



***Perfil metabólico diferencial en suero de pacientes con Esclerosis
Sistémica y Síndrome de Sjögren***

**Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico
Trabajo de Grado
Bogotá, Abril 2022**



***Perfil metabólico diferencial en suero de pacientes con Esclerosis
Sistémica y Síndrome de Sjögren***

**Laura Alejandra Moreno Rubiano
Olga Lucía Sierra Hernández**

**Asesor externo
Yeny Acosta Ampudia**

**Asesor interno
Jeannette Navarrete Ospina**

**Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico
Trabajo de Grado
Bogotá, Abril 2022**



***Perfil metabólico diferencial en suero de pacientes con Esclerosis
Sistémica y Síndrome de Sjögren***

Meritoria X

Jurados

Jonathan Andre Mora Quimbayo

Elizabeth Rodriguez Hernandez

Asesores

Yeny Acosta Ampudia

Jeannette Navarrete Ospina

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico

Trabajo de Grado

Bogotá, Abril 2022

DEDICATORIA

Le dedicamos este trabajo a Dios, a nuestros padres, hermanos y familiares que nos han apoyado en el proceso de elaboración de este trabajo y en el proceso de la vida, por confiar en nosotras, por brindarnos un hogar lleno de amor. Apreciamos el apoyo y consejos que nos ayudaron a culminar con esta etapa, por brindarnos todo su amor y enorgullecerse de nosotras y de lo que hemos logrado, por ellos seguiremos dando lo mejor de nosotras cada día.

A mi compañera y colega de esta monografía por su dedicación y compañía en este proceso de formación, ya que siempre estuvo ahí apoyándome, y fue la voz de aliento para continuar.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer al Centro de Estudios de Enfermedades Autoinmunes CREA por abrirnos las puertas y asesorarnos en el proceso de desarrollo de nuestra monografía y en el camino de la investigación.

A nuestras asesoras, Yeny Acosta Ampudia y Jeannette Navarrete Ospina, por su acompañamiento, apoyo incondicional y asesoría durante todo el proceso del trabajo de grado ya que sin ellas no hubiera sido posible la realización del mismo.

También, queremos agradecer profundamente a nuestros amigos más cercanos, que nos brindaron un gran apoyo en esta formación como profesionales y como persona.

A la universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por permitirnos crecer, aprender y formarnos como profesionales íntegros en la carrera de Bacteriología y Laboratorio Clínico y que nos brindó por medio de sus docentes el conocimiento necesario para la realización de este trabajo.

Finalmente queremos agradecer a todas las personas que de una u otra manera nos apoyaron y guiaron para alcanzar las metas que habíamos establecido.

Tabla de contenido

Resumen	8
Introducción	9
1. Antecedentes	11
2. Marco Teórico	13
2.1 Autoinmunidad y ecología autoinmune	13
2.2 Metabolómica	18
2.2.1 Técnicas utilizadas en metabolómica	19
2.2.2 Análisis bioestadístico de datos	22
2.3 Esclerosis Sistémica y Síndrome de Sjogren	24
2.3.1 Esclerosis Sistémica	24
2.3.2 Síndrome de Sjogren	26
3. Diseño Metodológico	28
3.1. Universo, población, muestra	28
3.2. Hipótesis, variables, indicadores	28
3.3. Operacionalización de las variables	29
3.4. Técnicas y procedimientos	30
4. Resultados	31
4.1 Metabolitos encontrados en Esclerosis Sistémica y Síndrome de Sjogren	32
4.2 Rutas metabólicas alteradas en Esclerosis Sistémica y Síndrome de Sjogren	34
5. Discusión	38
5.1 Metabolómica de Esclerosis Sistémica	38
5.2 Metabolómica de Síndrome de Sjogren	40
5.3 Metabolómica de Esclerosis Sistémica y Síndrome de Sjogren	43
6. Conclusiones	43
7. Perspectivas	44
8. Referencias Bibliográficas	45
9. Anexos	54

Índice de figuras

Figura 1. Diagrama de Flujo PRISMA que describe las etapas de la revisión sistemática de bibliografía usada en la investigación. 30

Figura 2. Metabolitos encontrados según su taxonomía química en SSc y SSp. Se observan los porcentajes de acuerdo su taxonomía química en Esclerosis Sistémica (A) y Síndrome de Sjögren (B). 33

Figura 3. Análisis de conjuntos de metabolitos de SSc y SSp. Se observa el análisis de las rutas que coincidieron en Esclerosis Sistémica (A) y Síndrome de Sjögren (B) representadas como círculos de acuerdo a su nivel de enriquecimiento. 35

Figura 4. Análisis de ruta metabólica de SSc y SSp. 37

Índice de tablas

Tabla 1. Operacionalización de las variables. 29

Tabla 2. Términos de búsqueda para la selección de Bibliografía. 54

Tabla 3. Metabolitos encontrados en Esclerosis Sistémica según la revisión bibliográfica. 54

Tabla 4. Metabolitos encontrados en el Síndrome de Sjögren según la revisión bibliográfica. 58



Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico

***Perfil metabólico diferencial en suero de pacientes con Esclerosis
Sistémica y Síndrome de Sjögren***

RESUMEN

Las enfermedades autoinmunes son patologías que representan un problema de salud pública por el deterioro de la calidad de vida de las personas que las padecen. Estas enfermedades se definen como la respuesta anormal del sistema inmunológico a moléculas propias o autoantígenos específicos llevando a daño en tejidos; su desarrollo es multifactorial, por lo que en su estudio es imprescindible tener en cuenta los factores ambientales, genéticos, entre otros. La metabolómica es la ciencia ómica que estudia metabolitos, por medio de esta se pueden estudiar eventos biológicos y así determinar alteraciones relevantes en procesos de enfermedades.

Es así que el objetivo de esta investigación es abordar desde la perspectiva de la metabolómica los cambios que se pueden encontrar en perfiles metabólicos entre pacientes con Esclerosis Sistémica y Síndrome de Sjögren. De esta forma se encuentra que hay metabolitos a destacar en estas enfermedades como los ácidos grasos y metabolitos derivados de aminoácidos entre ellos el triptófano los cuales pueden intervenir en su patología. Este estudio proporciona información relevante para futuras investigaciones, lo que supondría un apoyo en la búsqueda futura de nuevos metabolitos que puedan contribuir en el desarrollo de las enfermedades tratadas en este trabajo.

Palabras clave: Metabolómica, Esclerosis Sistémica, Síndrome de Sjögren, Suero, Metabolito, Ecología autoinmune, Autoinmunidad.

