of Chikungunya IgM antibodies with cytokine/chemokine levels during acute Chikungunya virus infection. *Journal of medical virology*, 2014, vol. 86, no 8, p. 1393-1401.

¹¹⁹ NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. *Annual review of virology*, 2017, vol. 4, p. 413-427.

¹²⁰ OMS. Organización Mundial de la Salud. Chikungunya. [en línea]. 2017. (citado en 12 noviembre 2019). Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>.

¹²¹ COUDERC, Thérèse, et al. A mouse model for Chikungunya: young age and inefficient type-I interferon signaling are risk factors for severe disease. *PLoS pathogens*, 2008, vol. 4, no 2.

Figura 8. Modelo de upregulation de la MCP-1 sobre la infección por virus chikungunya en PBMC humanas.



Fuente: SILVA, Mariana Ruiz, et al. Mechanism and role of MCP-1 upregulation upon chikungunya virus infection in human peripheral blood mononuclear cells. *Scientific reports*, 2016, vol. 6, p. 32288.

Por otro lado, en la búsqueda del tratamiento de la artritis por Chikungunya se ha establecido que el ligando 2 de la quimioquina (CCL2-MCP-1) es importante en el reclutamiento celular y en la inducción de la formación de osteoclastos que resorben los huesos. En estudios han mostrado que el Chikungunya se replica en el hueso y desencadena la pérdida ósea al aumentar la relación RANKL / OPG. La infección por Chikungunya da como resultado una infiltración celular inducida por MCP-1 en las articulaciones inflamadas, y la pérdida ósea puede mejorarse mediante la inhibición de MCP-1¹²².

En estudios en sueros de pacientes con infección por Chikungunya tanto en fase aguda como en Fase crónica de la enfermedad han encontrado niveles elevados de

¹²² CHEN, Weiqiang, et al. Bindarit, an inhibitor of monocyte chemotactic protein synthesis, protects against bone loss induced by chikungunya virus infection. *Journal of virology*, 2015, vol. 89, no 1, p. 581-593.

MCP-1, esto probablemente por su función de quimioquina y factor estimulante a la producción de monocitos y su especialización en macrófagos y en el sitio de la inflamación los llama a que se acumulen y estos se transformen en presencia de la IL-6 en osteoclastos ocasionando el desbalance de RANL/OPG llevando a la resorción del hueso. Chaaithanya y cols. en su estudio encontró niveles elevados de MCP-1 en pacientes crónicos con una media de 2539,8 pg/ml frente a unos niveles de pacientes recuperados de 238.9 pg/ml¹²³. Chirathaworn y cols. por otra parte demuestra que MCP-1 también hace parte de la fase aguda con una media de 490 pg/ml y encontrando en pacientes crónicos sin dolor articular en niveles de 78.07 pg/ml¹²⁴. Simarmata y cols. en su estudio comparativo entre niños y adultos también evidencio la presencia de niveles elevados en ambas población frente a la fase aguda de la enfermedad¹²⁵.

Reddy en el estudio desarrollado en el 2014 propone en sus hallazgos la participación de la MCP-1 en el reclutamiento y activación de macrófagos, por otro lado, Lidbury y cols. en el 2008 relaciona en la patogénesis de otras infecciones alfa virales artritogénicas como el virus del río Ross la participación activa y correlación de los niveles de MCP-1. Así mismo Rantapa y cols. en el 2007, y Kokkonen y cols. en el 2010 afirman en sus investigaciones que los niveles elevados de MCP-1 en plasma en sujetos con artritis reumatoide seropositiva asintomática preclínica podrían servir como posibles candidatos para biomarcadores que predigan la progresión al estado de enfermedad en artritis persistente inducida por Chikungunya. Así como algunos autores atribuyen que a pesar de la ausencia de comparación con los niveles de MCP-1 en las muestras de seguimiento de pacientes que se recuperaron de la enfermedad de Chikungunya, otros estudios en modelos como el realizado bajo la prueba del medicamento Bindarit, este propone

¹²³ CHAAITHANYA, Itta Krishna, et al. Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. *Viral immunology*, 2011, vol. 24, no 4, p. 265-271.

¹²⁴ CHIRATHAWORN, Chintana, et al. Cytokine levels in patients with chikungunya virus infection. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 2013, vol. 6, no 8, p. 631-634.

¹²⁵ SIMARMATA, Diane, et al. Early clearance of Chikungunya virus in children is associated with a strong innate immune response. *Scientific reports*, 2016, vol. 6, no 1, p. 1-8.

que frente a los datos recolectados, frente a la inhibición de MCP-1 por el fármaco antiinflamatorio, esto condujo a la mejora de la inflamación en los músculos articulares y esqueléticos en el modelo de ratón infectado por el virus Chikungunya¹²⁶.

3.5.4 GM-CSF. Se ha sugerido el papel del GM-CSF puede jugar un papel fundamental en diversas enfermedades inflamatorias humanas, que incluyen artritis reumatoide, enfermedad renal inflamatoria y trastornos pulmonares inflamatorios. Por lo cual lo señalan como citoquina pro inflamatoria y un importante factor de crecimiento hematopoyético e inmunomodulador. GM-CSF también tiene profundos efectos sobre las actividades funcionales de varios leucocitos circulantes. Es producido por una variedad de tipos de células que incluyen células T, macrófagos, células endoteliales y fibroblastos al recibir estímulos inmunes^{127,128}.

Aunque el GM-CSF se produce localmente, puede actuar de forma paracrina para reclutar neutrófilos circulantes, monocitos y linfocitos para mejorar sus funciones en la defensa del huésped. Recientes investigaciones intensivas se centran en la aplicación de GM-CSF como un adyuvante inmune por su capacidad para aumentar la maduración y la función de las células dendríticas (DC), así como la actividad de los macrófagos¹²⁹.

Se usa clínicamente para tratar la neutropenia en pacientes con cáncer sometidos a quimioterapia, en pacientes con SIDA durante el tratamiento y en pacientes

¹²⁶ CHEN, Weiqiang, et al. Bindarit, an inhibitor of monocyte chemotactic protein synthesis, protects against bone loss induced by chikungunya virus infection. *Journal of virology*, 2015, vol. 89, no 1, p. 581-593.

¹²⁷ CHOW, Angela, et al. Persistent arthralgia induced by Chikungunya virus infection is associated with interleukin-6 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 203, no 2, p. 149-157.

¹²⁸ SHI, Yufang, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and T-cell responses: what we do and don't know. *Cell research*, 2006, vol. 16, no 2, p. 126-133.

¹²⁹ CHIRATHAWORN, Chintana, et al. Cytokine levels in patients with chikungunya virus infection. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 2013, vol. 6, no 8, p. 631-634.

después del trasplante de médula ósea. Curiosamente, el sistema hematopoyético de ratones deficientes en GM-CSF parece ser normal; los cambios más significativos están en algunas respuestas de células T específicas¹³⁰.

En estudios de muestras de suero de pacientes infectados por Chikungunya, Chow y cols. por ejemplo afirma que la alta carga viral y baja carga viral durante la fase aguda es definitiva para el desarrollo de ciertas citoquinas que perduran en el tiempo durante la enfermedad. Es así como el grupo de carga viral alta se caracterizó por una mayor producción de citocinas proinflamatorias, como INF- α e interleucina (IL)-6, durante la fase aguda. A medida que la enfermedad progresaba a la fase crónica, la IL-17 se volvió detectable. Sin embargo, la artralgia persistente se asoció con niveles más altos de IL-6 y GM-CSF, mientras que los pacientes que se recuperaron completamente sus niveles eran bajos casi normales¹³¹. Por otro lado Chirathaworn y cols. en su estudio de 14 sujetos en fase aguda y convaleciente encontró que los niveles de GM-CSF se encontraban en un rango de 5.00-1555 pg/ml en sujetos de fase aguda y niveles casi iguales en la fase convaleciente 5.00 – 1266 pg/ml¹³². Es así como los pocos estudios en humanos relacionan la participación importante de citoquinas pro inflamatorias, quimioquinas y factores estimulantes como claves para el desarrollo y mantenimiento de la enfermedad hasta su cronicidad.

3.5.5 IL-8. La interleucina-8 (IL-8) pertenece a una familia de citocinas pequeñas, estructuralmente relacionadas, similar al factor plaquetario. Es producida por fagocitos y células mesenquimales expuestas a estímulos inflamatorios como la expresión o altos niveles de interleucina-1 o factor de necrosis tumoral lo cual lleva a la activación de neutrófilos. Dicha activación induce quimiotaxis, exocitosis.

¹³⁰ CHAAITHANYA, Itta Krishna, et al. Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. *Viral immunology*, 2011, vol. 24, no 4, p. 265-271.

¹³¹ CHOW, Angela, et al. Persistent arthralgia induced by Chikungunya virus infection is associated with interleukin-6 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 203, no 2, p. 149-157.

¹³² CHIRATHAWORN, Chintana, et al. Cytokine levels in patients with chikungunya virus infection. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 2013, vol. 6, no 8, p. 631-634.

In vivo, IL-8 provoca una acumulación masiva de neutrófilos en el sitio de inyección produciéndose en varios tejidos tras una infección, inflamación, isquemia, traumatismo, etc., y se cree que son la causa principal de la acumulación local de neutrófilos lo cual puede llevar frente a altos niveles al daño del tejido en un mar de citoquinas¹³³.

La IL-8 está involucrada dentro de aquellas citoquinas y quimiocinas que se desencadenan por la infección por el virus Chikungunya. Es así como durante la fase aguda muy temprana se han obtenido resultados de niveles elevados de IL-8. Tanabe y cols. 2019 en su estudio encontró un incremento significativo en los niveles de citoquinas IFN- α , IL-6, CXCL8/IL-8, IL-10, IFN- γ , CCL2/MCP-1 al ser comparados en pacientes infectados Vs pacientes sanos. Esto se atribuye a su papel en inmunidad innata al comienzo de la infección por Chikungunya, así como en otros estudios se ha identificado el aumento de citoquinas considerando diferentes cohortes de pacientes de infección aguda por Chikungunya^{134,135,136,137,138}.

Ahora bien, durante los problemas articulares, Las citocinas en general desempeñan un papel fundamental en el mantenimiento del homeostasis ósea. Los osteoclastos (OC), las únicas células que reabsorben los huesos, están reguladas por numerosas citocinas. El factor estimulante de colonias de macrófagos y el activador del receptor del ligando NF- κ B desempeñan un papel central en la

¹³³ GANESAN, Vaishnavi K.; DUAN, Bin; REID, St Patrick. Chikungunya virus: pathophysiology, mechanism, and modeling. *Viruses*, 2017, vol. 9, no 12, p. 368.

¹³⁴ SIMARMATA, Diane, et al. Early clearance of Chikungunya virus in children is associated with a strong innate immune response. *Scientific reports*, 2016, vol. 6, no 1, p. 1-8.

¹³⁵ CHIRATHAWORN, Chintana, et al. Cytokine levels in patients with chikungunya virus infection. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 2013, vol. 6, no 8, p. 631-634.

¹³⁶ NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. *Annual review of virology*, 2017, vol. 4, p. 413-427.

¹³⁷ HIGGS, Stephen; ZIEGLER, Sarah A. A nonhuman primate model of chikungunya disease. *The Journal of clinical investigation*, 2010, vol. 120, no 3, p. 657-660.

¹³⁸ SISSOKO, Daouda, et al. Post-epidemic Chikungunya disease on Reunion Island: course of rheumatic manifestations and associated factors over a 15-month period. *PLoS neglected tropical diseases*, 2009, vol. 3, no 3.

diferenciación de OC, que también se denomina osteoclastogénesis. Las citocinas osteoclastogénicas, incluidos el TNF- α , IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL-11, IL-15, IL-17, IL-23 e IL-34, promueven la diferenciación de OC, mientras que las citocinas antiosteoclastogénicas, incluidos el interferón (IFN) - α , IFN- β , IFN- γ , IL-3, IL-4, IL-10, IL-12, IL-27 e IL-33, regulan a la baja OC diferenciación. Por lo tanto, la regulación dinámica de las citocinas osteoclastogénicas y antiosteoclastogénicas es importante para mantener el equilibrio entre los CO que reabsorben los huesos y los osteoblastos (OB) que forman los huesos, lo que finalmente afecta la integridad ósea. La revisión describe las propiedades osteoclastogénicas y antiosteoclastogénicas de las citocinas con respecto a la osteoinmunología, y resume nuestra comprensión actual del papel que estas citocinas juegan en la osteoclastogénesis^{139,140,141,142,143}.

Por otro lado, y así como se ha afirmado en varias investigaciones, la respuesta inflamatoria desencadenada durante procesos inflamatorios no solo afecta tejidos sino también se ve fuertemente asociada a trastornos mentales y de conducta. Rodríguez y cols. en el 2017 afirma en su estudio que la IL-8 junto con la IL-6 y TNF- α , y otras citocinas parecen estar relacionadas con la depresión, pero formas particularmente específicas, tales como enfermedades crónicas, fatiga, caquexia y trastornos del sueño.es así como se puede relacionar con la cronicidad de la

¹³⁹ ORTIZ, Libardo; ARÉVALO, María.; ROSALES, Disney. Artritis reumatoide: algunos aspectos inmunológicos. Revista Médica de la Extensión Portuguesa, 2010, vol. 4, no 2, p. 41-56.

¹⁴⁰ RODRIGUEZ-MORALES, Alfonso J., et al. Would be IL-6 a missing link between chronic inflammatory rheumatism and depression after chikungunya infection?. Rheumatology international, 2017, vol. 37, no 7, p. 1149-1151.

¹⁴¹ NARAZAKI, Masashi; TANAKA, Toshio; KISHIMOTO, Tadimitsu. The role and therapeutic targeting of IL-6 in rheumatoid arthritis. Expert review of clinical immunology, 2017, vol. 13, no 6, p. 535-551.

¹⁴² ARONSON, Jeffrey K.; FERNER, Robin E. Biomarkers—a general review. Current protocols in pharmacology, 2017, vol. 76, no 1, p. 9.23. 1-9.23. 17.

¹⁴³ LABADIE, Karine, et al. Chikungunya disease in nonhuman primates involves long-term viral persistence in macrophages. The Journal of clinical investigation, 2010, vol. 120, no 3, p. 894-906.

enfermedad del Chikungunya ya que se estaría elevado en enfermedades inflamatorias crónicas¹⁴⁴.

Rodríguez y cols. también destaca la importancia de trastornos psiquiátricos, particularmente depresión, en asociación con enfermedades arbovirales, en los cuales la IL-8 / CXCL8, así como IL-6, TNF- α , IL1 β e IL-12, se incrementan de diferentes maneras durante la enfermedad de chikungunya aguda y crónica y también asociado con síntomas específicos, formas y características de la depresión, como como forma crónica, fatiga, dolor, depresión en personas mayores, ansiedad predominando en mujeres. Todo lo anterior, agrega hipótesis a la creciente evidencia y la necesidad de investigación no solo en la interacción clínica entre trastornos arbovirales y psiquiátricos, pero también con detalles inmunológicos¹⁴⁵.

3.5.6 TNF α . En la Artritis reumatoide, el sistema inmune innato se activa de forma persistente y se detalla la comprensión había llevado a objetivos atractivos para nuevas intervenciones terapéuticas¹⁴⁶. Una llave papel de la respuesta inmune innata en la supresión, propagación La difusión está bien establecida. Prime células de la respuesta inmune innata, natural las células asesinas (NK) y naturales asesinas T (NKT) pueden matar células objetivo directamente o interactuar con

¹⁴⁴ LABADIE, Karine, et al. Chikungunya disease in nonhuman primates involves long-term viral persistence in macrophages. *The Journal of clinical investigation*, 2010, vol. 120, no 3, p. 894-906.

¹⁴⁵ ARONSON, Jeffrey K.; FERNER, Robin E. Biomarkers—a general review. *Current protocols in pharmacology*, 2017, vol. 76, no 1, p. 9.23. 1-9.23. 17.

¹⁴⁶ REDDY, Vijayalakshmi, et al. Correlation of plasma viral loads and presence of Chikungunya IgM antibodies with cytokine/chemokine levels during acute Chikungunya virus infection. *Journal of medical virology*, 2014, vol. 86, no 8, p. 1393-1401.

células presentadoras de antígeno y células T para producir citocinas que tienen actividades antivirales^{147,148,149}.

La funcionalidad desregulada de las células T de tipo NK / NK se ha asociado con la artritis crónica por Chikungunya.

TNF- α es una de las citocinas osteoclastogénicas más potentes y su papel patogénico en los resultados artríticos es universalmente aceptado^{150,151}. Células NK que expresan TNF- α más altas en AR y células T similares a NK que expresan TNF- α en pacientes con artritis crónica en comparación con los controles, sugieren su papel promotor de la enfermedad y podrían presentarse como el marcador de estas dos enfermedades artríticas crónicas. La expresión de IFN- γ y TNF- α en células T similares a NK se ha asociado con la cronicidad en chikungunya¹⁵².

Una mayor expresión de TNF- α e IFN- γ en células T similares a NK a pesar de tener un porcentaje menor de células T similares a NK en los pacientes con AR del presente estudio sugiere un papel crítico de este subconjunto de células T similares a NK en la artritis. En un estudio modelo de ratón con artritis CHIKV¹⁵³.

¹⁴⁷ ORTIZ, Libardo; ARÉVALO, María.; ROSALES, Disney. Artritis reumatoide: algunos aspectos inmunológicos. Revista Médica de la Extensión Portuguesa, 2010, vol. 4, no 2, p. 41-56.

¹⁴⁸ RODRIGUEZ-MORALES, Alfonso J., et al. Would be IL-6 a missing link between chronic inflammatory rheumatism and depression after chikungunya infection?. Rheumatology international, 2017, vol. 37, no 7, p. 1149-1151.

¹⁴⁹ NARAZAKI, Masashi; TANAKA, Toshio; KISHIMOTO, Tadimitsu. The role and therapeutic targeting of IL-6 in rheumatoid arthritis. Expert review of clinical immunology, 2017, vol. 13, no 6, p. 535-551.

¹⁵⁰ SIMARMATA, Diane, et al. Early clearance of Chikungunya virus in children is associated with a strong innate immune response. Scientific reports, 2016, vol. 6, no 1, p. 1-8.

¹⁵¹ ROBERTS, Helen C., et al. A review of the measurement of grip strength in clinical and epidemiological studies: towards a standardised approach. Age and ageing, 2011, vol. 40, no 4, p. 423-429.

¹⁵² JOSSERAN, Loïc, et al. Chikungunya disease outbreak, Reunion Island. Emerging infectious diseases, 2006, vol. 12, no 12, p. 1994-1995.

¹⁵³ VALDÉS LÓPEZ, Juan Felipe; VELILLA, Paula Andrea; URCUQUI-INCHIMA, Silvio. Chikungunya Virus and Zika Virus, two different viruses examined with a common aim: role of pattern recognition receptors on the inflammatory response. Journal of Interferon & Cytokine Research, 2019, vol. 39, no 9, p. 507-521.

Los niveles elevados de IFN- γ y TNF- α están asociados con la inflamación artrítica¹⁵⁴. Sin embargo, se necesitan más estudios para desentrañar el papel de las células T tipo IFN- γ + NK en pacientes con AR. La terapia anti-TNF- α implementada contra la AR, ha mostrado resultados prometedores. En ausencia de cualquier tratamiento específico para la artritis inducida por CHIKV, esta observación del estudio actual podría formar la base para futuros estudios in vivo y puede emplearse para diseñar terapias contra la artritis por CHIKV¹⁵⁵.

3.6 ARTRITIS REUMATOIDE

La artritis reumatoide es una de las enfermedades inflamatorias crónicas más prevalentes. Se trata principalmente de las articulaciones, pero debe considerarse un síndrome que incluye manifestaciones extra articulares, como nódulos reumatoides, afectación pulmonar o vasculitis y comorbilidades sistémicas¹⁵⁶.