Laura Alejandra Moreno Rubiano

Olga Lucía Sierra Hernández

Yeny Acosta Ampudia

Jeannette Navarrete Ospina

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Abril 2022

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades autoinmunes tienen gran relevancia en el campo de la investigación, no solo por entender su origen y desarrollo, sino para comprender todos los procesos que se llevan a cabo para que el sistema inmune reaccione a lo propio y genere una respuesta negativa.

Estas enfermedades autoinmunes, como bien se mencionó anteriormente, tienen repercusiones en la salud de forma severa, una de las enfermedades autoinmunes que más afectaciones tiene en la salud de las personas que la padecen es la Esclerosis Sistémica (SSc). Además de afectar la piel, puede afectar los órganos internos como los pulmones, riñones, intestinos y corazón, por lo cual se convierte en una enfermedad delicada si no se diagnostica a tiempo. Es así, que se genera una necesidad de indagar más a profundidad las características específicas de dicha enfermedad y buscar implementar un marcador específico y potencial para identificar de manera temprana la enfermedad y darle un tratamiento adecuado a los pacientes que la padecen. Lo anterior con el fin de ofrecer una mejor calidad de vida y, evitar el avance de la enfermedad y por consiguiente un desenlace fatal.¹

Por otro lado, el Síndrome de Sjogren (SSp) es una enfermedad autoinmune que puede aparecer en ambos sexos y en todas las edades, sin embargo, es más frecuente en mujeres mayores de 40 años. Esta enfermedad tiene una prevalencia de una por cada 1.000-10.000 personas.² Se clasifica según esté acompañada de otras enfermedades autoinmunes, es decir, si la enfermedad aparece en presencia de otra enfermedad autoinmune se denomina Síndrome de Sjögren; cuando se encuentra asociada a otras enfermedades autoinmunes (por ejemplo, Lupus Eritematoso Sistémico, Artritis Reumatoide (AR), Esclerosis Sistémica, entre otros), se denomina Síndrome de Sjögren Secundario. Esta enfermedad sistémica, tiene una progresión muy lenta en el tiempo, pero puede ser grave ya que se ha visto asociada al desarrollo de linfomas. Por otro lado, las complicaciones crónicas involucran problemas de hidratación de mucosas, afecciones de órganos como insuficiencia renal crónica o fibrosis pulmonar, además del ya mencionado linfoma.²

Para su estudio, se hace uso de diversas ciencias que contribuyen a indagar sobre la naturaleza de la enfermedad. Una de estas son las ciencias ómicas, las cuales implican un conjunto de ciencias que permiten el estudio de diversas moléculas que pueden intervenir en procesos fisiológicos importantes para un organismo. Es así, como el uso de las ciencias ómicas, específicamente el uso de la metabolómica, resulta en una herramienta sólida para el estudio de enfermedades autoinmunes, ya que los metabolitos son moléculas o productos que se generan después de que se llevan a cabo procesos importantes en la célula. Por esto, el uso de la metabolómica en enfermedades autoinmunes resulta muy acertada para determinar aquellos procesos que se dan en estas enfermedades y así mismo nos indican puntos claves o indicadores en el desarrollo de las mismas.

Es de gran relevancia conocer las rutas metabólicas y metabolitos asociados al desarrollo de enfermedades autoinmunes como SSc y SSp, ya que permiten conocer marcadores de diagnóstico y pronóstico, así como entender la fisiopatología de estas enfermedades.

1. Antecedentes

Las enfermedades autoinmunes tienen un impacto importante en la salud de las personas que la padecen debido a que existe un grupo diverso de afectaciones en las cuales puede llegar a afectar a múltiples órganos o de manera específica a un órgano diana. Esto representa un problema de salud pública, lo que conlleva al estudio de la ecología autoinmune a evaluar el impacto del entorno ya que afecta directamente el desarrollo de una enfermedad autoinmune (incluso más que la genética de cada individuo). La ecología autoinmune según Anaya et al³ se refiere al estudio de las interacciones entre individuos y su entorno que llevan a la ruptura de una tolerancia inmunológica y el desarrollo de una enfermedad autoinmune. La ecología es semejante al exposoma, es decir, hace referencia a todas las exposiciones internas y externas que tiene cada persona correlacionado con factores hereditarios, lo que hace importante el enfoque de distintos estudios hacia aquella respuesta inmune generada ante los distintos agentes ambientales.³

Por medio del análisis de las multi ómicas como genómica, proteómica, o metabolómica, se puede evaluar cambios en el curso de la enfermedad de manera global. Es así como por medio de la metabolómica, la ómica del metaboloma, se ha logrado identificar cambios significativos en el metaboloma de enfermedades autoinmunes relacionadas con el ambiente. Un ejemplo, es el consumo del cigarrillo o alcohol, que contiene sustancias tóxicas asociadas a inflamación y que han influenciado el desarrollo o exacerbación de diversas enfermedades autoinmunes. El estudio de estas interacciones permite confirmar asociaciones y así mismo establecer nuevas para comprender la fisiopatología de estas enfermedades autoinmunes.⁴

El uso de la metabolómica como herramienta para la determinación de moléculas relevantes en enfermedades autoinmunes se ha usado en diversas investigaciones. Zhang et al⁵ realizaron un análisis del perfil metabolómico en muestras de materia fecal en individuos con Lupus Eritematoso Sistémico (LES) a través de cromatografía líquida y espectrometría de masas. Diferentes metabolitos fueron identificados como potenciales biomarcadores de interés.⁵

Por otra parte, cabe resaltar que el LES ha sido asociado con la resistencia a la insulina que presentan una parte de las personas que sufren de esta patología, por lo cual, Mendoza⁶ et al realizaron un estudio en donde se tenía como objetivo describir un perfil metabólico de 70 pacientes con LES y sin diabetes, para evaluar la resistencia a la insulina. En este estudio observaron que el 64.2 % de pacientes presentaban resistencia a la insulina y un perfil metabólico diferencial. Este avance en la metabolómica permitió desarrollar biomarcadores de predicción en el campo de las enfermedades autoinmunes, en este caso, para el control de los pacientes con LES con riesgo de desarrollar diabetes.⁶

En el estudio de metabolitos se puede hacer uso de diferentes muestras biológicas, es así, como en el estudio realizado por Kalantari et al⁷ identificaron biomarcadores para el diagnóstico de Nefritis Lúpica (NL), una forma grave de LES, y así mismo comprender su papel en la enfermedad. Para esto, se usaron muestras de orina, las cuales fueron evaluadas por resonancia magnética nuclear ¹H con el fin de identificar metabolitos y vías perturbadas responsables del daño renal que causa esta enfermedad.