3.6.1 Respuesta inflamatoria en Artritis Reumatoide. La hinchazón articular en la artritis reumatoide refleja la inflamación de la membrana sinovial como consecuencia de la activación inmune, y se caracteriza por la infiltración de leucocitos en el compartimiento sinovial normalmente escasamente poblado¹⁵⁷. La composición celular de la sinovitis en la artritis reumatoide incluye células inmunes innatas (por ejemplo, monocitos, células dendríticas, mastocitos y células linfoides innatas) y células inmunes adaptativas (p. ej., células Th1 y Th17, células B, plasmablastos y células plasmáticas). Una respuesta tisular robusta por la cual los fibroblastos sinoviales asumen un fenotipo agresivo inflamatorio, regulador de la

¹⁵⁴ ALLA, Sanae Ali Ou; COMBE, Bernard. Arthritis after infection with Chikungunya virus. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 2011, vol. 25, no 3, p. 337-346.

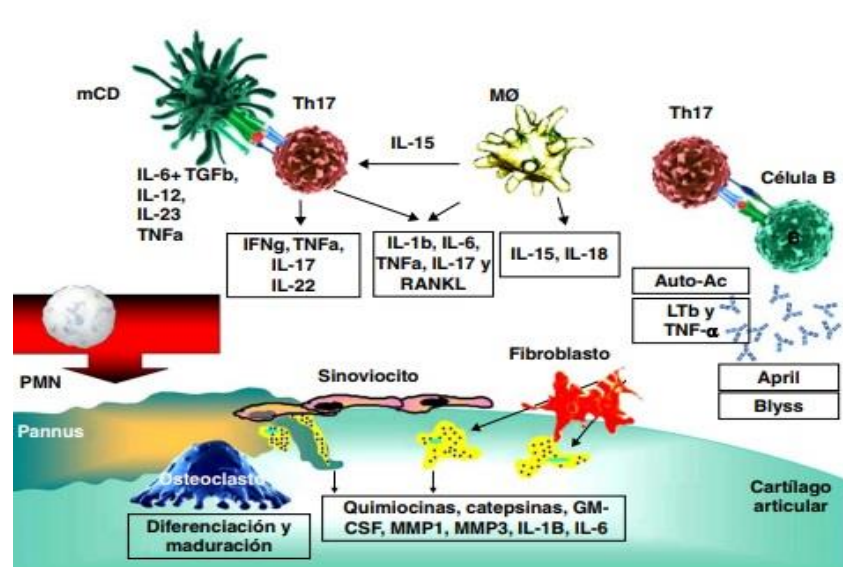
¹⁵⁵ LOPEZ RODRIGUEZ, Marggie Astryd. Evaluación de las manifestaciones reumatológicas y las alteraciones paraclínicas luego de dos años de la presentación de la infección por virus de Chikungunya en brote en el municipio de Capitanejo, Santander. 2018. Tesis Doctoral. Universidad Industrial de Santander, Escuela de Medicina, Departamento De Medicina Interna.

¹⁵⁶ SMOLEN, Josef; ALETAHA, Daniel Aletaha; McINNES, Iain. Rheumatoid arthritis. *The Lancet*, vol 388, 2016.

¹⁵⁷ *Ibidem*.

matriz e invasivo, junto con un catabolismo condrocitario mejorado y una osteoclastogénesis sinovial que promueve la destrucción articular^{158,159}. Los macrófagos son células fundamentales en la fisiopatología y la magnitud de su infiltración se correlaciona con los síntomas, probablemente debido a la secreción de mediadores proinflamatorios claves, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-) y la IL-1 β , implicadas en la perpetuación de la inflamación crónica en la Artritis reumatoide. (Ver figura 9)

Figura 9. Esquema de la fisiopatología de la artritis reumatoide. Interacción de las principales células implicadas en la fisiopatología de la sinovitis y resorción ósea, culminando en la liberación de enzimas y daño tisular



Fuente: SÁNCHEZ-RAMÓN, Silvia; LÓPEZ-LONGO, Francisco Javier; CARRENO, Luis. Interleucinas en la fisiopatología de la artritis reumatoide: más allá de las citocinas proinflamatorias. *Reumatología Clínica*, 2011, vol. 6, p. 20-24.

¹⁵⁸ SRIRANGAN, Srinivasan; CHOY, Ernest H. The role of interleukin 6 in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease*, 2010, vol. 2, no 5, p. 247-256.

¹⁵⁹ SÁNCHEZ-RAMÓN, Silvia; LÓPEZ-LONGO, Francisco Javier; CARRENO, Luis. Interleucinas en la fisiopatología de la artritis reumatoide: más allá de las citocinas proinflamatorias. *Reumatología Clínica*, 2011, vol. 6, p. 20-24.

Los macrófagos son células fundamentales en la fisiopatología y la magnitud de su infiltración se correlaciona con los síntomas, probablemente debido a la secreción de mediadores proinflamatorios claves, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la IL-1 β , implicadas en la perpetuación de la inflamación crónica en la AR^{160,161}. El tejido inflamatorio adquiere la capacidad de invadir y destruir el cartílago articular adyacente. La activación de los osteoclastos del hueso periarticular conduce a la resorción y se forman las erosiones óseas características de la enfermedad. La función de las células T CD4+ reguladoras está disminuida, lo que contribuye al desequilibrio entre los brazos efector y regulador de la inmunidad¹⁶².

Otra citoquina involucrada como biomarcador de la Artritis reumatoide es la IL-6. En el modelo de Srirangan y cols. muestra las diferentes vías inflamatorias activadas por interleuquina (IL) -6. En las articulaciones, la IL-6 induce la formación de pannus, la activación de los osteoclastos y como puede mediar la sinovitis crónica¹⁶³. (Ver Figura 10)

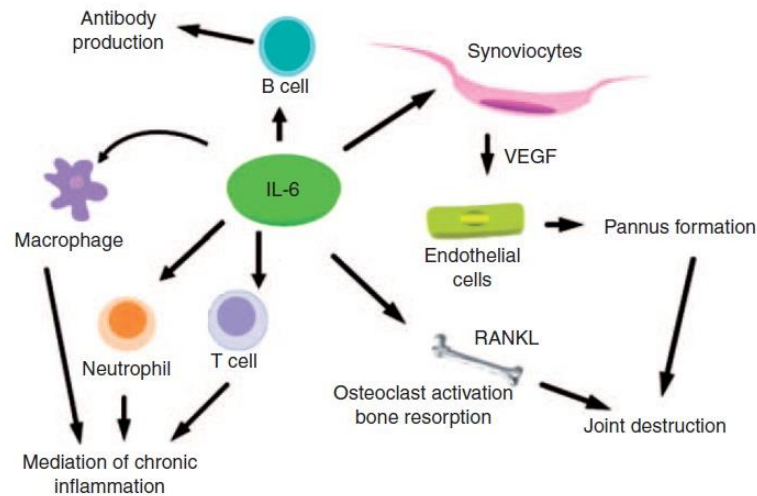
¹⁶⁰ ORTIZ, Libardo; ARÉVALO, María.; ROSALES, Disney. Artritis reumatoide: algunos aspectos inmunológicos. Revista Médica de la Extensión Portuguesa, 2010, vol. 4, no 2, p. 41-56.

¹⁶¹ SRIRANGAN, Srinivasan; CHOY, Ernest H. The role of interleukin 6 in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. Therapeutic advances in musculoskeletal disease, 2010, vol. 2, no 5, p. 247-256.

¹⁶² SÁNCHEZ-RAMÓN, Silvia; LÓPEZ-LONGO, Francisco Javier; CARRENO, Luis. Interleucinas en la fisiopatología de la artritis reumatoide: más allá de las citocinas proinflamatorias. Reumatología Clínica, 2011, vol. 6, p. 20-24.

¹⁶³ SRIRANGAN, Srinivasan; CHOY, Ernest H. The role of interleukin 6 in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. Therapeutic advances in musculoskeletal disease, 2010, vol. 2, no 5, p. 247-256.

Figura 10. Vías inflamatorias activadas por interleuquina (IL) -6. En las articulaciones, la IL-6 induce la formación de pannus, la activación de los osteoclastos y media la sinovitis crónica



Fuente: SRIRANGAN, Srinivasan; CHOY, Ernest H. The role of interleukin 6 in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. Therapeutic advances in musculoskeletal disease, 2010, vol. 2, no 5, p. 247-256.

3.7 COMPROMISO ARTICULAR CRONICO POSTERIOR A LA INFECCION POR EL VIRUS CHIKUNGUNYA

El estudio realizado por Raad y cols. donde Caracterizo inmunológicamente y comparo con Artritis reumatoide sus resultados una población del Caribe colombiano con diagnóstico clínico y serológico de infección por el virus chikungunya observando que aunque el 75% de los pacientes incluidos en el estudio presentaron más de 10 articulaciones afectadas, cumpliendo con los criterios de afectación articular establecidos por la ACR/EULAR, la presentación clínica de manifestaciones como el brote, la fiebre y la coexistencia del brote epidemiológico en la ciudad, marcaban una diferencia con el diagnóstico de AR e inclinaban el diagnóstico clínico hacia una infección viral. Con relación a la respuesta celular el índice CD4/CD8 fue mayor a 1, destacando la capacidad funcional de producción en estos pacientes de una respuesta inmunitaria específica, así como el parcial

equilibrio de las subpoblaciones linfocitarias. A diferencia de lo encontrado en la AR, en donde existe también un balance positivo entre CD4/CD8, en esta entidad encontramos aumentadas las subpoblaciones de LTh.

Con relación de las citoquinas frente al proceso inflamatorio ellos encontraron niveles elevados de IL6 y TNF- α , por encima del grupo control sano, con un comportamiento similar al hallado en el grupo de AR, Sin embargo, otros estudios de pacientes con compromiso articular crónico no obtuvieron los mismos resultados, ya que la citoquina TNF- α no se evidencia en niveles elevados, dato que podría ser también diferencial entre la artritis crónica por chikungunya y la RA^{164,165}.

En cuanto a la expresión de la IL10 antiinflamatoria, no hubo una elevación y por lo tanto sus efectos inmunorreguladores y supresores sobre el IL1 β e IFN- α no se evidenciaron. También ha sido resultado característico de los pacientes crónicos de Chikungunya¹⁶⁶, esta podría ser una razón por la cual los procesos inflamatorios perduran hasta la cronicidad, por la falta respuesta antiinflamatoria.

Finalmente, los resultados de factor reumatoide, anticuerpos antinucleares, anti-ADN y anticitrulina negativos, indican que en la infección por Chikungunya no existe una respuesta de tipo autoinmunitario, por esta razón, se considera que se trata de una inflamación articular con mediadores de inflamación muy similar a lo que podríamos encontrar en enfermedades reumatológicas, especialmente en la AR¹⁶⁷.

¹⁶⁴ HOARAU, Jean-Jacques, et al. Persistent chronic inflammation and infection by Chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response. *The Journal of Immunology*, 2010, vol. 184, no 10, p. 5914-5927.

¹⁶⁵ CHAAITHANYA, Itta Krishna, et al. Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. *Viral immunology*, 2011, vol. 24, no 4, p. 265-271.

¹⁶⁶ REDDY, Vijayalakshmi, et al. Correlation of plasma viral loads and presence of Chikungunya IgM antibodies with cytokine/chemokine levels during acute Chikungunya virus infection. *Journal of medical virology*, 2014, vol. 86, no 8, p. 1393-1401.

¹⁶⁷ JALLER RAAD, Juan, et al. Immunological response of a population from the Caribbean region of Colombia infected with the chikungunya virus. *Revista Colombiana de Reumatología*, 2016, vol. 23, no 2, p. 85-91.

3.7.1 Compromiso articular crónico. O artritis crónica tiene un sinónimo con la Artritis reumatoide sin el componente autoinmune. Diversos autores que narran la posible reacción inmunitaria presente en el compromiso articular crónico cuenta con diversos momentos compartidos con la RA, si bien dentro de los pocos resultados que puedan conducir a una definición propia, el compromiso articular crónico desencadena un daño óseo con participación celular y de citoquinas similar a la presentada y estudiada en RA. Por lo cual se podría definir como una enfermedad sistémica crónica y progresiva del tejido conectivo, que se manifiesta particularmente con alteraciones destructivas en las articulaciones. Las reacciones inflamatorias en la membrana sinovial conducen a la afluencia de células inflamatorias periféricas, así como a la activación de las células locales^{168,169}.

Los factores de crecimiento liberados, las quimiocinas y especialmente las citocinas desempeñan un papel clave en las respuestas inflamatorias crónicas. Además de los linfocitos centrales, las células T y B y sus subpoblaciones, las células localmente residentes, como los neutrófilos, los macrófagos y los fibroblastos, así como las células del metabolismo óseo, se activan por el medio inflamatorio y contribuyen a la inflamación y al daño tisular. La destrucción del cartílago y la sustancia ósea por las células de los tejidos locales, los fibroblastos sinoviales y los osteoclastos es característica de esta enfermedad^{170,171,172}.

3.7.2 Compromiso de la calidad de vida asociado a Chikungunya. La infección por Chikungunya es una enfermedad que puede presentarse con dos fases, aguda

¹⁶⁸ MATHEW, Ann J., et al. Chikungunya infection: a global public health menace. *Current allergy and asthma reports*, 2017, vol. 17, no 2, p. 13.

¹⁶⁹ NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. *Annual review of virology*, 2017, vol. 4, p. 413-427.

¹⁷⁰ SUTARIA, Ravi B.; AMARAL, Jose K.; SCHOEN, Robert T. Emergence and treatment of chikungunya arthritis. *Current opinion in rheumatology*, 2018, vol. 30, no 3, p. 256-263.

¹⁷¹ GASQUE, Philippe, et al. Chikungunya virus pathogenesis and immunity. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 2015, vol. 15, no 4, p. 241-249.

¹⁷² TANAY, Amir. Chikungunya virus and autoimmunity. *Current opinion in rheumatology*, 2017, vol. 29, no 4, p. 389-393.

y tardía. La fase aguda es el período en el cual los pacientes sintomáticos generalmente informan un inicio abrupto, a menudo caracterizado por fiebre alta, poliartralgia, dolor de espalda, dolor de cabeza y fatiga¹⁷³. La fase tardía generalmente se manifiesta con artralgia o dolor musculoesquelético, con signos más frecuentes y duraderos, interfiriendo durante semanas o meses, y algunas veces durante años¹⁷⁴.

A pesar de los diversos regímenes terapéuticos disponibles para Chikungunya, el 40% de los pacientes progresa con dolor crónico y calidad de vida comprometida. Por lo tanto, la artralgia que persiste en la fase crónica de la enfermedad a menudo es debilitante y puede llevar a un deterioro en la vida del individuo, con casos en los que los pacientes continúan con artritis incapacitante, incluso afectando su movilidad y requiriendo tratamiento a largo plazo¹⁷⁵.

Lima Martins y cols. hizo un estudio de serie de casos los cuales fueron diagnosticados con Chikungunya serológicamente y fueron tratados clínicamente por un año. Fueron evaluados con respecto a las complicaciones psicológicas de la infección por Chikungunya, obteniendo datos de padecimiento de ansiedad, depresión y desesperanza un año después de la fase aguda de la enfermedad¹⁷⁶.

De igual manera al ser la artritis crónica un padecimiento similar a la Artritis reumatoide. Estudios sobre el compromiso de la calidad de vida de los pacientes afirman que varios procesos interactúan entre sí, por un lado, la inflamación y el

¹⁷³ COLOMBIA. CONGRESO DE LA REPÚBLICA. Ley estatutaria 1581 (17, octubre, 2012). Por la cual se dictan disposiciones generales para la protección de datos personales. Diario Oficial. Bogotá, D.C., 2012, no. 48587.

¹⁷⁴ COLOMBIA. MINISTERIO DE SALUD. Resolución 8430 (4, octubre, 1993). Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Bogotá D.C., 1993.

¹⁷⁵ ACOSTA-REYES, Jorge; NAVARRO-LECHUGA, Edgar; MARTÍNEZ-GARCÉS, Juan Carlos. Chikungunya fever: history and epidemiology. Revista Salud Uninorte, 2015, vol. 31, no 3, p. 621-630.

¹⁷⁶ *Ibidem*.

dolor, la pérdida del movimiento articular, la deformidad produce discapacidad. Por el otro, la enfermedad lleva a la pérdida de un gran número de funciones de la vida diaria lo cual afecta en mayor o menor grado el desplazamiento, el cuidado personal, el trabajo y otras actividades básicas. Afectando la independencia económica, y los roles sociales de la persona^{177,178}.

3.8 RESPUESTA INFLAMATORIA FRENTE A OTROS ARBOVIRUS DENGUE Y ZIKA

En las arbovirosis la base fisiopatológica de los procesos inflamatorios es multifactorial. El resultado protector versus el efecto patológico depende del equilibrio entre el fondo genético, los factores virales y los factores inmunológicos del huésped¹⁷⁹. Este último es clave, ejemplo de ello es la infección por Dengue, se produce una excesiva liberación de citoquinas, de ahí el término tsunami o tormenta de citoquinas. Esta tormenta de citoquinas tiene un efecto directo sobre las células endoteliales vasculares al aumentar la permeabilidad capilar y causar fuga plasmática¹⁸⁰.

Varios estudios lo demuestran indicando que las concentraciones de citoquinas, quimioquinas u otros mediadores podrían aumentar significativamente durante la infección por Dengue. Niveles más elevados de IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13,

¹⁷⁷ COLOMBIA. MINISTERIO DE COMERCIO, INDUSTRIA Y TURISMO. Decreto 1377 (27, junio, 2013). Por el cual se reglamenta parcialmente la Ley 1581 de 2012. Diario Oficial. Bogotá, D.C., 2013, no. 48834.

¹⁷⁸ UIS – Universidad Industrial de Santander. Resolución de Rectoría 1227 (22, agosto, 2013). Por la cual se aprueba el Manual de Procedimientos Administrativos para el Tratamiento de Datos Personales.

¹⁷⁹ GUZMAN, Maria G.; HARRIS, Eva. Dengue. *The Lancet*, 2015, vol. 385, no 9966, p. 453-465.

¹⁸⁰ RATHAKRISHNAN, Anusyah, et al. Cytokine expression profile of dengue patients at different phases of illness. *PloS one*, 2012, vol. 7, no 12.

IL-18^{181,182,183,184}, proteína 1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1), factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF), factor de crecimiento transformante-b, VEGF-A, TNF α e IFN- γ se han encontrado en el plasma de pacientes con dengue grave^{185,186,187,188}.

Harris y cols. presenta en una revisión los posibles mecanismos que juegan un papel importante en la patogénesis de la enfermedad y que lleva a la filtración de plasma a través de las células endoteliales. Los autores afirman que las citoquinas y mediadores solubles, liberados secuencialmente por diferentes células como consecuencia de la activación inmune, son clave para el pronóstico de la infección¹⁸⁹.

Los niveles aumentados de algunas citoquinas proinflamatorias que actúan sobre el endotelio vascular destacan en una etapa preliminar de activación celular endotelial la IL-6, IL-8, INF- γ , MCP-1, TNF- α , llevando a una disfunción celular endotelial, hemorragia y fiebre. Y en su etapa crítica de daño o disfunción celular con la

¹⁸¹ WAN, Shu-Wen, et al. Autoimmunity in dengue pathogenesis. *Journal of the Formosan Medical Association*, 2013, vol. 112, no 1, p. 3-11.

¹⁸² BOZZA, Fernando A., et al. Multiplex cytokine profile from dengue patients: MIP-1beta and IFN-gamma as predictive factors for severity. *BMC infectious diseases*, 2008, vol. 8, no 1, p. 86.

¹⁸³ TSENG, Chien-Sen, et al. Elevated levels of plasma VEGF in patients with dengue hemorrhagic fever. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 2005, vol. 43, no 1, p. 99-102.