Li J et al⁸ realizaron estudios metabólicos sobre NL. Para ello se empleó cromatografía líquida junto espectrometría de masas en muestras de suero. Se identificaron 14 posibles biomarcadores relacionados con el aumento de sorbitol, metabolitos del ácido glicólico, y metabolitos asociados con la disminución de cortisol, creatinina y L-aspartil-L-fenilalanina.

Zhang et al.⁹ compararon los perfiles metabólicos de individuos sanos con pacientes diagnosticados con LES. Gracias al uso de cromatografía líquida y espectrometría de masas en tándem, se identificaron perfiles diferenciales en los grupos evaluados. Nueve metabolitos se encontraron disminuidos en los pacientes con LES, específicamente, el ácido L-piroglutámico fue identificado como posible marcador de diagnóstico de pacientes con sospecha de LES.⁹

2. Marco Teórico

2.1 Autoinmunidad y ecología autoinmune

El desarrollo de las enfermedades autoinmunes tiene un origen multifactorial, es decir, diversos factores intervienen en su origen y desarrollo como factores genéticos, hormonales, inmunológicos y ambientales se pueden superponer entre sí y generar la enfermedad.¹⁰

Es importante mencionar que existen reacciones autoinmunes que son de gran importancia para el bienestar del individuo, lo que se conoce como autoinmunidad fisiológica o positiva. La autorreactividad fisiológica es esencial para la selección de linfocitos y mantener la homeostasis en el sistema inmune. Es así como los autoanticuerpos naturales contribuyen en la eliminación de detritus presentes en el organismo, de esta forma intervienen en la mediación del mecanismo regulador de la respuesta inmune principalmente en respuestas agudas. Este tipo de autorreactividad no presenta consecuencias clínicas ya que es un proceso que se realiza para mantener un equilibrio en el sistema.^{10, 11}

Por otro lado, cuando la respuesta inmune genera una autoinmunidad patógena asociada con daño en órganos se denomina enfermedad autoinmune. Las enfermedades autoinmunes se pueden clasificar en enfermedades en órganos específicos (Esclerosis Múltiple, Diabetes tipo I, entre otros) y sistémicas (AR, LES, entre otros).^{10,11}

Un ejemplo de los factores ambientales, es la vitamina D, esta vitamina es conocida como la vitamina del sol y es importante para que las células lleven a cabo sus funciones como permeabilidad a varios iones como el calcio. La vitamina D se ha mostrado involucrada en el desarrollo de Esclerosis Múltiple y enfermedades cardiovasculares. Varios estudios han demostrado que las personas que nacieron o vivieron durante los primeros 10 años de vida a bajas latitudes tienen menos riesgo de desarrollar Esclerosis Múltiple, en comparación con aquellos que nacieron en altas latitudes. De igual manera, en otras investigaciones se observó que al

augmentar la ingesta de vitamina D disminuye la incidencia de Esclerosis Múltiple. Es decir que la exposición solar y por consiguiente, la vitamina D tiene asociación con el riesgo de desarrollar Esclerosis Múltiple.¹²

Por otro lado, algunas enfermedades autoinmunes pueden verse asociadas a infecciones, por ejemplo, *Streptococcus pneumoniae* se ha visto asociado al desarrollo de Encefalomielitis Autoinmune Experimental (EAE). Un estudio realizado por Hermann et al¹³, mostró que los componentes bacterianos y virales son tomados como factores coestimuladores para el desarrollo y exacerbación de la EAE, incluso si es una infección leve.

Otros estudios ponen en evidencia varias perspectivas en donde el estrés juega un papel importante en la respuesta inmune.¹⁴ El sistema inmunológico se encuentra muy relacionado con el sistema nervioso, por lo cual, es evidente que los cambios que se generen en el exterior pueden afectar directamente el funcionamiento normal del sistema inmune, de tal forma que el estrés puede generar una supresión en la producción de proteínas, lo que conlleva a la disminución de leucocitos que generan anticuerpos que son proteínas especiales encargadas de reconocer sustancias extrañas en el organismo y citoquinas, lo que afecta el funcionamiento celular.

Se han evidenciado otros factores que pueden intervenir en el desarrollo de enfermedades autoinmunes, como son los inmunotóxicos, sustancias tóxicas que alteran la respuesta inmune, ya sea una supresión o sobreactivación de esta, causando reacciones de hipersensibilidad. Según Corsini et al¹⁵, estos compuestos xenobióticos pueden ser cruciales para el desarrollo de una enfermedad autoinmune en aquellas personas que tienen predisposición genética.

Además de los ya mencionados, se pueden encontrar otros factores que modulan la respuesta inmune y por consiguiente la autoinmunidad, como la microbiota intestinal. Leeba et al¹⁶, describieron la importancia de la microbiota debido a que el tracto gastrointestinal es uno de los primeros sitios de interacción entre el sistema inmune y el patógeno; a partir de esto, se ha descrito la hipótesis de la higiene debido a la poca exposición a patógenos y parásitos como causa de autoinmunidad. También se ha mostrado que hay diversas enfermedades autoinmunes inflamatorias

asociadas a la microbiota intestinal, causadas por la disfunción del sistema inmune innato y disbiosis, como sucede en pacientes con LES activo, donde la calidad de la resistencia a la colonización (RC) de la microflora intestinal es menor que en individuos sanos.¹⁶

Otro ejemplo es la influencia a nivel genético de las enfermedades inflamatorias intestinales y enfermedades autoinmunes descritas por Clark et al.¹⁷ En este estudio se demuestra que las enfermedades inflamatorias intestinales (EII) son trastornos que involucran diversos factores etiológicos como infecciones y respuesta inmune y fisiología alterada de los enterocitos. El uso de herramientas de bioinformática para este tipo de enfermedades como la enfermedad de Crohn (EC) y la colitis ulcerosa (CU) permite realizar un retrato completo de la relación entre las EII y las enfermedades autoinmunes. Se encontró que algunos subtipos de EII tienen una alta relación con enfermedades autoinmunes a nivel genético, esto asociado a una respuesta alterada de linfocitos B y citoquinas como el interferón.¹⁷

En 2012, un estudio realizado por Karlen et al¹⁸ determinó si el entorno social y las diferencias socioeconómicas afectan la inducción de autoanticuerpos relacionados con diabetes en niños. Se evidenció que había diferencias en la prevalencia de autoanticuerpos en niños de dos ciudades analizadas, lo cual indica que factores del entorno social como "estrés comunitario pasivo" puede desencadenar autoanticuerpos relacionados con la diabetes en niños. Es decir que los factores sociales junto con los factores genéticos son importantes en el desarrollo de la enfermedad. Por ejemplo, las exposiciones virales en embarazo, exposición a proteínas de leche de vaca durante los primeros meses de vida, exposición al gluten, el aumento de peso corporal en la infancia, entre otros pueden llevar a la producción alta de insulina y por consiguiente el estrés celular.