¹⁸⁴ EPPY, Eppy, et al. The differences between interleukin-6 and C-reactive protein levels among adult patients of dengue infection with and without plasma leakage. *Acta Médica Indonesiana*, 2016, vol. 48, no 1, p. 3.

¹⁸⁵ JOHN, Daisy Vanitha; LIN, Yee-Shin; PERNG, Guey Chuen. Biomarkers of severe dengue disease—a review. *Journal of biomedical science*, 2015, vol. 22, no 1, p. 83.

¹⁸⁶ VAN DE WEG, Cornelia AM, et al. Serum angiopoietin-2 and soluble VEGF receptor 2 are surrogate markers for plasma leakage in patients with acute dengue virus infection. *Journal of Clinical Virology*, 2014, vol. 60, no 4, p. 328-335.

¹⁸⁷ SCREATON, Gavin, et al. New insights into the immunopathology and control of dengue virus infection. *Nature Reviews Immunology*, 2015, vol. 15, no 12, p. 745-759.

¹⁸⁸ BAYLESS, Nicholas L., et al. Zika virus infection induces cranial neural crest cells to produce cytokines at levels detrimental for neurogenesis. *Cell host & microbe*, 2016, vol. 20, no 4, p. 423-428.

¹⁸⁹ GUZMAN, Maria G.; HARRIS, Eva. Dengue. *The Lancet*, 2015, vol. 385, no 9966, p. 453-465.

liberación de plasma^{190,191,192}. Incluso algunos estudios muestran que los niveles elevados de IL-6, IL-10, IFN- γ , MIF y CCL-4, VEGF podrían usarse como posibles predictores de dengue grave¹⁹³.

Rathakrishna y cols. de igual manera afirma con su investigación de la cinética de las citoquinas en pacientes con dengue en diferentes fases de la enfermedad, encontrando que al igual que en otros estudios se ha demostrado que el INF- γ aumenta en los casos graves de dengue asociándolo a severidad^{194,195}. La IL-8 y MCP-1, son también asociados fuertemente con trombocitopenia, activación plaquetaria por su efecto sobre la permeabilidad endotelial. Ambos factores se han detectado en pacientes de dengue con signos de alarma¹⁹⁶.

Durante las infecciones agudas de otras arbovirosis como Chikungunya y Zika los niveles de MCP-1, IL-6, IL-8 y IP-10 se elevan significativamente en la fase aguda¹⁹⁷. Es tal como Sarangan y cols. y Venugopalan y cols. también describen en sus estudios los niveles elevados de IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α y IFN- γ en pacientes

¹⁹⁰ GUZMAN, Maria G.; HARRIS, Eva. Dengue. *The Lancet*, 2015, vol. 385, no 9966, p. 453-465.

¹⁹¹ SCHAIBLE, Hans George, et al. The role of proinflammatory cytokines in the generation and maintenance of joint pain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, vol. 1193, no 1, p. 60-69.

¹⁹² BOZZA, Fernando A., et al. Multiplex cytokine profile from dengue patients: MIP-1beta and IFN-gamma as predictive factors for severity. *BMC infectious diseases*, 2008, vol. 8, no 1, p. 86.

¹⁹³ EPPY, Eppy, et al. The differences between interleukin-6 and C-reactive protein levels among adult patients of dengue infection with and without plasma leakage. *Acta Medica Indonesiana*, 2016, vol. 48, no 1, p. 3.

¹⁹⁴ RATHAKRISHNAN, Anusyah, et al. Cytokine expression profile of dengue patients at different phases of illness. *PLoS one*, 2012, vol. 7, no 12.

¹⁹⁵ BOZZA, Fernando A., et al. Multiplex cytokine profile from dengue patients: MIP-1beta and IFN-gamma as predictive factors for severity. *BMC infectious diseases*, 2008, vol. 8, no 1, p. 86.

¹⁹⁶ VERVAEKE, Peter; VERMEIRE, Kurt; LIEKENS, Sandra. Endothelial dysfunction in dengue virus pathology. *Reviews in medical virology*, 2015, vol. 25, no 1, p. 50-67.

¹⁹⁷ KELVIN, Alyson A., et al. Inflammatory cytokine expression is associated with chikungunya virus resolution and symptom severity. *PLoS neglected tropical diseases*, 2011, vol. 5, no 8.

en fase aguda durante la infección por Chikungunya^{198,199,200}. Como también Chaaithanya y cols. evalúa los niveles de las citoquinas proinflamatorias IL-1 e IL-6, IL-8, MCP-1 hallando valores elevados en pacientes agudos²⁰¹. Estas observaciones también las halló Kelvin y cols. al encontrar que las citoquinas IL-1b, TNF- α , IL-12, IL-10, IFN- γ e IL-5 se manifestaban en niveles fuera de los normales en la etapa de cronicidad²⁰². Se ha demostrado que estas citoquinas y quimioquinas también juegan un papel importante en otras artritis, incluida la poliartritis epidémica (EPA) causada por el virus Ross River (RRV) y la artritis reumatoide (AR)^{203,204}.

Así como el aumento en la permeabilidad endotelial vascular es crítica en la infección por Dengue, en Chikungunya y Zika también puede estar involucrada en las complicaciones de los procesos inflamatorios y más aún que se han fuertemente asociados con problemas congénitos.

A pesar de que la infección por dengue durante el embarazo se ha asociado con el desarrollo de preeclampsia, eclampsia, hemorragia y muertes maternas, pero no con la aparición de malformaciones congénitas²⁰⁵. La infección por el virus del Chikungunya y Zika sí. Ya que la transmisión materno-fetal temprana de Chikungunya, ha resultado en muertes fetales sin malformaciones, deterioro en el

¹⁹⁸ YEN, Yong-Ren, et al. The anthropometric measurement of schober's test in normal taiwanese population. *BioMed research international*, 2015, vol. 2015.

¹⁹⁹ URIBE, Lilibian, et al. Correlación entre la actividad clínica por DAS-28 y ecografía en pacientes con artritis reumatoide. *Revista Colombiana de Reumatología*, 2016, vol. 23, no 3, p. 159-169.

²⁰⁰ COLOMBIA. MINISTERIO DE SALUD. Resolución 8430 (4, octubre, 1993). Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Bogotá, D.C., 1993.

²⁰¹ CHAAITHANYA, Itta Krishna, et al. Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. *Viral immunology*, 2011, vol. 24, no 4, p. 265-271.

²⁰² KELVIN, Alyson A., et al. Inflammatory cytokine expression is associated with chikungunya virus resolution and symptom severity. *PLoS neglected tropical diseases*, 2011, vol. 5, no 8.

²⁰³ CHAAITHANYA, Op. cit.

²⁰⁴ SRIRANGAN, Srinivasan; CHOY, Ernest H. The role of interleukin 6 in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease*, 2010, vol. 2, no 5, p. 247-256.

²⁰⁵ NASCIMENTO, Laura Branquinho do, et al. Dengue in pregnant women: characterization of cases in Brazil, 2007-2015. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 2017, vol. 26, p. 433-442.

desarrollo neurológico pero con la presencia del genoma viral en el líquido amniótico, la placenta y / o el cerebro de los fetos^{206,207}. Zika con los sucesos asociados a microcefalia, retraso físico, cognitivo se le atribuye también el nombre de síndrome congénito de Zika donde se incluyen insuficiencia placentar, restricción del crecimiento fetal, desorden ocular, anomalías del SNC y fallecimiento. Aunque no solo se le atribuye al Zika daño en el sistema nervioso en desarrollo sino también en adultos que están infectados por el virus ya que las personas adultas infectadas por el virus pueden desarrollar enfermedades como Síndrome de Guillain- Barre y Parálisis facial^{208,209,210,211,212}.

Durante la infección por virus Zika en población general, algunos estudios han evidenciado durante la fase aguda concentraciones significativamente altas de las interleuquinas (IL) tales como IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, IL-17, INF- γ , (IP-10), así como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), en

²⁰⁶ MYSOREKAR, Indira U.; DIAMOND, Michael S. Modeling Zika virus infection in pregnancy. *New England Journal of Medicine*, 2016, vol. 375, no 5, p. 481-484.

²⁰⁷ KAM, Yiu-Wing, et al. Specific biomarkers associated with neurological complications and congenital central nervous system abnormalities from Zika virus-infected patients in Brazil. *The Journal of infectious diseases*, 2017, vol. 216, no 2, p. 172-181.

²⁰⁸ SARANGAN, Gopalsami, et al. Cytokine profile in response to Chikungunya virus (CHIKV) associated with CHIKV polyarthritits in acute febrile patients from South India. *International Journal of Infectious Diseases*, 2016, vol. 45, p. 455.

²⁰⁹ CHAAITHANYA, Itta Krishna, et al. Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. *Viral immunology*, 2011, vol. 24, no 4, p. 265-271.

²¹⁰ VENUGOPALAN, Anuradha; GHORPADE, Ravi P.; CHOPRA, Arvind. Cytokines in acute chikungunya. *PloS one*, 2014, vol. 9, no 10.

²¹¹ UIS – Universidad Industrial de Santander. Determinación de anticuerpos por inmunoensayos multiplex. POE-UMB-513. Version 1.0 Laboratorio de Unidad de Muestras Biológicas, Centro de Investigaciones Epidemiológicas, 2019

²¹² CRONIN, John, et al. A brief review of handgrip strength and sport performance. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 2017, vol. 31, no 11, p. 3187-3217.

comparación con los controles sanos^{213,214,215,216}. Sin embargo, Ornelas y cols. También evaluó la cinética de las citoquinas en población gestante con aumento en los niveles de IP-10, IL-6, IL-8, VEGF, MCP-1 y G-CSF en el líquido amniótico cuyos infantes presentaron microcefalia neonatal²¹⁷. Y teniendo en cuenta que estas citoquinas se han asociado no solo con daño neuronal, sino también con alteración en la diferenciación y proliferación de células progenitoras neuronales. Estos resultados sugieren que la activación inmune causada durante la infección por Zika en el ambiente uterino también podría interferir con el desarrollo fetal ocasionando una clara y definida inmunopatología que lleva a la disfunción placentaria²¹⁸.

Otro tipo de barreras vasculares especializadas también se han podido ver afectadas en procesos inflamatorios. Evidencia de esta afirmación es en la infección con el virus de la encefalitis japonesa (JEV) que se caracteriza por ocasionar inflamación extensa en el sistema nervioso central (SNC) e interrupción de la barrera hematoencefálica (BHE). Datos revelan que tanto el JEV y el virus del Nilo occidental ingresa al Sistema Nervioso Central (NVW), se propagan en las neuronas e inducen la producción de citoquinas y quimiocinas inflamatorias como el interferón gamma (IFN- γ interleucina-8 (IL-8), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e IL-1 β , y el VEGF que contribuyen indirectamente a la degradación del BHE afectando las uniones estrechas entre las células que determinan y limitan la permeabilidad

²¹³ TAPPE, Dennis, et al. Cytokine kinetics of Zika virus-infected patients from acute to convalescent phase. *Medical microbiology and immunology*, 2016, vol. 205, no 3, p. 269-273.

²¹⁴ JOHN, Daisy Vanitha; LIN, Yee-Shin; PERNG, Guey Chuen. Biomarkers of severe dengue disease—a review. *Journal of biomedical science*, 2015, vol. 22, no 1, p. 83.

²¹⁵ KAM, Yiu-Wing, et al. Specific biomarkers associated with neurological complications and congenital central nervous system abnormalities from Zika virus-infected patients in Brazil. *The Journal of infectious diseases*, 2017, vol. 216, no 2, p. 172-181.

²¹⁶ GERARDIN, Patrick, et al. Multidisciplinary prospective study of mother-to-child chikungunya virus infections on the island of La Reunion. *PLoS medicine*, 2008, vol. 5, no 3.

²¹⁷ ADIBI, Jennifer J., et al. Teratogenic effects of the Zika virus and the role of the placenta. *The Lancet*, 2016, vol. 387, no 10027, p. 1587-1590.

²¹⁸ *Ibidem*.

celular, afectando la funcionalidad de la Barrera-Hemato- Encefálica facilitando así el ingreso del virus al cerebro^{219,220,221,222}.

Frente a estos hallazgos se podría deducir que las respuestas inflamatorias durante la fase aguda de las arbovirosis tiene una similitud en la manifestación de la respuesta inmune es así como se evidencia en los síntomas que a nivel general en fase de viremia se parecen; fiebre, dolor articular, rash, ojos rojos, dolor de cabeza y musculares. La gran diferencia existe al momento del desenlace de las diferentes enfermedades lo cual hace única y específica tanto los síntomas como las citoquinas involucradas en ese giro de la enfermedad.

En el caso del dengue las principales citoquinas involucradas en el aumento de la permeabilidad vascular y la necesidad de los niveles elevados de la IL-10 como del VEGF entre otras, para permitir el paso del virus, células infectadas y de la respuesta inflamatoria a localizarse. Pero en la artritis desarrollada posterior a la infección por Chikungunya estas dos citoquinas han demostrado una participación casi imperceptible. En el caso de la VEGF esta se requiere para el mismo momento que en el dengue, solo que ella retorna a sus niveles basales debido a que el tropismo viral no es el endotelio si no las articulaciones. Por esta razón su detección es baja.

Frente al Zika sus desenlaces más importantes se relacionan con el sistema nervioso central frente al Guillain-Barre o durante la gestación a través de la placenta con la llegada del virus y células infectadas al compartimento fetal

²¹⁹ SAXENA, Vandana; BOLLING, Bethany G.; WANG, Tian. West Nile Virus. Clinics in laboratory medicine, 2017, vol. 37, no 2, p. 243.

²²⁰ BRIESE, Thomas, et al. Identification of a Kunjin/West Nile-like flavivirus in brains of patients with New York encephalitis. The Lancet, 1999, vol. 354, no 9186, p. 1261-1262.

²²¹ AL-OBAIDI, Mazen M. Jamil, et al. Japanese encephalitis virus disrupts blood-brain barrier and modulates apoptosis proteins in THBMEC cells. Virus research, 2017, vol. 233, p. 17-28.

²²² LAZEAR, Helen M., et al. Interferon-λ restricts West Nile virus neuroinvasion by tightening the blood-brain barrier. Science translational medicine, 2015, vol. 7, no 284, p. 284ra59-284ra59.

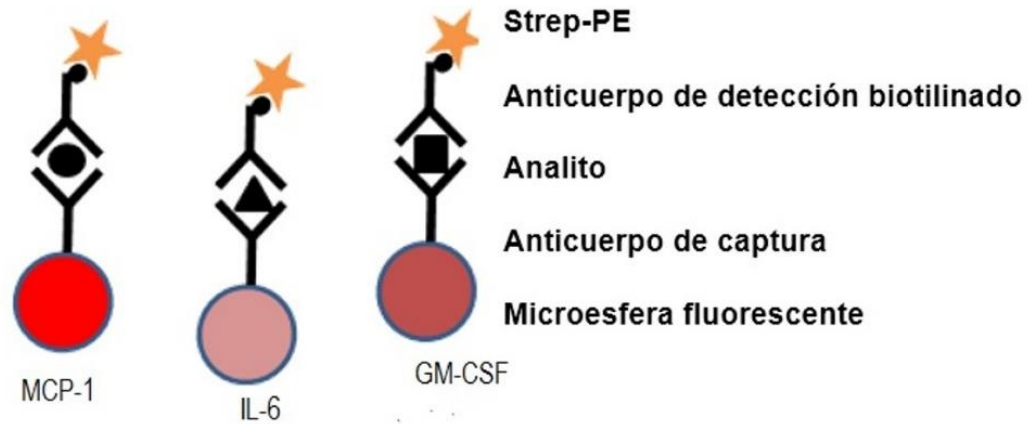
ocasionando problemas congénitos. Claramente el Dengue y Zika hacen parte del mismo género Flavivirus compartiendo similitudes en la estructura viral, lo cual ha llevado a pensar que Zika su órgano diana también es el endotelio o uno de sus blancos.

3.9 TECNICA EMPLEADA PARA ANALISIS DE LOS NIVELES DE LAS CITOQUINAS

MILLIPLEX ofrece la más amplia selección de analitos (citoquinas), utilizando la tecnología xMAP (Luminex) que permite un rápido y simultáneo serodiagnóstico de una amplia variedad de infecciones. Este método analítico utiliza una mezcla de micro esferas magnéticas (Magplex, Luminex Corporation) cada una de las cuales está recubierta con un anticuerpo de captura específico.

El principio es similar al ELISA sándwich de captura, excepto, en que el anticuerpo de captura está adherido a microesferas en suspensión y no directamente al pocillo. Las microesferas se recubren con el anticuerpo monoclonal de captura, específico para una citoquina, marcados internamente con una combinación única de componentes fluorescentes. Mediante la mezcla de diferentes microesferas se pueden detectar hasta 100 analitos simultáneamente. Las microesferas específicas de las citoquinas de interés se incuban con la muestra a analizar en una placa de 96 pocillos. Después de lavar para remover la proteína que no se ha unido, se añaden los anticuerpos de detección biotinilados (de nuevo específicos para cada citoquina de interés). Y finalmente se agrega la estreptavidina-ficoeritrina (Strept-PE), que se une a los anticuerpos de detección. (Ver figura 11)

Figura 11. Principio de la técnica empleada para el análisis de los niveles de las citoquinas mediante el ensayo de Milliplex.



Fuente: GARLAND, Russell. KWS Biotest. Analisis Múltiplex de citoquinas. Traducido por: Traducción: Jesús Gil, Würzburg, DE (SEI). [en línea]. British Society for Immunology. Disponible en: <http://inmunologia.eu/tecnicas-experimentales/analisis-multiplex-citocinas>.

3.10 BIOMARCADORES

Un biomarcador es una observación biológica que sustituye e idealmente predice un punto final clínicamente relevante o un resultado intermedio que es más difícil de observar. El uso de biomarcadores clínicos es más fácil y menos costoso que la medición directa del punto clínico final, y los biomarcadores generalmente se miden en un período de tiempo más corto. Se pueden usar en la detección, diagnóstico, caracterización y monitoreo de enfermedades; como indicadores pronósticos; para desarrollar intervenciones terapéuticas individualizadas; para predecir y tratar reacciones adversas a medicamentos; para identificar tipos de células; y para estudios farmacodinámicos y de dosis-respuesta.

Sin embargo, la utilidad de los biomarcadores está ligada estrechamente con la relación fisiopatológica entre el biomarcador y el criterio de valoración clínico relevante. Los buenos biomarcadores deben ser medibles con poca o ninguna variabilidad, deben tener una relación señal / ruido considerable y deben cambiar

de manera rápida y confiable en respuesta a los cambios en la condición o su terapia etc.²²³.

Los ejemplos más recientes incluyen a la procalcitonina como biomarcador para el cáncer medular de tiroides, mutaciones de KRAS como biomarcadores pronósticos en cáncer de páncreas y microRNARs -21 sérico como biomarcador de diagnóstico en cáncer de mama.

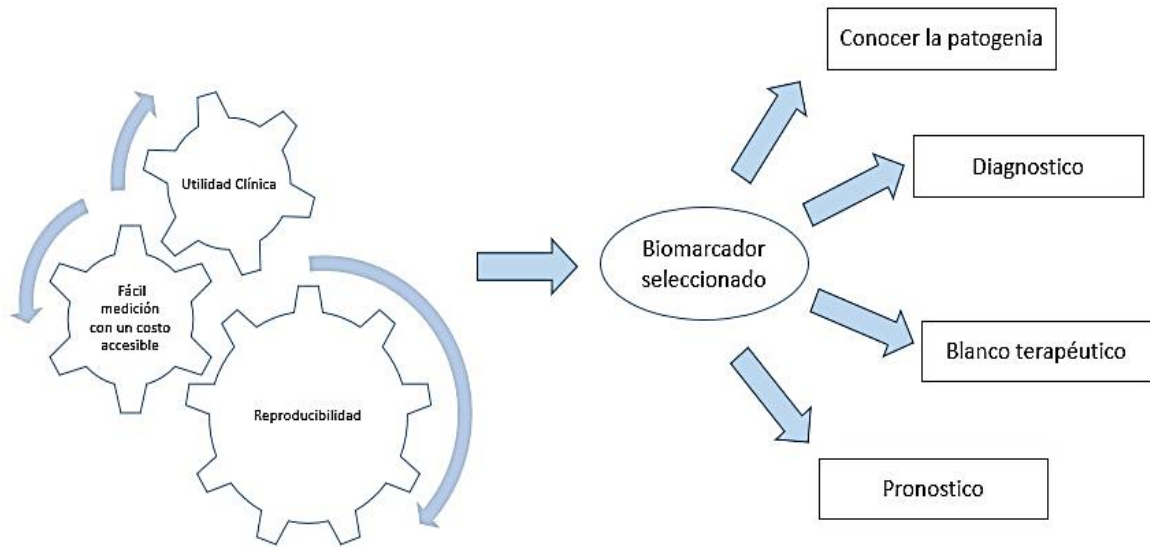
3.10.1 Usos de los Biomarcadores. Los biomarcadores clínicos tienen las ventajas de ser más simples y menos costosos de medir que los puntos clínicos finales y permiten analizar repetidamente y durante un periodo de tiempo más corto los análisis.

Los biomarcadores se pueden usar para: (ver figura 12)

- Screening para enfermedades
- Caracterizar enfermedades (p. ej., trinucleótido se repite Pearson, 2011)
- Descartar, diagnosticar, estadificar y monitorear enfermedades
- Informar pronóstico
- Individualizar intervenciones terapéuticas por monitorear las respuestas a las terapias o predecir los resultados en respuesta a ellas
- Predecir reacciones adversas a medicamentos
- Predecir y guiar el tratamiento de la toxicidad del fármaco

²²³ ESSACKJEE, Khadijah, et al. Prevalence of and risk factors for chronic arthralgia and rheumatoid-like polyarthritis more than 2 years after infection with chikungunya virus. Postgraduate medical journal, 2013, vol. 89, no 1054, p. 440-447.

Figura 12. Características para la selección de un marcador biológico y sus usos en la investigación clínica.



Fuente: STRIMBU, Kyle Strimbu; TAVEL, Jorge A. What are Biomarkers? Curr Opin VIH SIDA. 2010. Noviembre de 2010, vol. 5, no 6. <https://dx.doi.org/10.1097%2FCOH.0b013e32833ed177>.

3.10.2 Posibles escenarios del uso e intervenciones de los Biomarcadores.

Figura 13. Escenario 1



Fuente: ARONSON, Jeffrey K.; FERNER, Robin E. Biomarkers—a general review. Current protocols in pharmacology, 2017, vol. 76, no 1, p. 9.23. 1-9.23. 17.

Figura 14. Escenario 2



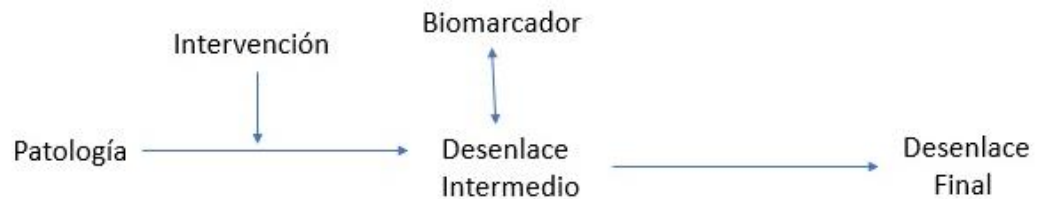
Fuente: ARONSON, Jeffrey K.; FERNER, Robin E. Biomarkers—a general review. Current protocols in pharmacology, 2017, vol. 76, no 1, p. 9.23. 1-9.23. 17.

Figura 15. Escenario 3



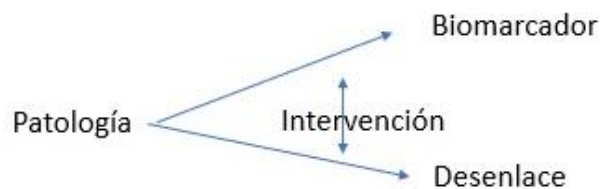
Fuente: ARONSON, Jeffrey K.; FERNER, Robin E. Biomarkers—a general review. Current protocols in pharmacology, 2017, vol. 76, no 1, p. 9.23. 1-9.23. 17.

Figura 16. Escenario 4.



Fuente: ARONSON, Jeffrey K.; FERNER, Robin E. Biomarkers—a general review. Current protocols in pharmacology, 2017, vol. 76, no 1, p. 9.23. 1-9.23. 17.

Figura 17. Escenario 5.



Fuente: ARONSON, Jeffrey K.; FERNER, Robin E. Biomarkers—a general review. Current protocols in pharmacology, 2017, vol. 76, no 1, p. 9.23. 1-9.23. 17.

Cuadro 1. Criterios de Bradford Hill aplicado a los Biomarcadores.

Características	Características del uso de Biomarcadores
Fuerza	Fuerte asociación entre marcador y resultado, o entre los efectos de cada tratamiento.
Consistencia	La asociación persiste en diferentes individuos, en diferentes lugares, en diferentes circunstancias y en diferentes momentos.
Especificidad	El marcador está asociado con una enfermedad específica.
Temporalidad	Se producen los cursos temporales de los cambios en el marcador y el resultado paralelamente.
Gradiente biológico(dosis-respuesta)	El aumento de la exposición a una intervención produce un aumento de efectos sobre el marcador y la enfermedad.
Plausibilidad	Mecanismos creíbles conectan el marcador, la patogénesis de la enfermedad y el modo de acción de la intervención
Coherencia	La asociación es consistente con la historia natural de la enfermedad y el marcador
Evidencia experimental	Un intervención da resultados consistentes con la asociación
Analogía	Hay un resultado similar del cual se puede aducir una relación

Fuente: ARONSON, Jeffrey K.; FERNER, Robin E. Biomarkers—a general review. Current protocols in pharmacology, 2017, vol. 76, no 1, p. 9.23. 1-9.23. 17.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar los niveles de las citoquinas INF- α 2, TNF- α , IL-6, IL-8, MCP-1, MG-CSF en suero durante la fase subaguda como predictores del compromiso articular crónico asociado a Chikungunya.

4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Describir los niveles de citoquinas en los grupos sin compromiso articular, poliartropatia crónica y compromiso articular intermedio.
- Establecer diferencias en los niveles de las citoquinas INF- α 2, TNF- α , IL-6, IL-8, MCP-1, MG-CSF entre poliartropatia crónica y recuperados
- Estimar el efecto de las citoquinas predictoras al modelo previo derivado del trabajo “Evaluación de las manifestaciones reumatológicas y las alteraciones paraclínicas luego de dos años de la presentación de la infección por virus de Chikungunya en un brote en el municipio de Capitanejo, Santander”

5. JUSTIFICACION

En todo el mundo, los alfavirus transmitidos por mosquitos son una causa importante de enfermedad parecida a la artritis infecciosa. Los alfavirus artritógenos que incluye el virus chikungunya han tenido una importante actuación en Europa y Asia. Con la diseminación del virus Chikungunya en el Caribe oriental en el 2014, se convirtió en un tema de gran preocupación para Estados Unidos, América Latina y América del Sur²²⁴.

Colombia por sus características geográficas, hídricas y los altos índices del vector *Aedes aegypti*, es un territorio adecuado para la expansión, mantenimiento y posibilidad de reincidencia de arbovirosis como Dengue, Zika y Chikungunya. La entrada del virus Chikungunya a Colombia rápidamente se convirtió en una epidemia. Lo anterior se evidencio con el reporte en el aumento de los casos al poco tiempo de la epidemia, siendo Santander uno de los departamentos más afectados²²⁵. De acuerdo a lo anterior se puede afirmar que la infección por Chikungunya configura un problema de salud pública no sólo por el cuadro articular agudo sufrido en los pacientes afectados; encontrándose presente en el 90% de los pacientes a 3 semanas, 48% a seis meses y aproximadamente 5.6% con posterior desarrollo de artropatía simétrica crónica similar a artritis reumatoide afectando la calidad de vida de quienes la padecen²²⁶.

Pocos estudios han informado sobre el papel de las citoquinas y las quimiocinas en el proceso inflamatorio del compromiso articular crónico posterior a la infección por Chikungunya en muestras humanas, y a pesar de sus importantes hallazgos, los

²²⁴ RYMAN, Kate D.; KLIMSTRA, William B. Closing the gap between viral and noninfectious arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, vol. 111, no 16, p. 5767-5768.

²²⁵ COLOMBIA. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Informe final del evento Chikungunya. [en línea]. 2014. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/Chikungun%CC%83a%202014.pdf>.

²²⁶ THIBERVILLE, Simon-Djamel, et al. Chikungunya fever: epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. *Antiviral research*, 2013, vol. 99, no 3, p. 345-370.

resultados no han permitido aun la selección de aquellas candidatas para mejorar el pronóstico de la fase crónica. Esto probablemente debido a la heterogeneidad de estas citoquinas y quimioquinas en diferentes poblaciones de estudio, los tamaños de muestra pequeños y la falta de validación²²⁷.

Frente a la evidencia proporcionada por los estudios en diferentes poblaciones se puede afirmar que el compromiso articular crónico está fuertemente asociado con la respuesta inflamatoria desencadenada durante la fase aguda y su no retorno a niveles basales, comportándose no solo como los principales mediadores de la inflamación y destrucción articular, sino también como una causa de la enfermedad en su estado crónico, contribuyendo significativamente a la generación y el mantenimiento del dolor²²⁸.

De acuerdo a lo mencionado anteriormente este estudio se propone evaluar la respuesta inflamatoria de 5 citoquinas INF- α 2, IL-6, MCP-1, MG-CSF, TNF- α seleccionadas bajo una revisión sistemática de la evidencia en muestras humanas frente a la infección por el virus Chikungunya^{229,230,231,232}, cuyos resultados indican la relevancia de estas en la respuesta del huésped a la infección viral por

²²⁷ MATHEW, Ann J., et al. Chikungunya infection: a global public health menace. *Current allergy and asthma reports*, 2017, vol. 17, no 2, p. 13.

²²⁸ SCHAIBLE, Hans George, et al. The role of proinflammatory cytokines in the generation and maintenance of joint pain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, vol. 1193, no 1, p. 60-69.

²²⁹ HOARAU, Jean-Jacques, et al. Persistent chronic inflammation and infection by Chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response. *The Journal of Immunology*, 2010, vol. 184, no 10, p. 5914-5927.

²³⁰ CHAAITHANYA, Itta Krishna, et al. Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. *Viral immunology*, 2011, vol. 24, no 4, p. 265-271.

²³¹ SIMARMATA, Diane, et al. Early clearance of Chikungunya virus in children is associated with a strong innate immune response. *Scientific reports*, 2016, vol. 6, no 1, p. 1-8.

²³² WAUQUIER, Nadia, et al. The acute phase of Chikungunya virus infection in humans is associated with strong innate immunity and T CD8 cell activation. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 204, no 1, p. 115-123.

Chikungunya^{233,234,235,236}. Estas citoquinas representan los grupos de clasificación de acuerdo a su función frente a la respuesta inmunitaria: Citoquinas proinflamatorias (TNF- α , IL-6,), citoquinas antiinflamatorias (INF- α 2.), quimioquinas y factores de crecimiento (MCP-1, GM-CSF)

Aunque la respuesta patológica e inmunológica a la infección por el virus Chikungunya ha sido informada sin ser suficiente en los últimos años. Sin embargo, el perfil clínico y la respuesta inmune siguen siendo en gran medida desconocidos. Este estudio se propone evaluar distintos grupos de edad, en fases de la evolución clínica de la enfermedad condiciones clínicas y mediante el estudio de citoquinas circulantes en suero para ampliar el conocimiento y posibilidades para mejorar el pronóstico de la enfermedad, con el potencial de impactar la toma de decisiones clínica y el manejo del paciente

²³³ CHOW, Angela, et al. Persistent arthralgia induced by Chikungunya virus infection is associated with interleukin-6 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 203, no 2, p. 149-157.

²³⁴ JALLER RAAD, Juan, et al. Immunological response of a population from the Caribbean region of Colombia infected with the chikungunya virus. *Revista Colombiana de Reumatología*, 2016, vol. 23, no 2, p. 85-91.

²³⁵ CHIRATHAWORN, Chintana, et al. Cytokine levels in patients with chikungunya virus infection. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 2013, vol. 6, no 8, p. 631-634.

²³⁶ REDDY, Vijayalakshmi, et al. Correlation of plasma viral loads and presence of Chikungunya IgM antibodies with cytokine/chemokine levels during acute Chikungunya virus infection. *Journal of medical virology*, 2014, vol. 86, no 8, p. 1393-1401.

6. HIPOTESIS

6.1 HIPÓTESIS 1

Los niveles de las citoquinas moduladoras (INF- α 2) pro-inflamatorias (TNF- α , IL-6) quimioquinas (MCP-1) y factores de crecimiento (MG-CSF) tienen un valor pronóstico para el compromiso articular crónico durante la fase Subaguda de la enfermedad.

6.2 HIPÓTESIS 0

Los niveles de las citoquinas moduladoras (INF- α 2) pro-inflamatorias (TNF- α , IL-6) quimioquinas (MCP-1) y factores de crecimiento (MG-CSF) no tienen un valor pronóstico para el compromiso articular crónico durante la fase Subaguda de la enfermedad.

7. METODOLOGIA

7.1 TIPO DE ESTUDIO

La hipótesis de estudio fue evaluada mediante un diseño de casos y controles anidado a una cohorte prospectiva.

7.2 POBLACION DE ESTUDIO

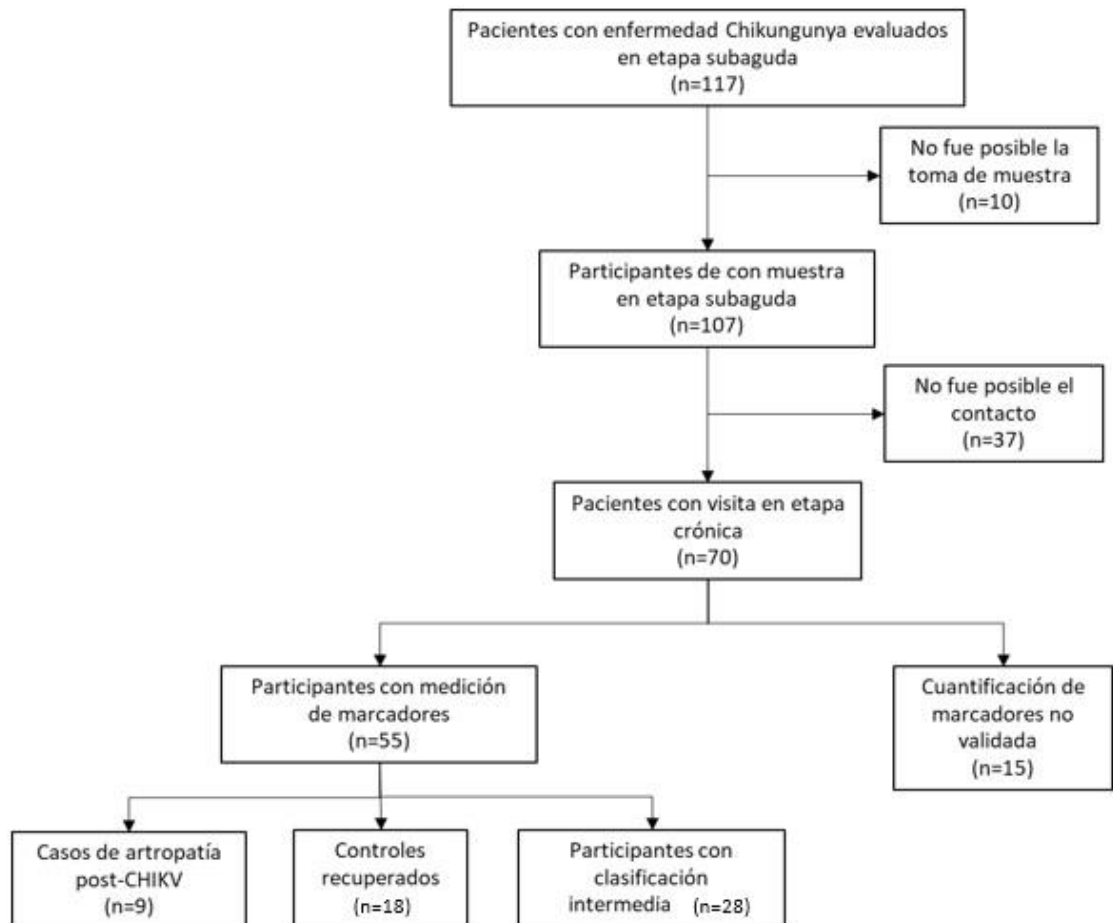
Capitanejo, es un municipio del departamento de Santander ubicado en la ribera del río Chicamocha, situado a 197 km de Bucaramanga. Cuenta con 5593 habitantes y 3120 en zona urbana²³⁷. La población incluida en el estudio fue seleccionada de una cohorte ensamblada en el marco de la atención al brote epidémico del Chikungunya durante el 2015 por el Grupo de Epidemiología Clínica de la Universidad Industrial en acompañamiento con la Secretaría de Salud del Departamento de Santander. Los pacientes cuentan con información y muestras de la fase subaguda (con una media de 45 días) y la fase crónica (con una media de 25.2 meses). Este seguimiento durante dos años y recolección de las muestras a los pacientes permitió la selección adecuada de los casos y los controles como se detalla en el anexo 1.

7.2.1 Tamaño de muestra. Durante la primera visita en la fase subaguda (febrero de 2015) se atendieron 117 pacientes con sintomatología sugestiva de la enfermedad por Chikungunya. La colección de muestras en etapa subaguda fue posible en 107 pacientes. Luego de contacto telefónico en febrero del 2017, se logró contactar a 70 personas para realizar una valoración reumatológica estructurada y coleccionar una nueva muestra, 37 pacientes no pudieron ser valorados nuevamente.

²³⁷ CAPITANEJO. Nuestro Municipio. [en línea]. Disponible en: <http://www.capitanejo-santander.gov.co/municipio/nuestro-municipio>

En el presente estudio de casos y controles anidado a una cohorte prospectiva, se realizó la medición de los marcadores a los 70 casos de Chikungunya con información y muestras en los dos momentos mencionados. Los resultados de 15 pacientes no fueron validados al presentar un recuento de perlas inferior de 50 en alguno de los marcadores evaluados. Los análisis estadísticos se realizaron con la información de 55 pacientes. Esto se resume en la siguiente figura 18.

Figura 18. Flujograma de selección de casos y controles



7.3 DEFINICION DE CASO Y CONTROL

7.3.1 Caso. Se consideraron como casos aquellos pacientes con infección confirmada por Chikungunya y dolor articular persistente a 24 meses en 4 o más articulaciones, sin evidencia de antecedentes de enfermedad reumática.

7.3.2 Controles.

Control Recuperado: Se consideraron como control 1 aquellos participantes con infección confirmada por Chikungunya, sin antecedentes de historia reumática y SIN compromiso articular crónico en la evaluación a 24 meses de seguimiento.

Control con clasificación Intermedia: En este grupo de controles se incluyen los pacientes con enfermedad confirmada por CHIKV que presentaron 3 o más articulaciones dolorosas con o sin evidencia de enfermedad reumática de base o presencia de 4 o más articulaciones dolorosas con evidencia de enfermedad reumática de base

7.4 CRITERIOS PARA LA SELECCIÓN DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

7.4.1 Criterios de inclusión.

- Pacientes con disponibilidad de muestras en las dos evaluaciones para medición de los marcadores.
- Disponibilidad de información clínica en la visita a 24 meses para realizar la clasificación de caso y controles.