Como bien se ha mencionado anteriormente, diversos factores influyen en el curso de las enfermedades autoinmunes, se han realizado estudios en donde se evalúan condiciones ambientales en distintas poblaciones, lo que ha llevado a generar bases para fundamentar que las alteraciones en el entorno afectan directamente al desarrollo del funcionamiento del sistema inmune en una población, esto debido a que el medio ambiente se ve relacionado con el equilibrio en la gran diversidad

genética y fenotípica de un determinado lugar como lo mencionó Guivier et al.¹⁹ Se ha descrito que la influencia del medio ambiente sobre el sistema inmunitario conlleva a la alteración o cambio en la expresión de algunos genes, lo que explica la adaptabilidad de varias especies de seres vivos frente a algunas enfermedades.¹⁸ Es pertinente mencionar que el estudio de la ecología es aquel que se lleva a cabo en el entorno donde interactúan seres humanos y otras especies y de cómo se vive en cada ambiente específico, refiriéndose a la relación existente entre el entorno y todos sus habitantes. Un sistema de relaciones en donde se evalúan la influencia que tiene el entorno en el desarrollo de distintas enfermedades autoinmunes y cómo influye el estilo de vida en el progreso de las mismas ha sido descrito por Villarraga et al²⁰.

Por otra parte, se ha evaluado la relación existente entre el género y el desarrollo de enfermedades autoinmunes. Datos demuestran que la relación directa de factores genéticos y desencadenantes ambientales en mujeres sometidas a un cambio ambiental tienen un riesgo más alto de desarrollar una enfermedad autoinmune. Por lo general, enfermedades órgano específicas, como se menciona en el estudio realizado por Tiniakou et al²¹, enfermedades como la AR, la polimialgia reumática y el Síndrome antifosfolipídico primario son enfermedades que se presentan comúnmente en las mujeres.

Por otra parte, se ha dicho que la selección natural se ve implicada en distintos cambios en el funcionamiento del sistema inmunológico de los seres humanos, ya que se plantea que los seres humanos han sido resultado de un sin fin de evoluciones de antepasados de tal manera que para llegar a ser lo que se conoce hoy en día se han venido generando un sin fin de mutaciones en distintos genes. Por lo cual, el estudio de todo el genoma en busca de analizar específicamente los posibles cambios generados cuando se es sometido un individuo a ciertos entornos y en cómo esto afecta al desarrollo en enfermedades autoinmunes es de vital importancia.²²

Varias enfermedades autoinmunes se pueden presentar en individuos de forma simultánea, es decir, que un individuo pueda llegar a padecer más de una enfermedad autoinmune, por lo cual, se plantea el término de tautología

autoinmune, en donde mecanismos comunes están asociados con el desarrollo de diversas enfermedades autoinmunes. Es posible que dadas las circunstancias y la influencia de distintos factores del entorno en una misma persona pueda llegar a padecer de más de dos enfermedades, lo cual se conoce como poliautoinmunidad, donde se evidencia la relación de distintas enfermedades y la influencia que reciben estas por el entorno.²³

No solo se debe concentrar el estudio de las enfermedades autoinmunes en la alteración provocada por mecanismos internos del cuerpo, es necesario el estudio de la microbiota natural de cada individuo y de cómo esta puede ser alterada por factores externos lo cual lleva al desencadenamiento de respuesta inmunológica que genera una enfermedad autoinmune.²⁴

Se han llevado a cabo estudios de valoración de la microbiota que se encuentra en el tracto respiratorio, teniendo en cuenta que los pulmones no son un órgano estéril, y que al ser comparado con los patrones de la microbiota gastrointestinal son mecanismos diferentes por la composición de cada microbiota. Se reportó que en el momento de cursar un proceso de inflamación, la flora presente naturalmente en cada órgano, especialmente en el tracto respiratorio puede elevar su concentración y alterarse el equilibrio, convirtiéndose en patógenos que pueden desencadenar el desarrollo de enfermedad autoinmune, como se mencionó en el estudio realizado por Huffnagle et al,¹⁶ los factores contribuyentes para desarrollar una enfermedad pueden incluir la inhalación de bacterias del aire y la migración directa a lo largo de las superficies mucosas de las vías respiratorias.²⁵

Por otro lado, también se ha visto la relación entre la vitamina D y el Síndrome de Sjögren de acuerdo a lo mencionado por García et al,²⁶ debido a que se observó en este estudio que los pacientes con este tipo de síndrome han documentado deficiencia de vitamina D, además se plantea que la radiación ultravioleta y la vitamina D podrían estar relacionados con la patogenia y procesos extraglandulares del Síndrome de Sjögren. También se ha documentado que los niveles de cromo se correlacionan con la prevalencia de esta enfermedad, sobre todo en las áreas con altos niveles de este elemento como los suelos agrícolas.²⁷

2.2. Metabolómica

La metabolómica, ciencia ómica que estudia a los metabolitos o moléculas pequeñas que se encuentran por debajo de 1,5 kDa; estas moléculas incluyen aminoácidos, carbohidratos, lípidos, entre otros; la determinación de estos metabolitos contribuye a comprender los eventos biológicos en un organismo o célula.²⁸

Por otra parte, la metabolómica es conocida como un sistema en el cual se identifican los distintos perfiles de metabolitos, dichos metabolitos se encuentran en biofluidos o en los tejidos de los organismos, esta ciencia es de relevante importancia debido a la posibilidad de evaluar los cambios que se generen en el cuerpo por medio de la presencia o ausencia de los metabolitos de interés, estos cambios se pueden generar por distintas causas entre las cuales pueden estar las influencias ambientales, el estilo de vida que lleve cada individuo y la genética.²⁹ Es así que es importante la medición detallada de los metabolitos ya que a través de estos análisis se pueden encontrar alteraciones relacionadas con el desarrollo de una enfermedad, tratamiento, estilo de vida, microbiota, etc. Estos estudios de metabolómica se usan cada vez más en la evaluación de pacientes ya sea para hacer un diagnóstico de alguna enfermedad, respuesta a tratamientos específicos o incluso el descubrimiento de nuevos biomarcadores.²⁹

Gracias a las plataformas analíticas en donde se analizan cientos de metabolitos de forma simultánea se puede realizar un seguimiento de los cambios a lo largo del tiempo. Para esto, se utilizan técnicas espectroscópicas avanzadas, precisas y de alta resolución como espectroscopia de resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas combinadas con cromatografía de gases o cromatografía líquida.²⁹

La metabolómica es una herramienta con un enorme potencial para ser usada en este tipo de estudios. En la práctica, la metabolómica se puede distinguir entre metabolómica dirigida y no dirigida, esto según el enfoque que se quiere aplicar para el estudio de los metabolitos de interés.²⁸

Cuando se habla de un enfoque dirigido se refiere a un análisis de metabolitos que ya se conocen y que son utilizados para evaluar rutas metabólicas de interés, estas se pueden usar para la evaluación de un organismo en particular e igualmente si se quiere evaluar un cambio en los metabolitos frente a algún factor ajeno como perturbaciones ambientales o patologías, o investigaciones en estudios farmacocinéticos. Esta técnica posee algunas ventajas ya que al tener estándares y marcadores se facilita hacer la identificación y cuantificación de los metabolitos. Es así que con este tipo de metabolómica se pueden cuantificar niveles de metabolitos para hacer comparaciones entre sujetos y establecer el estado de salud a partir de muestras biológicas. Se puede considerar como desventaja el condicionamiento en la cobertura de la detección de metabolitos, esto llevando a pasar por alto alguna respuesta metabolómica.²⁸

Por otro lado, se tiene al enfoque no dirigido, este tiene un alcance amplio ya que busca detectar simultáneamente grandes cantidades de metabolitos y características como sea posible. Esta técnica combinada con estadística logra estudiar el metaboloma de forma extensa y así buscar cambios o diferencias entre los grupos a analizar con los de control, además, por medio de este enfoque se logran detectar metabolitos o biomarcadores desconocidos.^{28, 30.}

2.2.1 Técnicas utilizadas en metabolómica.

Los estudios en metabolómica se hacen por medio de técnicas químicas, estas teniendo variaciones dependiendo del enfoque que se le quiere dar al estudio (dirigido o no dirigido). Estos estudios se realizan utilizando espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) y espectrometría de masas (MS, por sus siglas en inglés), la última usualmente se combina con otras técnicas de separación dando así paso a técnicas como la cromatografía líquida con espectrometría de masas LC-MS, cromatografía de gases con espectrometría de masas GC-MS y la cromatografía líquida de ultra rendimiento acoplada a espectrometría de masas HPLC-MS. La combinación de estas técnicas es una ventaja favorable en la determinación de metabolitos y marcadores debido a que de esta manera se complementan y se logra un mayor alcance en la determinación de estos.³¹

Las técnicas asociadas a espectrometría de masas proporcionan una sensibilidad mayor a la RMN. La MS es una plataforma líder que proporciona ventajas en la elaboración de perfiles metabólicos³⁰ y proveer métodos de análisis de datos multivariados que son esenciales para la reducción de datos.³¹ Sin embargo, al tratarse de varios aspectos a analizar, como por ejemplo, peso molecular, polaridad y solubilidad, no hay una sola técnica analítica que provea este tipo de información en conjunto y de manera integral, por lo que para el estudio en la metabolómica se deben cubrir enfoques específicos en el metaboloma.³⁰

Como ya se ha mencionado anteriormente, este estudio implica un gran conjunto de datos, por lo que herramientas y métodos de análisis computacionales son necesarios para un buen tratamiento de datos y análisis adecuado, eliminando el sesgo sistemático y explorando hallazgos biológicamente significativos. El uso de bases de datos e instrumentos analíticos permite que la elaboración de perfiles metabólicos tenga una alta precisión además del uso de la bioinformática como instrumento esencial para interpretación y análisis de grandes conjuntos de datos, por lo que es de vital importancia que se tengan en cuenta todos los procesos estadísticos y bioinformáticos para realizar un adecuado análisis de los datos obtenidos. Para realizar una correcta interpretación de los datos obtenidos de un estudio de metabolómica, estos deben ser procesados, en donde se hacen comparaciones de conjuntos de datos, alineación espectral de masas, normalización de señales e identificación de metabolitos además del control de calidad.^{30, 32.}

El procesamiento típico de MS implica el tratamiento de datos, detectando picos de señal, normalizando y comparando conjuntos de datos para generar una matriz de datos. Estos datos son analizados por métodos estadísticos en donde se agrupan y alinean además del proceso de calidad y retroalimentación.^{30, 33} El Procesamiento de estos datos empieza con la conversión del formato de archivo de MS a formatos más comunes ya que son los más utilizados para almacenar datos de este tipo. Por la cantidad de datos tratados obtenidos en las técnicas de metabolómica se eliminan pequeños picos de señales además de filtrarlos por medio de códigos abiertos para disminuir los datos.^{30, 34.}

Para la detección o visualización de características, los datos en bruto obtenidos se muestran en planos tridimensionales que utilizan tiempos de retención, migración, m/z y datos de intensidad, en donde en el pre procesamiento de estos se convierten primero en montones de cromatografías y electroferogramas bidimensionales. En los espacios bidimensionales se sitúan la relación masa/carga o m/z y su procesamiento, el segundo corresponde al tiempo de retención y la abundancia relativa de cada m/z en particular. Luego de esto se realiza eliminación y suavización de datos para eliminar falsos positivos. Después de esto se ajusta un modelo para identificar picos por encima del umbral especificado según los requerimientos del estudio. Usualmente se utiliza un ajuste de algoritmos debido a que el procesamiento de los picos en LC-MS y CE-MS son complejas.^{30, 33} Después de esto se prosigue con la alineación de los datos obtenidos eliminando cambios de tiempos de migración para el procesamiento de los datos. En cuanto a la calibración y alineación de datos m/z se debe tener en cuenta que estos valores detectados dependen de factores como temperatura, abundancia de iones y capacidad de procesamiento junto con las especificaciones del detector, por lo que los datos obtenidos deben calibrarse, es así cómo se aplican curvas de calibración utilizando picos conocidos para corregir valores de m/z de picos de interés.³⁰

Posteriormente se realiza el escalamiento y normalización de los datos, en donde hace eliminación de los sesgos no deseados (que se pueden dar por la variación en la concentración de la muestra) manteniendo las diferencias biológicas en los conjuntos de datos. Además de esto, se deben eliminar desviaciones en la intensidad de la señal dados por errores de medición, para esto, se hace uso de estándares y así dar una correcta identificación de los metabolitos, aunque esta incorrecta identificación o desviación de señales se puede corregir con algoritmos.