7.4.2 Criterios de exclusión.

- Muestras con más de 2 ciclos de descongelamiento.

7.5 VARIABLES DEL ESTUDIO

7.5.1 Tabla de Variables Independientes.

Tabla x. Tabla de variables independientes

Nombre de variables independiente	Categoría
Edad	Variable cuantitativa discreta
Sexo	Variable cualitativa nominal
Días de enfermedad al momento de la muestra subaguda	Variable cuantitativa continúa
Días de enfermedad al momento de la segunda muestra fase crónica	Variable cuantitativa continúa.
Niveles citoquinas IL-6	Variable cuantitativa continúa.
Niveles citoquinas INF- α 2	Variable cuantitativa continúa.
Niveles citoquinas TNF- α	Variable cuantitativa continúa.
Niveles citoquinas MCP-1	Variable cuantitativa continúa.
Niveles citoquinas MG-CSF	Variable cuantitativa continúa.

7.5.2 Tabla de Variables Clínicas.

Tabla x. Tabla de variables Clínicas

Nombre de variables independiente	Categoría
Dolor articular	Variable cualitativa dicotómica.
Dolor lumbar	Variable cuantitativa continúa.
Test de Squeeze	Variable cuantitativa continúa.
Rigidez matutina	Variable cuantitativa continúa.
Entesitis	Variable cualitativa dicotómica.
STC	Variable cualitativa dicotómica.
Fibromialgia	Variable cualitativa dicotómica.
Artrosis de rodilla	Variable cualitativa dicotómica.
Artrosis de IFD	Variable cualitativa dicotómica.
SD Manguito	Variable cualitativa dicotómica.
Tenosinovitis en mano	Variable cualitativa dicotómica.
Secuelas FX cadera	Variable cualitativa dicotómica.
Epicondilitis lateral	Variable cualitativa dicotómica.
Gota	Variable cualitativa dicotómica.
Diabetes	Variable cualitativa dicotómica.

Nombre de variables independiente	Categoría
Hipertensión	Variable cualitativa dicotómica.
Osteoartritis	Variable cualitativa dicotómica.
Artritis reumatoide	Variable cualitativa dicotómica.
Fibromialgia	Variable cualitativa dicotómica.
Lupus eritematoso	Variable cualitativa dicotómica.
Dolor articular	Variable cualitativa dicotómica.
Dolor lumbar	Variable cualitativa dicotómica.
Dolor muscular	Variable cualitativa dicotómica.
Rigidez	Variable cualitativa dicotómica.
Estado de ánimo o sueño perturbado	Variable cualitativa dicotómica.
Test Squitch positivo	Variable cualitativa dicotómica.
FR Visita 1 (mg/L)	Variable cuantitativa continúa.
FR Visita 2 (mg/L)	Variable cuantitativa continúa.
PCR Visita 1	Variable cuantitativa continúa.
PCR Visita 2	Variable cuantitativa continúa.
IgG Visita 1 (Unidades panbio)	Variable cuantitativa continúa.
IgG Visita 2 (Unidades panbio)	Variable cuantitativa continúa.

7.5.3 Variables Dependiente. Para evaluar la asociación entre los niveles de las citoquinas GM-CSF, MCP-1, IL-6, IL-8, INF- α 2, TNF- α , se consideró como variable dependiente la poliartropatía post-CHIKV. (Ver definición de caso).

7.5.4 Potenciales Variables de Confusión. Se consideraron como variables de confusión, edad, género, ya que pueden estar asociadas con el desarrollo de cronicidad de la enfermedad.

7.6 MUESTRAS BIOLÓGICAS A ANALIZAR

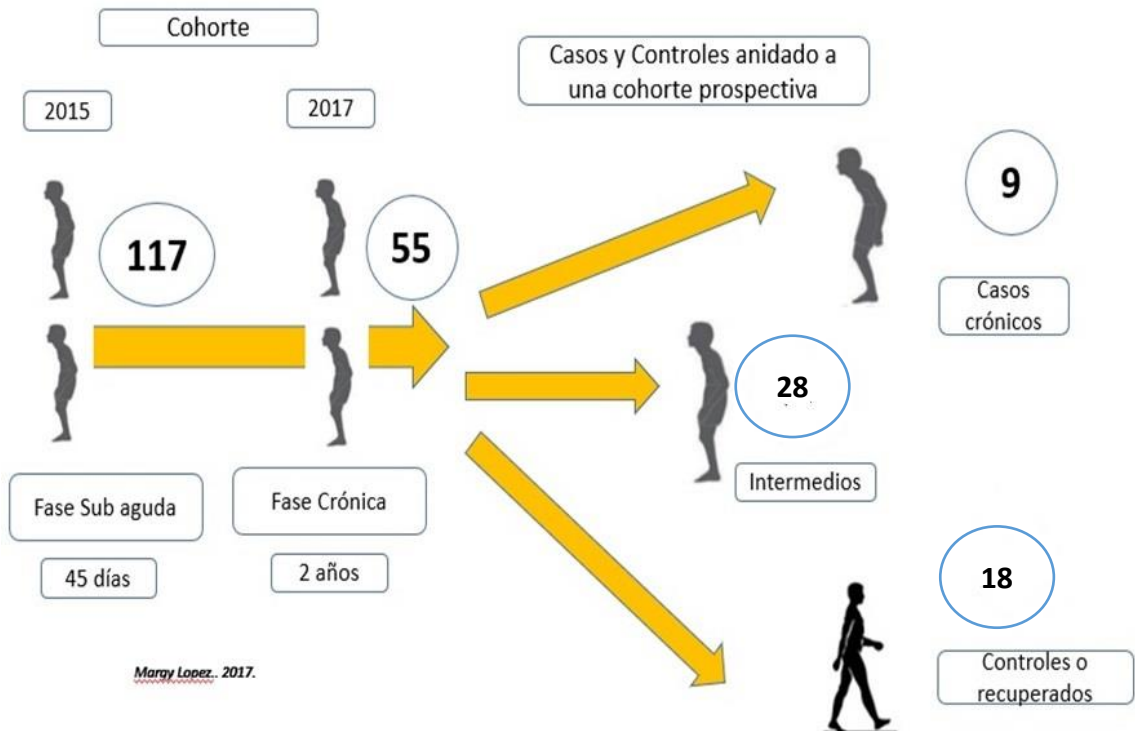
Las muestras a analizar fueron sueros humanos almacenados a -80°C en el Repositorio del Grupo de Epidemiología Clínica. Este almacenamiento se llevó a cabo desde la obtención del suero hasta el momento de realizar los ensayos.

7.6.1 Procedimiento de recolección. Se seleccionaron pacientes de las bases de datos del estudio *“Evaluación de las manifestaciones reumatológicas y las*

alteraciones paraclínicas luego de dos años de la presentación de la infección por virus de Chikungunya en un brote en el municipio de Capitanejo, Santander” que cumplan con los criterios de inclusión.

Las muestras de estos pacientes fueron evaluadas al medir los niveles de las citoquinas INF- α 2, IL-6, TNF- α , MCP-1, IL-8, MG-CSF, en 2 momentos de la enfermedad, durante la fase subaguda y en la fase con compromiso articular crónico. Con el fin de identificar si los pacientes con compromiso articular crónico presentaban niveles elevados de las citoquinas seleccionadas (INF- α 2, IL-6, TNF- α , MCP-1, IL-8, MG-CSF) en la fase crónica, pudiendo establecer asociación. Y al contar con las muestras en fase subaguda y crónica de los pacientes, se pudo hacer un seguimiento de los niveles de estas citoquinas en dos fases de la enfermedad. Resumido en la figura 19.

Figura 19. Esquema metodológico del estudio



El análisis de las muestras se realizó mediante el ensayo milliplex que permite medir múltiples análisis de una misma muestra al mismo tiempo.

Principio de la prueba: Es similar al ELISA sándwich de captura, excepto en que el anticuerpo de captura está adherido a microesferas en suspensión y no directamente al pocillo. Las microesferas se recubren con el anticuerpo monoclonal de captura, específico para una citocina, y se marcan internamente con una combinación única de componentes fluorescentes. Mediante la mezcla de diferentes microesferas se pueden detectar hasta 100 análisis simultáneamente.

Las microesferas específicas de las citocinas de interés se incubaron con la muestra a analizar en una placa de 96 pocillos. Después se lavó para remover la proteína que no se había unido, posteriormente los anticuerpos de detección biotilados (de nuevo específicos para cada citocina de interés) se añadieron. Y finalmente se añadió la estreptavidina-ficoeritrina (Strep-PE), que se une a los anticuerpos de detección.

7.7 MEDICION DE LOS NIVELES DE LAS CITOQUINAS

Para la medición de los niveles séricos de la citoquina moduladora $\text{INF-}\alpha_2$, las pro-inflamatorias ($\text{TNF-}\alpha$, IL-6), la quimioquina MCP-1 y el factor de crecimiento GM-CSF, se emplearon estuches Human Cytokine/Chemokine Magentic Bead Panel de la casa comercial EMD Millipore. (HCYTOMAG-60K). Las pruebas fueron realizadas en el equipo Magpix (Luminex) ubicado en el Laboratorio Central de la Red Aedes ubicado en el edificio de Investigación de la sede Guatiguará. Previo al montaje del ensayo Milliplex, los sueros fueron extraídos del ultracongelador (-80°C), para someterlos a un proceso de descongelamiento gradual los sueros fueron sometidos a temperatura de -20°C , 4°C y finalmente 25°C para su procesamiento.

7.7.1 Determinación de los niveles de Citoquinas mediante la técnica de Milliplex. La prueba MILLIPLEX ofrece la más amplia selección de analitos (citoquinas), utilizando la tecnología xMAP (Luminex) que permite un rápido y simultáneo serodiagnóstico de una amplia variedad de infecciones. Este método analítico utiliza una mezcla de micro esferas magnéticas (Magplex, Luminex Corporation) cada una de las cuales está recubierta con un anticuerpo de captura específico.

El principio es similar al ELISA sándwich de captura, excepto, en que el anticuerpo de captura está adherido a microesferas en suspensión y no directamente al pocillo. Las microesferas se recubren con el anticuerpo monoclonal de captura, específico para una citoquina, marcados internamente con una combinación única de componentes fluorescentes. Mediante la mezcla de diferentes microesferas se pueden detectar hasta 100 analitos simultáneamente. Las microesferas específicas de las citoquinas de interés se incuban con la muestra a analizar en una placa de 96 pocillos. Después de lavar para remover la proteína que no se ha unido, se añaden los anticuerpos de detección biotinilados (de nuevo específicos para cada citoquina de interés). Y finalmente se agrega la estreptavidina-ficoeritrina (Strep-PE), que se une a los anticuerpos de detección.

7.7.2 Curva de calibración y cálculo del resultado. Para la medición de los niveles de las citoquinas, se realizó inicialmente la estandarización de los patrones de concentración conocida (3.2, 16, 80, 400, 2,000 pg/ml). Las diferentes concentraciones fueron preparadas siguiendo las indicaciones de la casa comercial, como se muestra en la tabla 2.

Cuadro 2. Dilución de los patrones de concentración conocida para el ensayo de Milliplex.

Standard Concentration (pg/mL)	Volume of Deionized Water to Add	Volume of Standard to Add
10,000	250 µL	0

Standard Concentration (pg/mL)	Volume of Assay Buffer to Add	Volume of Standard to Add
2,000	200 µL	50 µL of 10,000 pg/mL
400	200 µL	50 µL of 2000 pg/mL
80	200 µL	50 µL of 400 pg/mL
16	200 µL	50 µL of 80 pg/mL
3.2	200 µL	50 µL of 16 pg/mL

Las concentraciones de las citoquinas fueron calculadas por el software xPONENT versión 4.2, empleando la fórmula: $Y = a + \frac{(b-a)}{1 + ((x/c)^d)^f}$ (Logistic 5P Weighted). Las curvas de calibración obtenidas por los patrones de trabajo de las 7 citoquinas mostraron valores r superiores a 0.88. Las evaluaciones de los patrones de trabajo fueron realizadas por duplicado, mientras que las muestras tuvieron una única medición (Ver en Anexo 2, las curvas de calibración de cada una de las citoquinas evaluadas). No fue validada aquella medición en la que el recuento de perlas fuese menor de 50.

8. CONSIDERACIONES ETICAS

El presente proyecto es un estudio retrospectivo de casos y controles, cuyas muestras, historias clínicas e instrumentos de recolección de información de los casos como los controles provienen de un estudio base realizado en los años 2015 y 2017 aprobado por el comité ética de la UIS (CEINCI) por tanto, no se tendrá contacto directo con pacientes ni se tomarán muestras adicionales a las que ya se tengan almacenadas. Al tratarse de un estudio de carácter observacional y retrospectivo sin intervención en pacientes, esta propuesta se clasifica como como "Investigación sin riesgo". De acuerdo con la Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud²³⁸.

De acuerdo a la Ley Estatutaria 1581 de 2012, Decreto 1377 de 2013 y Resolución de Rectoría de la Universidad Industrial de Santander N° 1227 de agosto de 22 de 2013, sobre el tratamiento de datos de los pacientes, se continuará con la codificación propia del estudio base. En ningún momento se revelarán datos personales como nombre, número de documento de identidad o fecha de nacimiento. Las historias clínicas e instrumentos de recolección de información que será revisada de los pacientes, tendrán el mismo trato que determina la ley colombiana para las instituciones de salud, considerando que se trata de un documento privado, obligatorio y sometido a reserva. En ningún momento se sumará información a la historia clínica, ni se anotarán datos del paciente en ella^{239,240}.

²³⁸ UIS – Universidad Industrial de Santander. Protocolo de Seguridad Química. Manipulación Segura de Sustancias Químicas. TTH.01. Versión 1. 2012.

²³⁹ RODRIGUEZ-MORALES, Alfonso J., et al. Would be IL-6 a missing link between chronic inflammatory rheumatism and depression after chikungunya infection?. *Rheumatology international*, 2017, vol. 37, no 7, p. 1149-1151.

²⁴⁰ RODRÍGUEZ-MORALES, Alfonso J., et al. Chronic depression and post-chikungunya rheumatological diseases: Is the IL-8/CXCL8 another associated mediator?. *Travel medicine and infectious disease*, 2017, vol. 18, p. 77.

Basados en los “Principles of biomedical ethics” de Beauchamp y Childress se analizan los 4 principios éticos en lo referente a este estudio:

- Autonomía: Este principio no aplica, ya que es un estudio observacional, sin intervención de pacientes; por ello no se afecta desde ningún punto de vista la dignidad del sujeto.
- Beneficencia: No aplica directamente a los pacientes, debido a que manejaremos solo historias clínicas y muestras ya almacenadas. Pero sí aplica y se cumple este principio ya que este estudio puede contribuir a información que permita aclarar un poco como puede influir la respuesta inflamatoria del Chikungunya en la etapa de cronicidad, lo cual beneficiara potencialmente a generaciones futuras.
- No maleficencia: Al tratarse de un estudio sin intervención en pacientes que usara muestras e información ya recolectada y almacenada no ocasionara posibles daños a la comunidad.
- Justicia: Al no involucrar pacientes, el principio de justicia no aplica ya que se refiere a la obligación de igualdad en los tratamientos y, en lo que respecta al estado, a la equitativa distribución de recursos para la sanidad, los hospitales, etc.²⁴¹.

Este estudio cuenta con la aprobación del Comité de Ética de la UIS CEINCI. (Ver anexo C)

²⁴¹ THANAPATI, Subrat, et al. Impaired NK cell functionality and increased TNF- α production as biomarkers of chronic chikungunya arthritis and rheumatoid arthritis. *Human immunology*, 2017, vol. 78, no 4, p. 370-374.

9. ANALISIS DE DATOS

Se describieron las características sociodemográficas y clínicas de la población de estudio utilizando medidas de tendencia central y dispersión (media con la desviación estándar o mediana con el rango intercuartílico). Las variables categóricas, se describirán empleando proporciones expresadas en porcentajes. La normalidad de las variables se verificó mediante la prueba de Shapiro Wilk. La evaluación de las diferencias entre los casos y controles para variables cuantitativas y cualitativas, se realizó mediante la prueba de suma de rangos y prueba de fisher, respectivamente.

Posteriormente, se realizó un análisis multivariado mediante el modelo de regresión logística que incluyó las variables de confusión edad y sexo, utilizando como variable de salida compromiso articular crónico en los términos ya definidos.

10. RESULTADOS

La población incluida en este estudio muestra características demográficas y clínicas similares a la población inicial evaluada en la cohorte de Capitanejo (ver figura 18). La edad de los participantes fue de 57.4 ± 17.8 años, con un predominio de mujeres enfermas (80.0%).

El 54.6% de los pacientes al momento del ingreso se encontraban con dolor articular, 12.7% con dolor muscular, 16.4% dolor lumbar, 38.2% rigidez, 7.3% entesitis y 23.6% alteración del estado de ánimo y sueño, (ver tabla 3). Ninguno de los pacientes reportó artritis reumatoide, lupus eritematoso o fibromialgia al momento de ingreso al estudio.

Cuadro 3. Características demográficas y clínicas en los diferentes grupos poblacionales en la primera evaluación.

Variable n (%)	Grupo Poblacional		
	Población total (n=107)	Población con dos evaluaciones (n=70)	Población con medición de marcadores (n=55)
Edad †	56.2±19.3	58.3±17.5	57.4±17.8
Femenino	80 (74.7)	55 (78.6)	44 (80.0)
Diabetes	9 (8.4)	6 (8.57)	5 (9.1)
Hipertensión	14 (13.1)	11 (15.7)	11 (20.0)
Osteoartritis	6 (5.61)	5 (7.1)	5 (9.1)
Artritis reumatoide	1 (0.93)	0 (0)	0 (0)
Fibromialgia	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Lupus eritematoso	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Dolor articular	51 (47.7)	33 (47.1)	30 (54.6)
Dolor lumbar	17 (15.9)	9 (12.9)	9 (16.4)
Dolor muscular	12 (11.2)	8 (11.4)	7 (12.7)
Rigidez	34 (31.8)	24 (34.3)	21 (38.2)
Estado de ánimo o sueño perturbado	18 (16.8)	14 (20.0)	13 (23.6)
Entesitis	5 (4.7)	4 (5.7)	4 (7.3)

†Datos expresados en $\bar{x} \pm DE$ *Datos expresados en mediana (RIC)

La edad de los pacientes en el momento de la inclusión al estudio fue de 52.2 ± 11.1 , 62.7 ± 15.4 y 52.7 ± 22.3 años en los casos de Chikungunya crónico, intermedio y recuperados, respectivamente. Permitiendo aseverar que, las edades entre los pacientes de los tres grupos no son estadísticamente diferentes (*valor* $p \geq 0.05$). El comportamiento de la variable sexo, no evidencian diferencias estadísticamente significativas entre los grupos evaluados (ver tabla 4).

Cuadro 4. Características demográficas de la población seleccionada para la evaluación de marcadores

Variable ($\bar{x} \pm DS$)	Poliartropatía n= 9	Intermedio n=28	Recuperados n=18	Valor p		
				Poliartropatía vs. Recuperado	Poliartropatía vs. Intermedio	Intermedio vs. Recuperado
Edad	52.2±11.1	62.7±15.4	52.7±22.3	0.4712	0.1369	0.0734
Femenino*	7(15.9)	25(56.8)	12(27.3)	0.45	0.352	0.067
Visita 1 (días de enfermedad)	39.8±16.4	39.3±23.3	43.3 ± 18.5	0.52	0.6917	0.4167
Visita 2 (meses de enfermedad)	25.1±0.5	25.1±0.7	25.3±0.5	0.3498	0.6503	0.2381

*Datos expresados en n (%). Test de Fisher para sexo, los demás fueron evaluados por el test de Suma de rangos.