30, 32

Más adelante se realiza la identificación precisa de los compuestos, es decir, hacer coincidir los espectros obtenidos en las mediciones con compuestos estándares ejecutados en las mismas condiciones, esto por medio de estándares internos como muestras marcadas isotópicamente. Para el procesamiento de datos además de la detección y alineación de picos se hace uso de algoritmos, su selección es

importante junto con los parámetros para analizar los conjuntos de datos obtenidos, un ejemplo de paquetes de software que están disponibles gratuitamente para datos de LC-MS XCMS, MZmine, msInspect y OpenMS. Para la identificación de metabolitos se ha recomendado el uso de umbrales de confianza para la notificación de datos junto la evaluación cuantitativa de la calidad de la identificación al emplear la tasa de descubrimiento falso o FDR.³⁰ Una vez los datos se encuentran en estos paquetes de software se seleccionan los conjuntos de datos que se quieren comparar, allí se realizan ajustes según las técnicas de instrumentación usadas y se envían a un servidor de Scripps para procesar estos, estos resultados en forma de gráficas se obtienen en línea en donde se pueden comparar con diferentes conjuntos de datos usando metaX CMS.³³

2.2.2 Análisis bioestadístico de datos.

Después de generarse una matriz con datos, se procede a realizar análisis estadísticos de datos para identificar los metabolitos en el conjunto de datos obtenido. Para esto se realizan análisis univariados y multivariados para clasificar y evaluar los datos obtenidos., Sin embargo, antes de esto a los conjuntos de datos se les puede aplicar el rango intercuartílico o IQR; esta medida es una estimación de estadística de un grupo de datos en donde se busca seleccionar los datos que no se encuentren extremadamente alejados, si los datos no se distribuyen normalmente se puede aplicar transformaciones logarítmicas.³³

PLS por sus siglas mínimos cuadrados parciales consiste en un método de regresión, es decir, un modelo que se utiliza para estimar las relaciones entre dos variables, o es este caso dos matrices, X e Y. Este método de análisis es multivariante, puede analizar datos con variables X fuertemente correlacionadas y numerosas además de modelar diversas variables de respuesta. Esta es útil cuando hay menos muestras disponibles que variables (metabolitos). Aunque, para estudios de metabolómica ha sido ampliamente usada junto con el análisis discriminante de PLS (PLS-DA). El método de PLS-DA utiliza un grupo de clases binarias Y para explicar las variables ubicadas en X, las gráficas de este se ven con diferentes proyecciones.^{33, 35}

La clasificación de datos por PLS y análisis discriminante de PLS o PLS-DA se ha utilizado para aumentar la separación entre grupos. Similar a las gráficas en PCA que se explicarán más adelante, en estas gráficas S generadas se visualiza la covarianza (grado de variación conjunta de dos variables), la correlación entre metabolitos y la designación de la clase. Es así como este gráfico identifica metabolitos significativos desde un punto estadístico y bioquímico. Sin embargo, para este tipo de clasificación de datos se debe tener validaciones cruzadas o permutaciones para evaluar la capacidad de clasificación de este modelo esto debido a que exageran la capacidad de generalización de datos.³⁰

Por otra parte, está la técnica de análisis de componentes principales o por sus siglas PCA, la cual se emplea para poder interpretar los resultados obtenidos. Este resulta ser un método eficaz y claro que permite observar las relaciones entre variables y es altamente utilizado como un análisis exploratorio ya que se observan patrones y tendencias metabólicas. El PCA obtiene la mayor variación de los datos obtenidos en los estudios de metabolómica sin discriminar dicha variación, por lo cual el número de componentes óptimos obtenidos puede valorarse a partir de métodos de validación cruzada, los cuales calculan el poder predictivo de dicho análisis. Estos métodos están basados en la eliminación de algunos grupos de datos, en donde se da el cálculo de un nuevo modelo a partir de los datos restantes y también la predicción de los valores de los datos eliminados.³⁶

Las ventajas que trae el PCA es la posibilidad que ofrece de descomponer los grandes datos obtenidos y exponerlos en gráficos que resumen el comportamiento de las observaciones y de las variables, por tal motivo, en la mayoría de los estudios de metabolómica se utiliza esta técnica como el primer paso para explorar los resultados. El procedimiento base se repite sucesivamente de manera que los datos se puedan representar ya sea en dos o tres dimensiones que faciliten su completa comprensión de manera certera.^{30. 36}

En cuanto a su interpretación, el PCA al realizar una transformación de manera lineal de los datos obtenidos originalmente genera un nuevo sistema de coordenadas, lo que se conoce como componentes principales, que son los ejes de

este nuevo sistema de coordenadas generados. El primer componente principal (PC1) es aquel eje que representa la mayor varianza del conjunto de datos, por otra parte, la segunda varianza más grande es el segundo eje (PC2), de esta manera se organizan sucesivamente según los ejes generados dependientes de los datos del estudio de metabolómica. Al estar ya graficados los datos podemos interpretarlos según la distancia entre las muestras lo que indica su similitud o diferencia.³⁷

Las técnicas de PCA y PLS-DA son las más usadas para estudios metabolómicos, a pesar de que PCA permite visualizar diferencias y similitudes de datos usualmente es una herramienta de clasificación débil para clases por lo que se usa como primer método para clasificación antes de PLS-DA, este último se utiliza para maximizar la resolución de los datos obtenidos.³⁰

También existen otro tipo de métodos para análisis de datos en metabolómica como análisis de cluster, en donde se dividen los conjuntos de datos observados en clases o tipos según una función seleccionada; esto se da según dos tipos de algoritmos: métodos jerárquicos y no jerárquicos. El agrupamiento jerárquico HLC alinea conjuntos generando dendrogramas o gráficas en forma de árbol, por otro lado, el agrupamiento en clústeres no jerárquica también agrupa estos datos, pero como lo indica su nombre sin ninguna organización jerárquica. También se utiliza el algoritmo de bosques aleatorios, en donde es un método usado para discriminar dos grupos; utiliza un conjunto de árboles para la clasificación en donde las divisiones el conjunto de variables estudiadas es un subconjunto aleatorio de variables.³⁰

2.3 Esclerosis Sistémica y Síndrome de Sjögren

2.3.1 Esclerosis Sistémica

También conocida como esclerodermia es una enfermedad autoinmune crónica sistémica, la cual es caracterizada por la afectación en la piel y en los órganos internos. Esta afectación se debe a la alteración del colágeno, el cual es el conjunto de proteínas que dan soporte a los órganos y tejidos del organismo. Es una

enfermedad de causa desconocida en la cual se ha reportado que intervienen factores genéticos como factores ambientales.³⁸

En el género femenino es el más recurrente con la enfermedad, presentándose el pico en la edad media de la vida de las mujeres. Por otra parte, según la extensión de la afectación cutánea que se presente se puede dividir en dos tipos, el primer tipo es la afectación cutánea difusa y la segunda es la afectación cutánea limitada.¹

La respuesta inmune que desencadena esta enfermedad en las personas afectadas se da por la producción de autoanticuerpos, los cuales son reactivos contra las propias estructuras del organismo que desencadenan una reacción inflamatoria; esta reacción inflamatoria se debe específicamente a la migración de los leucocitos por medio del endotelio hasta el tejido afectado y esto lleva a la activación de los macrófagos y linfocitos T, los cuales van a ser los encargados de la producción de citoquinas como la IL-2, IL-4, IL-6 y el TNF α , que exacerban la reacción autoinmune.³⁹

En cuanto a la afectación cutánea limitada se describe que tiene un comienzo lento, que se limita a los dedos de las manos y a los codos. Por otra parte, la afectación cutánea difusa, se caracteriza por presentar un comienzo rápido evidente en los dedos de manos, extremidades, cara, tronco por lo cual se evolución se da de manera rápida.⁴⁰

En esta enfermedad es característico el fenómeno de Raynaud, así como la afectación del aparato digestivo, la hipertensión pulmonar, la afectación musculoesquelética y la cardíaca, Cabe resaltar que algunas de las afectaciones que causa esta enfermedad pueden llegar a ser asintomáticas en los principios, por lo cual se hace importante la detección y el adecuado tratamiento precoz.¹

2.3.2 Síndrome de Sjögren

El Síndrome de Sjögren se puede presentar como Síndrome de Sjögren primario (SSp), o como parte de otras enfermedades inflamatorias crónicas como síndrome de Sjögren secundario, como se mencionó anteriormente. Aunque la sequedad de ojos y boca es el síntoma principal, los pacientes con SSp también experimentan manifestaciones sistémicas como dolor articular, muscular y fatiga. En cuanto al inicio de la enfermedad, es frecuentemente insidioso con síntomas vagos, por lo que es común un diagnóstico tardío. El SSp es una enfermedad autoinmune inflamatoria crónica caracterizada principalmente por la presencia de sequedad en los ojos y boca, el sistema inmune ataca a sus propias células las cuales producen saliva y lágrimas. Este síndrome puede afectar a las glándulas exocrinas por la inflamación crónica caracterizada histopatológicamente por infiltración linfocítica y de citoquinas que dañan los conductos secretores, esto llevando a un cuadro clínico de xerostomía (boca seca) y queratoconjuntivitis seca (ojos secos) junto a manifestaciones sistémicas dadas por la infiltración linfocítica en órganos.^{41, 42}

Sus manifestaciones clínicas además de las mencionadas anteriormente son usualmente sistemáticas como fatiga, síntomas musculoesqueléticos y cutáneos, afección hepática, renal y pulmonar. Se ha demostrado que las células epiteliales desempeñan un papel importante en la respuesta inmune local por la presentación de autoantígenos endógenos o exógenos, producción de citoquinas y quimiocinas que activan linfocitos B y otras células inmunes.⁴³

Sobre la respuesta inmune de esta enfermedad, la activación de linfocitos B es una característica de esta enfermedad; esto lleva a una hipergammaglobulinemia y la producción de varios autoanticuerpos, anti-Ro (-SSA) y/o anti-La (-SSB) son los autoanticuerpos de más importancia en la enfermedad. Otros autoanticuerpos que se consideran marcadores inmunológicos se encuentran Anti-Ro-52; anti-Ro y anti-La pueden detectarse años antes de la aparición clínica de la enfermedad. También, se ha observado que la enfermedad se desencadena por algunos factores

externos como infecciones virales por el aumento de la respuesta antiviral; esto lleva a la producción de diferentes interferones IFN producidos por células dendríticas exacerbando al SSp. Todo esto lleva a la activación de respuestas inmunes innatas y adaptativas causando una reacción autoinmune. ⁴²

La fisiopatología de SSp es compleja, comprende la combinación de factores que pueden llevar a la enfermedad. Se ha hablado de un concepto de la enfermedad en donde se tienen en cuenta la predisposición genética, factores ambientales y desequilibrio hormonal, los cuales activan en epitelio a los receptores tipo TOLL (TLR) liberando patrones moleculares asociados al daño o DAMP y liberando citocinas proinflamatorias. Además de estas, interferones tipo I (IFNI), desempeñan un papel fundamental en la patogenia de la SS; estos activan células dendríticas inmaduras, secreción de BAFF, aumenta la proliferación y supervivencia de células T. El aumento del factor de activación de células B BAFF promueve la proliferación, maduración y supervivencia de las Linfocitos B, que son las que predominan en lesiones avanzadas. ⁴⁴

Un modelo propuesto para describir y entender la participación del sistema inmunológico en la enfermedad es el siguiente, en donde las células dendríticas producen IL-12 que lleva a la secreción de IFN- γ y TNF- α por linfocitos Th. IL-7 e IFN-1 regulan positivamente a linfocitos Th1 en glándulas salivales; aquí, TNF- α junto a IFN- γ sensibiliza las células de las glándulas salivales a la apoptosis activando células presentadoras de antígeno y células epiteliales promoviendo la presentación de autoantígenos. También se estimula la secreción de CXCL9/10 llevando al reclutamiento de linfocitos B y T en órganos diana aumentando el proceso autoinmune. En cuanto al papel de las interleucinas, IL-4 e IL-5 proporcionan señales estimulantes para el desarrollo de linfocitos B productoras de autoanticuerpos; IL-13 mejora la proliferación y activación de mastocitos que contribuyen a la disfunción secretora; IL-6, IL-23, TGF- β e IL-1 β , producidas por las células dendríticas derivan células Th17 a partir de células T de memoria. IL-17 promueve la estimulación de receptores de células B y metaloproteinasas que lleva a apoptosis celular. Las células T foliculares facilitan la generación de autoanticuerpos y la formación de centros germinales a través de la secreción de IL-21, la cual a su vez aumenta la proliferación y diferenciación de linfocitos B. ⁴⁵

3. Diseño metodológico

3.1 Universo, población y muestra

El objeto de estudio es bibliografía referente a la metabolómica en individuos que presentan Esclerosis Sistémica y Síndrome de Sjögren.

La muestra corresponde a artículos de investigación, revisiones, que incluyan estudios de metabolómica en suero de pacientes con las enfermedades mencionadas anteriormente.