10.1 EVALUACIÓN DE CITOQUINAS

Los resultados de las mediciones se presentarán de acuerdo a los objetivos específicos establecidos en este estudio.

Objetivo específico 1. Al evaluar los niveles de las citoquinas seleccionadas e identificar diferencias entre los tres grupos de estudio, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre sus concentraciones en los grupos evaluados durante la fase subaguda y crónica (ver tabla 5). Los niveles de IL-4, IL-10, GM-CSF, IFN- γ e IL-6 estuvieron por debajo del límite de detección de la técnica empleada, lo cual impidió la comparación de sus concentraciones en los grupos.

Cuadro 5. Resultados de los niveles de las citoquinas en los pacientes durante la visita sub-aguda y crónica

Marcador	Visita	Poliartropatía n=9	Intermedio n=28	Recuperados n=18	Valor p		
					Poliartropatía vs. Recuperados	Poliartropatía vs. Intermedio	Recuperado vs. Intermedio
IL-8	Subaguda	47.2(25.9)	49.3(43.8)	62.2(51.9)	0.4404	0.8043	0.4308
	Crónica	248.4(58.4)	201.2(231.5)	56.7(150.7)	0.0803	0.3392	0.0649
MCP-1	Subaguda	682.9(290.7)	678.7(260)	620.2(398.9)	0.9181	0.9154	0.9641
	Crónica	604.0(219.8)	688.0(380.9)	596.6(335.9)	0.9181	0.8043	0.6689
TNF- α	Subaguda	23.4(11.1)	24.4(14.4)	23.6 (20.2)	0.3545	0.2573	0.9641
	Crónica	28.2(11.3)	24.9(14.3)	28.1(33.1)	0.7576	0.4361	0.8307

Datos expresados en mediana (RIC). Prueba de Suma de rangos

Por otro lado, los niveles de la IL-8 para el grupo de poliartropatía crónica aumentaron casi 4 veces más al compararlos con los casos que se recuperaron del cuadro articular. El cambio en la concentración de IL-8 fue de 216.8 y 6.2, en casos de poliartropatía y controles recuperados, respectivamente (ver tabla 6). Se resalta, este comportamiento diferencial entre los casos y los controles; no obstante, sus diferencias muestran importancia marginalmente significativa (valor $p=0.057$). Las citoquinas evaluadas IL-8, MCP-1, TNF- α mostraron concentraciones superiores a las reportadas por Reddy y cols., en población asiática sana (8.8 ± 14.3 pg/ml, 38.7 ± 13.8 pg/ml y 1.7 ± 1.6 pg/ml, respectivamente), con la misma técnica. No existen reportes de la evaluación en población sana con la misma técnica en Colombia o América Latina que permitan ser tomados como valores de referencia²⁴².

²⁴² REDDY, Vijayalakshmi, et al. Correlation of plasma viral loads and presence of Chikungunya IgM antibodies with cytokine/chemokine levels during acute Chikungunya virus infection. Journal of medical virology, 2014, vol. 86, no 8, p. 1393-1401.

Cuadro 6. Evaluación del cambio en los niveles de las citoquinas entre visita subaguda y crónica

Cambio del Marcador	Poliartropatía n=9	Intermedio n=28	Recuperados n=18	Valor p		
				Poliartropatía vs. Recuperados	Poliartropatía vs. Intermedio	Recuperado vs. Intermedio
IL-8	216.8(157.5)	143.2(195.5)	6.2(113.1)	0.057	0.2725	0.0617
MCP-1	-35.2(187.5)	-85.5(376.8)	-20.9(249.4)	0.2368	0.5954	0.405
TNF- α	7.2(6.1)	2.3(11.2)	0.7(13.5)	0.1108	0.0401	0.9283

Datos expresados en mediana (RIC). Prueba de suma de rangos

Objetivo específico 2. Durante la fase crónica, se observó un cambio en la concentración de IL-8 más acentuado (ajustado por edad y sexo). Tabla 7. Este incremento fue más evidente entre casos y controles mujeres que entre los mismos grupos en hombres [Mujeres OR=1.10 (IC95%: 0.99-1.21), p=0.064; Hombres OR=0.99 (IC95%: 0.94-1.04), p=0.761], lo cual sugiere un posible efecto modificador del sexo que deberá ser evaluado con un mayor poder estadístico en estudios posteriores.

Cuadro 7. Asociación de IL-8 con artropatía persistente a 2 años

Factor	sexo	OR	IC95%	Valor p
IL-8	Mujeres	1.1	(0.99-1.21)	0.064
	Hombres	0.99	(0.94-1.04)	0.761

*Regresión logística ajustando por edad y sexo.

Objetivo específico 3. En la evaluación de los datos obtenidos en el estudio de cohorte que incluyó a los marcadores (FR, PCR e IgG anti CHIKV), no se observó diferencias estadísticamente significativas en los tres grupos evaluados (ver tabla 8). Por tanto, no se observa asociación entre los marcadores durante la fase subaguda (FR, PCR, IgG anti CHIKV) y la evolución hacia poliartropatía crónica (ver tabla 9). Este hallazgo no permitió diseñar un modelo, por lo cual dificultó la evaluación de la contribución de la inclusión de los marcadores propuestos en este estudio (IL-8, MCP-1, y TNF- α).

Cuadro 8. Resultados de los niveles de las mediciones de los marcadores evaluados en la cohorte previamente.

Marcador	Poliartropatía n=9	Intermedio n=28	Recuperados n=18	Valor p		
				Poliartropatía vs. Recuperados	Poliartropatía vs. Intermedio	Recuperado vs. Intermedio
FR Visita 1 (mg/L)	27.6 (19.7)	14.9 (16.8)	18.6 (16.9)	0.3545	0.1467	0.2901
FR Visita 2 (mg/L)	23.5 (35.8)	20.5 (20.8)	20.3 (20.7)	0.3545	0.2725	0.7612
Cambio FR	-2.2 (18.1)	2.8 (11.3)	1.1 (10.3)	0.4105	0.3574	0.8571
PCR Visita 1	4.5 (13.5)	4.2 (4.9)	3.4 (4.2)	0.4557	0.8874	0.3331
PCR Visita 2	4.8 (3.2)	2.9 (3.7)	2.0 (2.8)	0.0718	0.2648	0.1562
Cambio PCR	0.3 (1.9)	-1.5 (4.2)	-0.8 (3.3)	0.2801	0.2154	0.8219
IgG Visita 1 (Unidades panbio)	40.7 (11.2)	44.6 (22.6)	31.4 (22,3)	0.5005	0.4538	0.1089
IgG Visita 2 (Unidades panbio)	71.9 (33.6)	68.1 (59.3)	45.7 (37.9)	0.1006	0.9436	0.0854
Cambio IgG	29.2 (32.8)	31.6 (52.2)	22.1 (31.1)	0.3873	0.8694	0.3122

Datos expresados en mediana (RIC). Test de Suma de rangos

Cuadro 9. Asociación de marcadores en fase subaguda y la evolución de los pacientes a poliartropatía crónica

Factor	OR crudo (IC 95%)	Valor p	OR ajustado* (IC 95%)	Valor p
IgG	1.02 (0.99-1.05)	0.230	1.02(0.98-1.06)	0.355
PCR	0.98 (0.94-1.03)	0.623	0.97(0.91-1.01)	0.194
FR	0.99(0.99-1.00)	0.735	0.99(0.98-1.00)	0.373

*Regresión logística ajustando por edad y sexo.

11. DISCUSIÓN

La infección por Chikungunya desarrolla una patología de impacto en la salud pública en el país que la padece, debido a las consecuencias en la morbilidad, calidad de vida y a nivel económico.

Pocos estudios han informado sobre el papel de las citoquinas y las quimioquinas en el proceso inflamatorio del compromiso articular crónico posterior a la infección por el virus Chikungunya (CHIKV) en muestras humanas^{243,244,245,246,247,248,249}. Pese a sus importantes hallazgos relacionados con la patogenia, los resultados aún no han permitido la identificación de marcadores biológicos que contribuyan a mejorar el pronóstico de la fase crónica de la enfermedad. Como posible limitación en la no identificación de marcadores pronóstico, se podrían considerar, el tamaño de muestra insuficiente, las diferencias en la línea del tiempo de la enfermedad para realizar la medición del marcador e identificar el compromiso articular, y el uso de diferentes técnicas para analizar los niveles de citoquinas^{250,251}.

²⁴³ RYMAN, Kate D.; KLIMSTRA, William B. Closing the gap between viral and noninfectious arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, vol. 111, no 16, p. 5767-5768.

²⁴⁴ COLOMBIA. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Informe final del evento Chikungunya. [en línea]. 2014. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/Chikungun%CC%83a%202014.pdf>.

²⁴⁵ THIBERVILLE, Simon-Djamel, et al. Chikungunya fever: epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. *Antiviral research*, 2013, vol. 99, no 3, p. 345-370.

²⁴⁶ HOARAU, Jean-Jacques, et al. Persistent chronic inflammation and infection by Chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response. *The Journal of Immunology*, 2010, vol. 184, no 10, p. 5914-5927.

²⁴⁷ CHAAITHANYA, Itta Krishna, et al. Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. *Viral immunology*, 2011, vol. 24, no 4, p. 265-271.

²⁴⁸ WAUQUIER, Nadia, et al. The acute phase of Chikungunya virus infection in humans is associated with strong innate immunity and T CD8 cell activation. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 204, no 1, p. 115-123.

²⁴⁹ CHOW, Angela, et al. Persistent arthralgia induced by Chikungunya virus infection is associated with interleukin-6 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 203, no 2, p. 149-157.

²⁵⁰ THIBERVILLE, Simon-Djamel, et al. Chikungunya fever: epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. *Antiviral research*, 2013, vol. 99, no 3, p. 345-370.

²⁵¹ MATHEW, Ann J., et al. Chikungunya infection: a global public health menace. *Current allergy and asthma reports*, 2017, vol. 17, no 2, p. 13.

Se sabe poco sobre el desenlace hacia poliartropatía crónica posterior a una infección por Chikungunya, dentro de las teorías más mencionadas por algunos autores se encuentra la posibilidad de la persistencia del virus en los órganos diana y esto ha podido ser sustentado al encontrar persistencia de partículas virales en modelos animales²⁵². Por otro lado se encuentra la teoría de desarrollarse inmunidad autoinmune frente la infección por Chikungunya. Dentro del estudio desarrollado en la primera fase del estudio se midieron citoquinas asociadas a enfermedad reumática, péptido citrulinado, factor reumatoide y ANAS.

De los cuales los resultados obtenidos para los pacientes con poliartropatía crónica y recuperados arrojaron resultados para anticuerpos anticitrulinado negativo, con relación a la medición de ANAS solo 1 caso de poliartropatía crónica y 1 control recuperado dieron positivo. Por otro lado al momento del ingreso al estudio en el 2015 todos los pacientes eran negativos para factor reumatoide, sin embargo en la medición del 2017, 11 pacientes fueron positivos de los cuales 4 hacen parte del grupo de poliartropatía crónica y 7 del grupo de recuperados. Con estos resultados se podría inferir la ausencia de un componente autoinmune en los grupos del estudio y en el desenlace de la poliartropatía crónica²⁵³.

En el presente estudio se realizó la medición de los niveles séricos de IFN- α 2, TNF- α , IL-6, IL-10, MCP-1, IL-8, GM-CSF en dos momentos de la enfermedad, durante las etapas subaguda y crónica. Las citoquinas en el estudio fueron seleccionadas como representantes de las funciones que estas cumplen frente a la respuesta inflamatoria en procesos infecciosos tales como, funciones moduladoras (INF- α 2), pro-inflamatorias (TNF- α , IL-6, IL-10), quimioquinas (MCP-1, IL-8), y factores de crecimiento (GM-CSF).

²⁵² HIGGS, Stephen; ZIEGLER, Sarah A. A nonhuman primate model of chikungunya disease. *The Journal of clinical investigation*, 2010, vol. 120, no 3, p. 657-660.

²⁵³ SISSOKO, Daouda, et al. Post-epidemic Chikungunya disease on Reunion Island: course of rheumatic manifestations and associated factors over a 15-month period. *PLoS neglected tropical diseases*, 2009, vol. 3, no 3.

Los resultados obtenidos frente a la evaluación de la comparación de dichos niveles en ambos momentos de la enfermedad, permitieron identificar un aumento de hasta 4 veces los niveles de la IL-8 en los casos comparado con el grupo control. Este aumento de la IL-8 puede deberse a la actividad que ejerce la familia CXCL8 y sus receptores CXCR1 / CXCR2 frente a los procesos infecciosos asociándose con una respuesta inmune crónica de alta intensidad y daño tisular, ya que la IL-8 cumple la función de reclutamiento de neutrófilos y macrófagos inducidos por el receptor CXCR2 en diferentes contextos de inflamación incluida la artritis²⁵⁴. Esto se ha podido correlacionar en estudios donde se ha evaluado el contenido del líquido sinovial de pacientes con artralgia crónica posterior a una infección por Chikungunya; donde se ha reportado concentraciones detectables de IFN- α , IL-6, MCP-1, IL-8 en comparación con pacientes recuperados^{255,256,257,258}. La respuesta inflamatoria identificada en zonas afectadas sugiere el tráfico activo de monocitos / macrófagos hacia el tejido sinovial, que podría estar relacionado con el daño tisular. Asimismo, se evidencia un desbalance entre la respuesta inflamatoria Th1 y Th2, con un aumento de la vía linfocítica tipo Th1, de la cual hace parte la IL-8 y otras citoquinas pro-inflamatorias (MCP-1/CCL2 y su receptor MCP-1/ CCR-2) la cual cumple función para la atracción celular monocítica hacia el tejido articular y su activación. En contraste, se ha observado una pobre respuesta Th2, dada por la

²⁵⁴ SIMARMATA, Diane, et al. Early clearance of Chikungunya virus in children is associated with a strong innate immune response. *Scientific reports*, 2016, vol. 6, no 1, p. 1-8.

²⁵⁵ RYMAN, Kate D.; KLIMSTRA, William B. Closing the gap between viral and noninfectious arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, vol. 111, no 16, p. 5767-5768.

²⁵⁶ MATHEW, Ann J., et al. Chikungunya infection: a global public health menace. *Current allergy and asthma reports*, 2017, vol. 17, no 2, p. 13.

²⁵⁷ SCHAIBLE, Hans George, et al. The role of proinflammatory cytokines in the generation and maintenance of joint pain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, vol. 1193, no 1, p. 60-69.

²⁵⁸ CHAAITHANYA, Itta Krishna, et al. Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. *Viral immunology*, 2011, vol. 24, no 4, p. 265-271.

reducción de los niveles de citoquinas antiinflamatorias como IL-10 así como lo reporta Chaaithanya en su estudio^{259,260,261}.

Ahora bien la respuesta inflamatoria presente tanto en artritis reumatoide como otras artropatías inflamatorias se le considera a la IL-8 como la quimioquina inflamatoria más importante asociada con artritis acompañada de un cuadro inflamatorio importante. Es abundantemente expresada en el suero, fluido sinovial y tejido sinovial, esto está relacionado con la producción principal de los macrófagos sinoviales productores de IL-8 y otras células involucradas en la producción de citoquinas inflamatorias como fibroblastos, células del endotelio y otras células de la sinovia²⁶². Por lo cual se cree que la infiltración en la articulación de pacientes con AR esta mediada por factores quimiotacticos liberados por las células activadas. Lo cual permite aseverar que la sobreexpresión de varias quimoquinas como la IL-8 puede promover el reclutamiento de células inflamatorias de los cuales los macrófagos se presentan como las células más representativas del proceso en las articulaciones inflamadas reumatoides y no reumatoides como es el caso de la poliartropatia asociada a Chikungunya^{263,264,265,266}.

²⁵⁹ THIBERVILLE, Simon-Djamel, et al. Chikungunya fever: epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. *Antiviral research*, 2013, vol. 99, no 3, p. 345-370.

²⁶⁰ SCHAIBLE, Hans George, et al. The role of proinflammatory cytokines in the generation and maintenance of joint pain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, vol. 1193, no 1, p. 60-69.

²⁶¹ WAUQUIER, Nadia, et al. The acute phase of Chikungunya virus infection in humans is associated with strong innate immunity and T CD8 cell activation. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 204, no 1, p. 115-123.

²⁶² RYMAN, Kate D.; KLIMSTRA, William B. Closing the gap between viral and noninfectious arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, vol. 111, no 16, p. 5767-5768.

²⁶³ SCHAIBLE, Op. cit.

²⁶⁴ DUPUIS-MAGUIRAGA, Laurence, et al. Chikungunya disease: infection-associated markers from the acute to the chronic phase of arbovirus-induced arthralgia. *PLoS neglected tropical diseases*, 2012, vol. 6, no 3.

²⁶⁵ NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. *Annual review of virology*, 2017, vol. 4, p. 413-427.

²⁶⁶ ESSACKJEE, Khadijah, et al. Prevalence of and risk factors for chronic arthralgia and rheumatoid-like polyarthritis more than 2 years after infection with chikungunya virus. *Postgraduate medical journal*, 2013, vol. 89, no 1054, p. 440-447.

Si bien las lesiones articulares crónicas se han asociado con edad avanzada, los resultados no han sido homogéneos. Hourau y cols., reportan una edad promedio en pacientes recuperados 56.8 ± 11.1 y 70 ± 15.5 años en pacientes en cronicidad. Por su parte Chow y cols. observaron persistencia de síntomas crónicos en población más joven ($31.5 + 5.2$ años y $40.2 + 12.3$ años en casos crónicos y recuperados, respectivamente). Nuestros datos concuerdan con ambos estudios ya que se analizaron pacientes recuperados con edades 52.7 ± 22.3 y casos crónicos con 55.2 ± 11.1 . Podría especularse que la edad podría estar asociada como un iniciador de la artritis o el desenmascaramiento de la misma^{267,268}.

Un panorama general del cual podría participar la IL-8 en la inflamación a partir de la infección, parte de una respuesta inmune innata bien establecida, así como lo reporta Valdes y cols., quien afirma que el reconocimiento de patrones moléculas asociados a patógenos PRRs o DAMP, desencadenan vías de señalización intracelular que conducen a la inducción de citoquinas y quimioquinas implicadas en el mantenimiento de la resistencia del huésped a la infección. Pero una interrupción de estas vías de señalización podría estar asociado a un efecto tal que da como resultado una inflamación crónica resultado de una respuesta inmune no controlada exacerbada, que inicialmente es contrarrestada por la producción de INF tipo I y II, el cual se asocia fuertemente con la replicación viral²⁶⁹.

Esa exacerbación de la respuesta inmune se evidencia en el desbalance entre la respuesta tipo Th1 y Th2 dando como resultado un desvío hacia la cronicidad, en la cual quimioquinas producidas (MCP-1, GM-CSF, G-CSF, IL-8) en el órgano diana,

²⁶⁷ SCHAIBLE, Hans George, et al. The role of proinflammatory cytokines in the generation and maintenance of joint pain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, vol. 1193, no 1, p. 60-69.

²⁶⁸ CHOW, Angela, et al. Persistent arthralgia induced by Chikungunya virus infection is associated with interleukin-6 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 203, no 2, p. 149-157.

²⁶⁹ ESSACKJEE, Khadijah, et al. Prevalence of and risk factors for chronic arthralgia and rheumatoid-like polyarthritis more than 2 years after infection with chikungunya virus. *Postgraduate medical journal*, 2013, vol. 89, no 1054, p. 440-447.

articulación, atrae macrófagos quienes serán huéspedes de partículas virales que permitirán su posterior replicación y liberación de las mismas, al mismo tiempo la producción de citoquinas inflamatorias en las cuales se destacan la IL-6, IL-1 β , TNF- α entre otras, desencadenan el acumulo de células PMN, NK, Fibroblastos en un ambiente inflamatorio perjudicial para el tejido óseo, el cual permite la infección de osteoblastos y la activación de osteoclastos llevando a uno de los resultados que es el deterioro óseo^{270,271,272}.

Dentro de las citoquinas seleccionadas para la medición de los niveles dentro del estudio, algunas de ellas no pudieron ser cuantificadas debido al conteo de perlas inferior al sugerido la casa comercial, sin embargo dichas citoquinas cumplen un rol clave dentro de la respuesta inflamatoria frente a la infección del Chikungunya por lo cual se presenta una posible respuesta frente a las citoquinas no cuantificadas. Al comparar los pacientes con poliartropatia crónica y los pacientes recuperados, de acuerdo a la evidencia reportada se puede orientar una posible dirección de dichas citoquinas.

Así como lo reporta Chaaithanya y cols. y Chow en el 2011 el comportamiento de la IL-6, GM-CSF para los pacientes recuperados se esperarían niveles bajos o cercanos a los niveles basales debido a que no se estaría en presencia de un ambiente inflamatorio. Por otro lado la IL-10 al hacer parte de las citoquinas tipo Th2 y al lograrse la resolución de la enfermedad se hubiera esperado niveles por encima de los basales.

²⁷⁰ DUPUIS-MAGUIRAGA, Laurence, et al. Chikungunya disease: infection-associated markers from the acute to the chronic phase of arbovirus-induced arthralgia. *PLoS neglected tropical diseases*, 2012, vol. 6, no 3.

²⁷¹ NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. *Annual review of virology*, 2017, vol. 4, p. 413-427.

²⁷² ESSACKJEE, Khadijah, et al. Prevalence of and risk factors for chronic arthralgia and rheumatoid-like polyarthritis more than 2 years after infection with chikungunya virus. *Postgraduate medical journal*, 2013, vol. 89, no 1054, p. 440-447.

12. CONCLUSIONES

- Se observó un aumento en los niveles de la IL-8 en fase subaguda de los pacientes del grupo poliartropatía crónica frente al grupo control de recuperados, que probablemente se asocie a desarrollo de enfermedad articular, lo cual permite ubicar a la IL-8 como un marcador de patogenia y no como un marcador pronóstico.
- Existe una señal de IL-8 como un potencial biomarcador para la predicción a formas crónicas de la enfermedad por CHIKV. Sin embargo, se requiere una nueva evaluación con un tamaño de muestra mayor.
- Dado que no se observó asociación entre los marcadores previamente evaluados en la cohorte de Capitanejo (FR, PCR, IgG anti CHIKV) y la evolución hacia poliartropatía crónica, no fue posible desarrollar un modelo de predicción con los datos previos de la cohorte, lo cual dificultó la evaluación de las citoquinas al modelo esperado.

BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA-REYES, Jorge; NAVARRO-LECHUGA, Edgar; MARTÍNEZ-GARCÉS, Juan Carlos. Chikungunya fever: history and epidemiology. *Revista Salud Uninorte*, 2015, vol. 31, no 3, p. 621-630.

ADIBI, Jennifer J., *et al.* Teratogenic effects of the Zika virus and the role of the placenta. *The Lancet*, 2016, vol. 387, no 10027, p. 1587-1590.

ALLA, Sanae Ali Ou; COMBE, Bernard. Arthritis after infection with Chikungunya virus. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 2011, vol. 25, no 3, p. 337-346.

AL-OBAIDI, Mazen M. Jamil, *et al.* Japanese encephalitis virus disrupts blood-brain barrier and modulates apoptosis proteins in THBMEC cells. *Virus research*, 2017, vol. 233, p. 17-28.

ARONSON, Jeffrey K.; FERNER, Robin E. Biomarkers—a general review. *Current protocols in pharmacology*, 2017, vol. 76, no 1, p. 9.23. 1-9.23. 17.

BAYLESS, Nicholas L., *et al.* Zika virus infection induces cranial neural crest cells to produce cytokines at levels detrimental for neurogenesis. *Cell host & microbe*, 2016, vol. 20, no 4, p. 423-428.

BEAUCHAMP, Tom L.; CHILDRESS, James F. *Principles of Biomedical Ethics Seventh Edition*. 2012.

BOUQUILLARD, Éric; COMBE, Bernard. A report of 21 cases of rheumatoid arthritis following Chikungunya fever. A mean follow-up of two years. *Joint Bone Spine*, 2009, vol. 76, no 6, p. 654-657.

BOZZA, Fernando A., *et al.* Multiplex cytokine profile from dengue patients: MIP-1beta and IFN-gamma as predictive factors for severity. *BMC infectious diseases*, 2008, vol. 8, no 1, p. 86.

BRIESE, Thomas, *et al.* Identification of a Kunjin/West Nile-like flavivirus in brains of patients with New York encephalitis. *The Lancet*, 1999, vol. 354, no 9186, p. 1261-1262.

CAPITANEJO. Nuestro Municipio. [en línea]. Disponible en: <http://www.capitanejo-santander.gov.co/municipio/nuestro-municipio>

CASTRO, Anita Perpetua Carvalho Rocha de; LIMA, Rafaela Araújo; NASCIMENTO, Jedson dos Santos. Chikungunya: vision of the pain clinician. *Revista Dor*, 2016, vol. 17, no 4, p. 299-302.

CDC – Centers for Disease Control and Prevention. Through mosquito bites. Disponible en: <https://www.cdc.gov/chikungunya/transmission/index.html>.

CDC – Centers of Disease Control and Prevention. Countries and territories where chikungunya cases have been reported. [en línea]. 2018. (citado en 15 junio 2019). Disponible en: https://www.cdc.gov/chikungunya/pdfs/Chik_World_Map_05-29-18-P.pdf

CHAAITHANYA, Itta Krishna, *et al.* Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. *Viral immunology*, 2011, vol. 24, no 4, p. 265-271.

CHEN, Weiqiang, *et al.* Bindarit, an inhibitor of monocyte chemotactic protein synthesis, protects against bone loss induced by chikungunya virus infection. *Journal of virology*, 2015, vol. 89, no 1, p. 581-593.

CHEN, Zhi; O'SHEA, John J. Th17 cells: a new fate for differentiating helper T cells. *Immunologic research*, 2008, vol. 41, no 2, p. 87-102.

CHIRATHAWORN, Chintana, *et al.* Cytokine levels in patients with chikungunya virus infection. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 2013, vol. 6, no 8, p. 631-634.

CHOW, Angela, *et al.* Persistent arthralgia induced by Chikungunya virus infection is associated with interleukin-6 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 203, no 2, p. 149-157.

COLOMBIA. CONGRESO DE LA REPÚBLICA. Ley estatutaria 1581 (17, octubre, 2012). Por la cual se dictan disposiciones generales para la protección de datos personales. *Diario Oficial*. Bogotá, D.C., 2012, no. 48587.

COLOMBIA. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Chikungunya en Colombia, año 2014 Informe Quincenal Epidemiológico Nacional 2015. Volumen 20, Numero 5, p. 79.

COLOMBIA. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Informe final del evento Chikungunya. [en línea]. 2014. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/Chikungun%CC%83a%202014.pdf>.

COLOMBIA. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Lineamientos de vigilancia en salud pública, entomológica y de laboratorio ante la introducción del virus Chikungunya en Colombia. [en línea]. 2014. (Citado en 15 agosto 2019). Disponible en:

<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ET/Anexo%203%20Lineamientos%20de%20Vigilancia%20CHIKV%202014.pdf>

COLOMBIA. MINISTERIO DE COMERCIO, INDUSTRIA Y TURISMO. Decreto 1377 (27, junio, 2013). Por el cual se reglamenta parcialmente la Ley 1581 de 2012. Diario Oficial. Bogotá, D.C., 2013, no. 48834.

COLOMBIA. MINISTERIO DE SALUD. Curso Virtual en enfermedades transmitidas por vectores. Chikungunya. Memorias para el profesional en Bacteriología. Ministerio de Salud de Colombia y Federación Médica Colombiana. 2015.

COLOMBIA. MINISTERIO DE SALUD. Resolución 8430 (4, octubre, 1993). Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Bogotá, D.C., 1993.

COUDERC, Thérèse, *et al.* A mouse model for Chikungunya: young age and inefficient type-I interferon signaling are risk factors for severe disease. PLoS pathogens, 2008, vol. 4, no 2.

CRONIN, John, *et al.* A brief review of handgrip strength and sport performance. The Journal of Strength & Conditioning Research, 2017, vol. 31, no 11, p. 3187-3217.

DUPUIS-MAGUIRAGA, Laurence, *et al.* Chikungunya disease: infection-associated markers from the acute to the chronic phase of arbovirus-induced arthralgia. PLoS neglected tropical diseases, 2012, vol. 6, no 3.

EPPY, Eppy, *et al.* The differences between interleukin-6 and C-reactive protein levels among adult patients of dengue infection with and without plasma leakage. Acta Medica Indonesiana, 2016, vol. 48, no 1, p. 3.

ESSACKJEE, Khadijah, *et al.* Prevalence of and risk factors for chronic arthralgia and rheumatoid-like polyarthritis more than 2 years after infection with chikungunya virus. Postgraduate medical journal, 2013, vol. 89, no 1054, p. 440-447.

FELDMANN, Marc; MAINI, Ravinder N. Anti-TNF α therapy of rheumatoid arthritis: what have we learned?. Annual review of immunology, 2001, vol. 19, no 1, p. 163-196.

GANESAN, Vaishnavi K.; DUAN, Bin; REID, St Patrick. Chikungunya virus: pathophysiology, mechanism, and modeling. Viruses, 2017, vol. 9, no 12, p. 368.

GARLAND, Russell. KWS Biotest. Analisis Multiplex de citoquinas. Traducido por: Traducción: Jesús Gil, Würzburg, DE (SEI). [en línea]. British Society for Immunology. Disponible en: <http://inmunologia.eu/tecnicas-experimentales/analisis-multiplex-citocinas>.

GASQUE, Philippe, *et al.* Chikungunya virus pathogenesis and immunity. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 2015, vol. 15, no 4, p. 241-249.

GERARDIN, Patrick, *et al.* Multidisciplinary prospective study of mother-to-child chikungunya virus infections on the island of La Reunion. PLoS medicine, 2008, vol. 5, no 3.

GOUPIL, Brad A., *et al.* Novel lesions of bones and joints associated with chikungunya virus infection in two mouse models of disease: new insights into disease pathogenesis. PloS one, 2016, vol. 11, no 5.

GUZMAN, Maria G.; HARRIS, Eva. Dengue. The Lancet, 2015, vol. 385, no 9966, p. 453-465.

HIGGS, Stephen; ZIEGLER, Sarah A. A nonhuman primate model of chikungunya disease. The Journal of clinical investigation, 2010, vol. 120, no 3, p. 657-660.

HOARAU, Jean-Jacques, *et al.* Persistent chronic inflammation and infection by Chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response. *The Journal of Immunology*, 2010, vol. 184, no 10, p. 5914-5927.

JALLER RAAD, Juan, *et al.* Immunological response of a population from the Caribbean region of Colombia infected with the chikungunya virus. *Revista Colombiana de Reumatología*, 2016, vol. 23, no 2, p. 85-91.

JOHN, Daisy Vanitha; LIN, Yee-Shin; PERNG, Guey Chuen. Biomarkers of severe dengue disease—a review. *Journal of biomedical science*, 2015, vol. 22, no 1, p. 83.

JOSSERAN, Loïc, *et al.* Chikungunya disease outbreak, Reunion Island. *Emerging infectious diseases*, 2006, vol. 12, no 12, p. 1994-1995.

KAM, Yiu-Wing, *et al.* Immuno-biology of Chikungunya and implications for disease intervention. *Microbes and infection*, 2009, vol. 11, no 14-15, p. 1186-1196.

KAM, Yiu-Wing, *et al.* Specific biomarkers associated with neurological complications and congenital central nervous system abnormalities from Zika virus–infected patients in Brazil. *The Journal of infectious diseases*, 2017, vol. 216, no 2, p. 172-181.

KELVIN, Alyson A., *et al.* Inflammatory cytokine expression is associated with chikungunya virus resolution and symptom severity. *PLoS neglected tropical diseases*, 2011, vol. 5, no 8.

LABADIE, Karine, *et al.* Chikungunya disease in nonhuman primates involves long-term viral persistence in macrophages. *The Journal of clinical investigation*, 2010, vol. 120, no 3, p. 894-906.

LAZEAR, Helen M., *et al.* Interferon- λ restricts West Nile virus neuroinvasion by tightening the blood-brain barrier. *Science translational medicine*, 2015, vol. 7, no 284, p. 284ra59-284ra59.

LOPEZ RODRIGUEZ, Marggie Astryd. Evaluación de las manifestaciones reumatológicas y las alteraciones paraclínicas luego de dos años de la presentación de la infección por virus de Chikungunya en brote en el municipio de Capitanejo, Santander. 2018. Tesis Doctoral. Universidad Industrial de Santander, Escuela de Medicina, Departamento De Medicina Interna.

MANIMUNDA, Sathya Prakash, *et al.* Clinical progression of chikungunya fever during acute and chronic arthritic stages and the changes in joint morphology as revealed by imaging. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2010, vol. 104, no 6, p. 392-399.

MARTÍNEZ FERNÁNDEZ, Liodelvio; TORRADO NAVARRO, Yeimy Paola. Fiebre Chikungunya. *Revista Cubana de Medicina*, 2015, vol. 54, no 1, p. 74-96.

MARTINS, Hugo André., *et al.* Depression, anxiety, and hopelessness in patients with chikungunya fever in Brazil. *J Neuroinfect Dis*, 2016, vol. 7, no 236, p. 2.

MATHEW, Ann J., *et al.* Chikungunya infection: a global public health menace. *Current allergy and asthma reports*, 2017, vol. 17, no 2, p. 13.

MATTAR, Salim, *et al.* Outbreak of Chikungunya virus in the north Caribbean area of Colombia: clinical presentation and phylogenetic analysis. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 2015, vol. 9, no 10, p. 1126-1132.

MYSOREKAR, Indira U.; DIAMOND, Michael S. Modeling Zika virus infection in pregnancy. *New England Journal of Medicine*, 2016, vol. 375, no 5, p. 481-484.

NARAZAKI, Masashi; TANAKA, Toshio; KISHIMOTO, Tadamitsu. The role and therapeutic targeting of IL-6 in rheumatoid arthritis. *Expert review of clinical immunology*, 2017, vol. 13, no 6, p. 535-551.

NASCIMENTO, Laura Branquinho do, *et al.* Dengue in pregnant women: characterization of cases in Brazil, 2007-2015. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 2017, vol. 26, p. 433-442.

NG, Lisa FP, *et al.* IL-1 β , IL-6, and RANTES as biomarkers of Chikungunya severity. *PloS one*, 2009, vol. 4, no 1.

NG, Lisa FP. Immunopathology of Chikungunya virus infection: lessons learned from patients and animal models. *Annual review of virology*, 2017, vol. 4, p. 413-427.

OMS. Organización Mundial de la Salud. Chikungunya. [en línea]. 2017. (citado en 12 noviembre 2019). Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>.

OPS - ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus chikungunya en las Américas. 2011.

ORTIZ, Libardo; ARÉVALO, María.; ROSALES, Disney. Artritis reumatoide: algunos aspectos inmunológicos. *Revista Médica de la Extensión Portuguesa*, 2010, vol. 4, no 2, p. 41-56.

PETERSEN, Lyle R.; POWERS, Ann M. Chikungunya: epidemiology. *F1000Research*, 2016, vol. 5.

PIEDRECUESTA. Información del municipio. [en línea]. Disponible en: <http://www.alcaldiadepiedrecuesta.gov.co/MiMunicipio/Paginas/Informacion-del-Municipio.aspx>.

RATHAKRISHNAN, Anusyah, *et al.* Cytokine expression profile of dengue patients at different phases of illness. *PloS one*, 2012, vol. 7, no 12.

REDDY, Vijayalakshmi, *et al.* Correlation of plasma viral loads and presence of Chikungunya IgM antibodies with cytokine/chemokine levels during acute Chikungunya virus infection. *Journal of medical virology*, 2014, vol. 86, no 8, p. 1393-1401.

ROBERTS, Helen C., *et al.* A review of the measurement of grip strength in clinical and epidemiological studies: towards a standardised approach. *Age and ageing*, 2011, vol. 40, no 4, p. 423-429.

RODRÍGUEZ-MORALES, Alfonso J., *et al.* Chronic depression and post-chikungunya rheumatological diseases: Is the IL-8/CXCL8 another associated mediator?. *Travel medicine and infectious disease*, 2017, vol. 18, p. 77.

RODRIGUEZ-MORALES, Alfonso J., *et al.* Would be IL-6 a missing link between chronic inflammatory rheumatism and depression after chikungunya infection? *Rheumatology international*, 2017, vol. 37, no 7, p. 1149-1151.

RYMAN, Kate D.; KLIMSTRA, William B. Closing the gap between viral and noninfectious arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, vol. 111, no 16, p. 5767-5768.

SALES, Gabriella Maria Pitt Gameiro, *et al.* Treatment of chikungunya chronic arthritis: A systematic review. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 2018, vol. 64, no 1, p. 63-70.

SÁNCHEZ-RAMÓN, Silvia; LÓPEZ-LONGO, Francisco Javier; CARRENO, Luis. Interleucinas en la fisiopatología de la artritis reumatoide: más allá de las citocinas proinflamatorias. *Reumatología Clínica*, 2011, vol. 6, p. 20-24.

SARANGAN, Gopalsami, *et al.* Cytokine profile in response to Chikungunya virus (CHIKV) associated with CHIKV polyarthritis in acute febrile patients from South India. *International Journal of Infectious Diseases*, 2016, vol. 45, p. 455.

SAXENA, Vandana; BOLLING, Bethany G.; WANG, Tian. West Nile Virus. *Clinics in laboratory medicine*, 2017, vol. 37, no 2, p. 243.

SCHAIBLE, Hans George, *et al.* The role of proinflammatory cytokines in the generation and maintenance of joint pain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, vol. 1193, no 1, p. 60-69.

SCHILTE, Clémentine, *et al.* Type I IFN controls chikungunya virus via its action on nonhematopoietic cells. *Journal of Experimental Medicine*, 2010, vol. 207, no 2, p. 429-442.

SCHWARTZ, Olivier; ALBERT, Matthew L. Biology and pathogenesis of chikungunya virus. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, vol. 8, no 7, p. 491-500.

SCREATON, Gavin, *et al.* New insights into the immunopathology and control of dengue virus infection. *Nature Reviews Immunology*, 2015, vol. 15, no 12, p. 745-759.

SEYMOUR, H. E., *et al.* Anti-TNF agents for rheumatoid arthritis. *British journal of clinical pharmacology*, 2001, vol. 51, no 3, p. 201-208.

SHI, Yufang, *et al.* Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and T-cell responses: what we do and don't know. *Cell research*, 2006, vol. 16, no 2, p. 126-133.

SILVA, Mariana Ruiz, *et al.* Mechanism and role of MCP-1 upregulation upon chikungunya virus infection in human peripheral blood mononuclear cells. *Scientific reports*, 2016, vol. 6, p. 32288.

SIMARMATA, Diane, *et al.* Early clearance of Chikungunya virus in children is associated with a strong innate immune response. *Scientific reports*, 2016, vol. 6, no 1, p. 1-8.

SISSOKO, Daouda, *et al.* Post-epidemic Chikungunya disease on Reunion Island: course of rheumatic manifestations and associated factors over a 15-month period. *PLoS neglected tropical diseases*, 2009, vol. 3, no 3.

SMOLEN, Josef; ALETAHA, Daniel Aletaha; McINNES, Iain. Rheumatoid arthritis. *The Lancet*, Vol. 388, 2016.

SRIRANGAN, Srinivasan; CHOY, Ernest H. The role of interleukin 6 in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease*, 2010, vol. 2, no 5, p. 247-256.

STAPLES, J. Erin; BREIMAN, Robert F.; POWERS, Ann M. Chikungunya fever: an epidemiological review of a re-emerging infectious disease. *Clinical infectious diseases*, 2009, vol. 49, no 6, p. 942-948.

STRIMBU, Kyle Strimbu; TAVEL, Jorge A. What are Biomarkers?. *Curr Opin VIH SIDA*. 2010. Noviembre de 2010, vol. 5, no 6. <https://dx.doi.org/10.1097%2FCOH.0b013e32833ed177>.

SUHRBIER, Andreas; JAFFAR-BANDJEE, Marie-Christine; GASQUE, Philippe. Arthritogenic alphaviruses—an overview. *Nature Reviews Rheumatology*, 2012, vol. 8, no 7, p. 420.

SUTARIA, Ravi B.; AMARAL, Jose K.; SCHOEN, Robert T. Emergence and treatment of chikungunya arthritis. *Current opinion in rheumatology*, 2018, vol. 30, no 3, p. 256-263.

TANAY, Amir. Chikungunya virus and autoimmunity. *Current opinion in rheumatology*, 2017, vol. 29, no 4, p. 389-393.

TAPPE, Dennis, *et al.* Cytokine kinetics of Zika virus-infected patients from acute to convalescent phase. *Medical microbiology and immunology*, 2016, vol. 205, no 3, p. 269-273.

TEO, Teck-Hui, *et al.* Mouse models for Chikungunya virus: deciphering immune mechanisms responsible for disease and pathology. *Immunologic research*, 2012, vol. 53, no 1-3, p. 136-147.

THANAPATI, Subrat, *et al.* Impaired NK cell functionality and increased TNF- α production as biomarkers of chronic chikungunya arthritis and rheumatoid arthritis. *Human immunology*, 2017, vol. 78, no 4, p. 370-374.

THIBERVILLE, Simon-Djamel, *et al.* Chikungunya fever: epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. *Antiviral research*, 2013, vol. 99, no 3, p. 345-370.

TSENG, Chien-Sen, *et al.* Elevated levels of plasma VEGF in patients with dengue hemorrhagic fever. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 2005, vol. 43, no 1, p. 99-102.

TSETSARKIN, Konstantin A., *et al.* Chikungunya virus: evolution and genetic determinants of emergence. *Current opinion in virology*, 2011, vol. 1, no 4, p. 310-317.

UIS – Universidad Industrial de Santander. Determinación de anticuerpos por inmunoensayos multiplex. POE-UMB-513. Version 1.0 Laboratorio de Unidad de Muestras Biológicas, Centro de Investigaciones Epidemiológicas, 2019

UIS – Universidad Industrial de Santander. Plan de Gestión Integral de Residuos - PGIR. Capítulo 2. 2012

UIS – Universidad Industrial de Santander. Protocolo de Seguridad Química. Manipulación Segura de Sustancias Químicas. TTH.01. Versión 1. 2012.

UIS – Universidad Industrial de Santander. Resolución de Rectoría 1227 (22, agosto, 2013). Por la cual se aprueba el Manual de Procedimientos Administrativos para el Tratamiento de Datos Personales.

URIBE, Liliana, *et al.* Correlación entre la actividad clínica por DAS-28 y ecografía en pacientes con artritis reumatoide. *Revista Colombiana de Reumatología*, 2016, vol. 23, no 3, p. 159-169.

VALDÉS LÓPEZ, Juan Felipe; VELILLA, Paula Andrea; URCUQUI-INCHIMA, Silvio. Chikungunya Virus and Zika Virus, two different viruses examined with a common aim: role of pattern recognition receptors on the inflammatory response. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 2019, vol. 39, no 9, p. 507-521.

VAN DE WEG, Cornelia AM, *et al.* Serum angiopoietin-2 and soluble VEGF receptor 2 are surrogate markers for plasma leakage in patients with acute dengue virus infection. *Journal of Clinical Virology*, 2014, vol. 60, no 4, p. 328-335.

VENUGOPALAN, Anuradha; GHORPADE, Ravi P.; CHOPRA, Arvind. Cytokines in acute chikungunya. *PloS one*, 2014, vol. 9, no 10.

VERVAEKE, Peter; VERMEIRE, Kurt; LIEKENS, Sandra. Endothelial dysfunction in dengue virus pathology. *Reviews in medical virology*, 2015, vol. 25, no 1, p. 50-67.

VILAGUT, Gemma, *et al.* El cuestionario de salud SF-36 español: una década de experiencia y nuevos desarrollos. *Gaceta sanitaria*, 2005, vol. 19, p. 135-150.

WAN, Shu-Wen, *et al.* Autoimmunity in dengue pathogenesis. *Journal of the Formosan Medical Association*, 2013, vol. 112, no 1, p. 3-11.

WAUQUIER, Nadia, *et al.* The acute phase of Chikungunya virus infection in humans is associated with strong innate immunity and T CD8 cell activation. *Journal of Infectious Diseases*, 2011, vol. 204, no 1, p. 115-123.

YACTAYO, Sergio, *et al.* Epidemiology of Chikungunya in the Americas. *The Journal of infectious diseases*, 2016, vol. 214, no suppl_5, p. S441-S445.

YAP, Moh Lan, *et al.* Structural studies of Chikungunya virus maturation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2017, vol. 114, no 52, p. 13703-13707.

YEN, Yong-Ren, *et al.* The anthropometric measurement of schober's test in normal taiwanese population. *BioMed research international*, 2015, vol. 2015.

ANEXOS

Anexo A. Descripción del proceso de recolección y valoración de los pacientes en el estudio de Casos y Controles anidado a una Cohorte.

Breve historia del Chikungunya en Capitanejo/Santander

En Colombia desde 2014 a 2018, se han notificado al Sistema nacional de vigilancia epidemiológica (Sivigila) 488.996 casos de chikungunya, siendo el 2015 el año con la mayor proporción de casos e incidencia a nivel nacional. Santander es un Departamento que se encuentra ubicado al Nor Oriente de Colombia, limitando con Norte de Santander (frontera con Venezuela) al occidente el Departamento de Antioquia y al Sur al Departamento de Boyacá

Capitanejo es el municipio en el cual se llevó a cabo este estudio. Es un municipio de Santander que se encuentra a 1100 msnm, y a 197 kilómetros en la provincia de García Rovira. Para la fecha 2015 el municipio tenía aproximadamente 6000 mil habitantes de acuerdo con las proyecciones poblacionales del CENSO del 2005.

De acuerdo a lo mencionado por la Secretaria de Salud del Departamento de Santander, el brote ocurrido en el municipio e Capitanejo sorprendió a las entidades de salud, esto debido a que Capitanejo es un municipio que está a más de 1.100 metros sobre el nivel del mar e históricamente han sido pocos los casos de dengue reportados.

El brote se le atribuyo a el desplazamiento de sectores de la población a zonas como Norte de Santander y Venezuela en el fin de año 2014 e introdujeron el virus al municipio afectando un porcentaje de la población ya que el municipio cuenta con circulación del vector *Aedes aegypti*. Posteriormente, algunos insectos picaron a los enfermos, se convirtieron en portadores del virus y luego contagiaron a otros residentes de la población de la provincia de García Rovira incluyendo el personal hospitalario el cual contaba para la fecha con 25 empleados de los cuales 15

resultaron enfermos entre personal asistencial y administrativo afectando la disponibilidad para la atención de los pacientes.

Figura 1. Ubicación geográfica del Municipio del Departamento de Santander y Municipio de Capitanejo en el mapa de Colombia.



Fuente:[https://es.wikipedia.org/wiki/Capitanejo_\(Santander\)#/media/Archivo:Colombia_-_Santander_-_Capitanejo.svg](https://es.wikipedia.org/wiki/Capitanejo_(Santander)#/media/Archivo:Colombia_-_Santander_-_Capitanejo.svg).

<http://capitanejo-ceciliadiazdebarbosa.blogspot.com/2015/08/situacion-geografica-del-municipio.html>

Pese a las labores de fumigación realizadas para contrarrestar el brote, el número de afectados que reportaron estar enfermos subió a 180 casos, esto obligo a la secretaria municipal solicitar el apoyo de la Secretaria de Salud del Departamento y a su vez al Centro de Investigaciones Epidemiológicas de la UIS (CIE) por lo cual

en febrero de 2015 se realizó la primera visita de apoyo al brote en el municipio de Capitanejo en presencia de un grupo interdisciplinar, médico epidemiólogo, infectólogo, médico general y bacteriología.

Días previos se realizó una campaña de atención a los enfermos por Chikungunya y 117 personas con una media de 45 días de inicio de síntomas fueron valorados mediante un circuito de atención, este circuito se basó en la verificación de la lista hospitalaria, redirigiéndose posteriormente a valoración médico general con toma de datos demográficos luego a una valoración más específica con médico internista donde se realizó test de hand-grip y fatiga posterior se tomaba la muestra de sangre cotejando los datos.

Posterior 2 años después en el 2017 se realiza una segunda visita. Se llevó a cabo llamada telefónica a los pacientes que previamente participaron de la visita en el contexto de brote invitándolos al estudio a través de la base de datos de pacientes adquirida en las visitas previas al municipio de Capitanejo. Se estimuló al paciente a asistir a una consulta reumatológica con el Doctor Reynaldo Badillo en un consultorio de la Empresa Social del Estado San Bartolomé de Capitanejo evaluando la persistencia de hallazgos reumatológicos en el examen físico, así como la toma de una muestra de sangre con el fin de realizar mediciones de marcadores relacionados con el estudio.

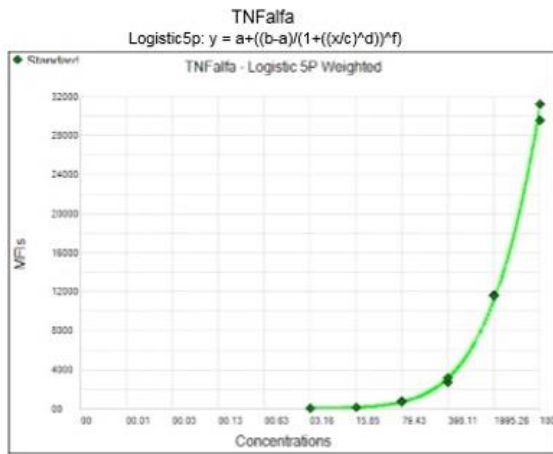
La visita se llevó a cabo el día 4 de febrero de 2017, para la atención de 70 pacientes en total. Los pacientes que asistieron el día de la consulta, firmaron el consentimiento informado, autorizando el ingreso al estudio y la recolección de los datos personales pertinentes.

El día de atención se organizó en el siguiente circuito de atención: El paciente ingresó a la consulta, se realizan preguntas para identificar la sintomatología compatible con compromiso articular, se interrogó duración y se aplicó prueba de

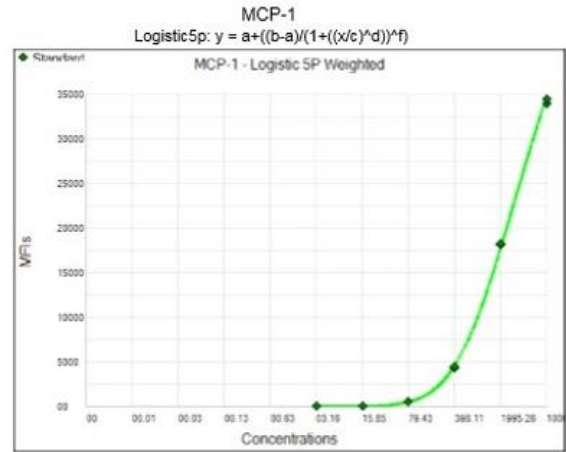
fuerza de agarre (test de Hand Grip). Posteriormente el paciente fue atendido por el Reumatólogo donde se ejecutó el examen físico y finalmente se recolectó la muestra de sangre.

Anexo B. Estandarización de las citoquinas seleccionadas para la medición de los niveles en suero.

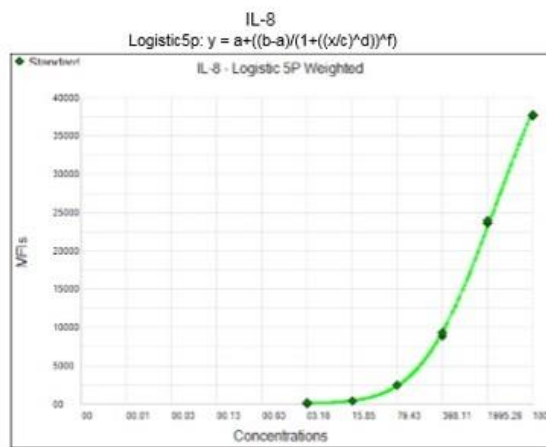
Curvas de calibración de citoquinas evaluadas



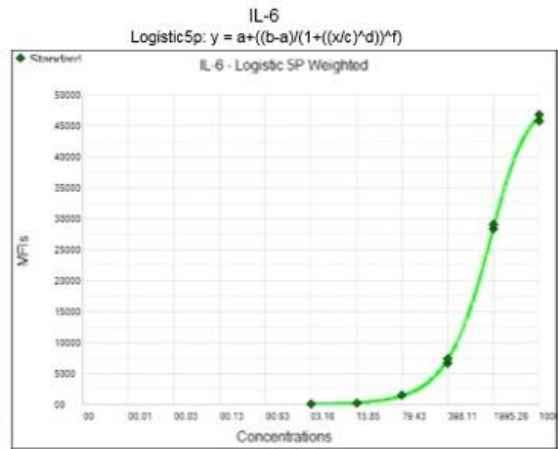
R² 0.8832



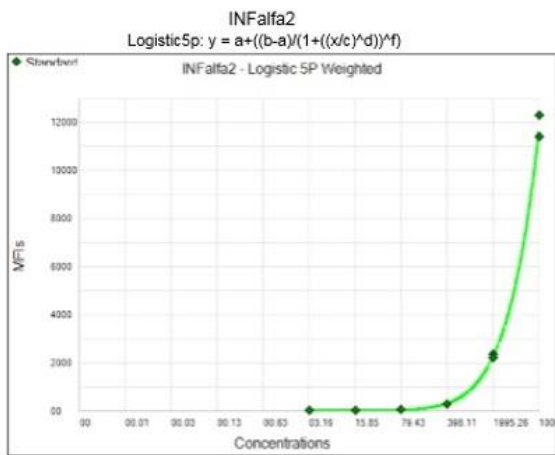
R² 0,9994



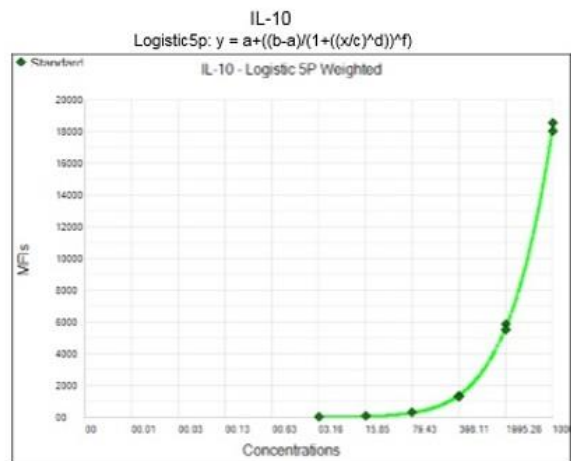
R² : 0.9994



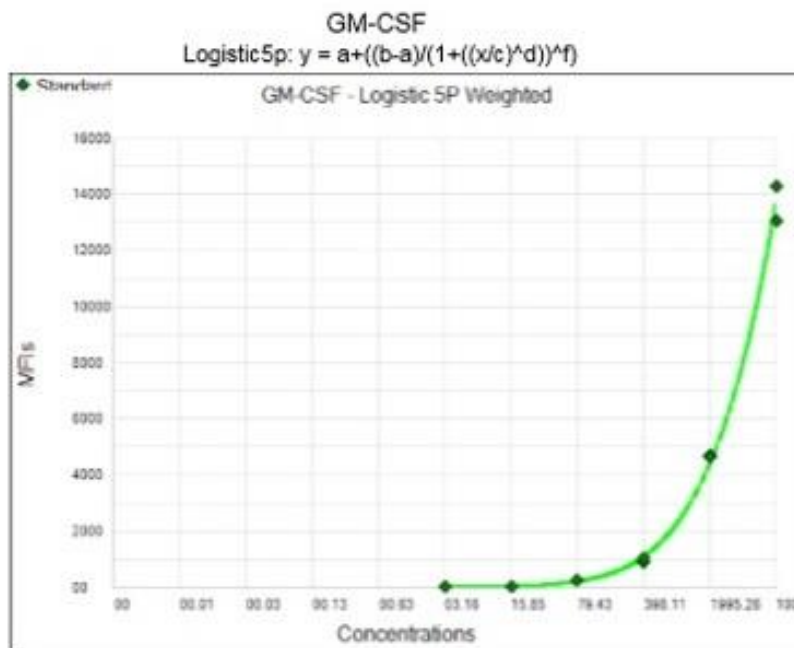
R² : 0.9983



R²: 0.9977



R²: 0.9969



R²: 0.9858

Anexo C. Carta de aprobación por parte del Comité de Ética de la UIS (CEINCI)

4110

Bucaramanga,

Estudiante
ZULY MILENA ZARAZA MONCAYO
Investigadora principal

Profesor
LUIS ÁNGEL VILLAR CENTENO
Director trabajo de investigación
Maestría en Ciencias Básicas Biomédicas
Escuela de Medicina
Facultad de Salud
Universidad Industrial de Santander
Presente

Asunto: Aval Comité de Ética proyecto, "Evaluación de biomarcadores inflamatorios potencialmente predictores de la evolución hacia el compromiso articular crónico asociado a la infección por el virus Chikungunya".

Cordial Saludo. El Comité de Ética en Investigación Científica de la Universidad Industrial de Santander (CEINCI-UIS) en reunión realizada del día 7 de diciembre de 2018, según consta en el Acta N° 22, evaluó el proyecto del asunto y al respecto conceptúa:

En consideración a que el proyecto cumple con todos los requerimientos, el Comité de Ética acordó, por consenso, **APROBAR** el documento digital en su última versión.

De igual manera, aplicar según corresponda a la investigación, la normatividad del Sistema de Gestión Integral de la Universidad, que está disponible en el enlace: <https://www.uis.edu.co/intranet/calidad/calidad.jsp>, especialmente lo relacionado con el Manual de Gestión Integrado.

Finalmente, se solicita remitir al correo del Comité la información correspondiente cuando ocurra una de las circunstancias siguientes:

- Reporte de mala práctica científica por parte de cualquier miembro del equipo investigador.
- Notificación previa de las modificaciones realizadas al protocolo.
- Reporte de cualquier eventualidad que usted considera deba conocer el CEINCI-UIS.
- Informe de avance sobre los aspectos éticos según guía e instructivo anexo. Este informe debe enviarse a la mitad del desarrollo de la investigación y al finalizar la misma según el cronograma establecido en el Formato FIN 65.

Elaboró César Hincapié, revisó Francisco Espinal y aprobó José Luis Osma Ruído




4110

- El informe debe ser enviado al correo: ceinci.seguimientos@uis.edu.co

En el momento del seguimiento se verificará el cumplimiento de las consideraciones éticas. En nombre del CEINCI-UIS le ofrecemos el apoyo que usted considere necesario, para la aplicación y salvaguarda de los asuntos éticos durante la investigación.

Atentamente,

Atentamente,


JOSÉ LUIS OSMAR RUEDA
Presidente
CEINCI- UIS


FRANCISCO ESPINEL CORREAL
Secretario Técnico Científico
CEINCI- UIS

Copia: Dra. Rosa Margarita Gélvez Ramírez (Centro de Investigaciones Epidemiológicas - CIE), co-investigadora.

Profesor Fernando Rodríguez Sanabria, Coordinador de la Maestría en Ciencias Básicas Biomédicas. Archivo Comité de Ética en Investigación Científica.