3.2 Hipótesis, variables, indicadores.

En esta investigación se espera encontrar diferencias entre los perfiles metabolómicos de sueros de pacientes con Esclerosis Sistémica y Síndrome de Sjögren frente a individuos sanos.

- **Hipótesis alterna**

Se espera encontrar diferencias en los perfiles metabolómicos en sueros de pacientes con SSc y SSp frente a los individuos controles descritos en investigaciones previas.

- **Hipótesis nula**

En esta investigación en el análisis de perfiles metabolómicos en sueros de pacientes con SSc y SSp no se espera encontrar diferencias o metabolitos diferenciales frente a los controles utilizados en previas investigaciones.

3.3 Operacionalización de las variables

Se determinaron las variables del estudio necesarias para dar respuesta a los objetivos planteados.

Tabla 1. Operacionalización de las variables.

Variable	Descripción	Medición	Escala	Clasificación
Esclerosis Sistémica	Artículos relacionados con Esclerosis Sistémica	1. Si 2. No	Cualitativa	Categórica
Síndrome de Sjögren	Artículos relacionados con Síndrome de Sjögren	3. Si 4. No	Cualitativa	Categórica
Metabólica en Esclerosis Sistémica	Artículos relacionados con metabólica en Esclerosis Sistémica	5. Si 6. No	Cualitativa	Categórica
Metabólica Síndrome de Sjögren	Artículos relacionados con metabólica en Esclerosis Sistémica	7. Si 8. No	Cualitativa	Categórica

3.4 Técnicas y procedimientos

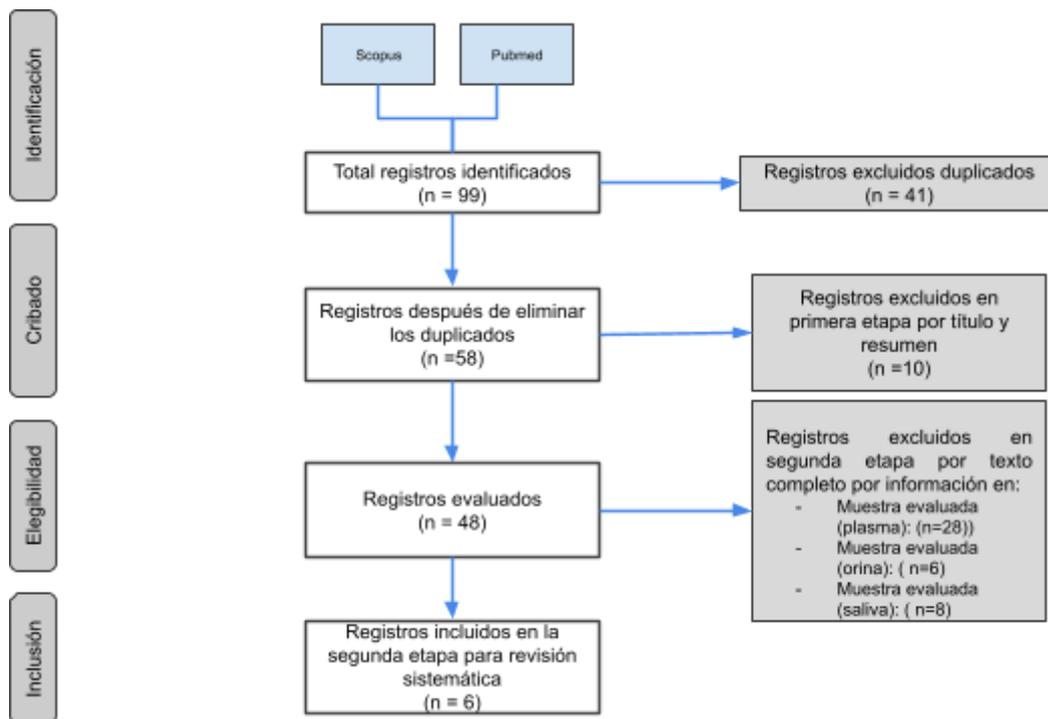


Figura 1. Diagrama de Flujo PRISMA que describe las etapas de la revisión sistemática de bibliografía usada en la investigación.

Para la recolección de información se realizó una revisión sistemática de bibliografía en donde se utilizó como criterios de inclusión artículos de investigación y artículos de revisión que contengan información sobre metabolómica en pacientes con Esclerosis Sistémica y Síndrome de Sjögren. Estudios que no presentaron resultados relevantes para las enfermedades de interés fueron excluidos, se rechazan artículos con fecha de publicación después de diciembre del 2021, papers, capítulos de libros, cartas al autor y reportes de casos. La información registrada fue verificada por dos investigadores para evitar sesgos de bibliografía. Para incluir los artículos, estos debían haber sido realizados en pacientes diagnosticados con estas enfermedades y describir los metabolitos diferenciales alterados encontrados en estas enfermedades frente a pacientes sanos.

En este sentido, se usó los buscadores de Scopus y Pubmed. Esta investigación se realizó con fecha de corte de diciembre de 2021. Para evaluar la calidad de la bibliografía seleccionada se hizo un doble chequeo de la información para no incluir

bibliografía que no cumpliera con los criterios de inclusión. Para la búsqueda de información se hizo uso de términos de búsqueda que se encuentran en la tabla 2 (ver anexos).

De esta forma, se obtuvieron 99 registros, de las cuales se hizo una exclusión inicial de 41 registros ya que estos se encontraban simultáneamente en diferentes bases de datos consultadas. Después de eliminar los registros duplicados, se continuó a hacer una primera etapa de exclusión en donde se tuvo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión, que indicaban que el material debe ser artículos de investigación o revisión que contengan información sobre metabolómica en SSc y SSp.

Así, se evaluaron 48 registros, de los cuales se excluyeron 42, debido a que contenían información en de muestras de saliva, orina o plasma. Nuestro objetivo de evaluación fue en muestras de suero. De esta forma, se incluyeron 6 artículos.

Luego de realizar una revisión de artículos, se encontraron diversos metabolitos evaluados en estudios de metabolómica de SSc y SSp. A partir de esta información, se utilizó HMDB, una base de datos en línea de metabolómica humana, de donde se obtuvo la identificación HMDB de cada metabolito encontrado junto con su taxonomía química y su fuente de obtención (si es un metabolito endógeno o exógeno). Con esta identificación, se logró ingresar a MetaboAnalyst, una plataforma de análisis de datos de metabolómica; esta nos permite visualizar y calcular asociaciones entre los metabolitos encontrados y así realizar análisis de identificación de rutas metabólicas alteradas.

4. Resultados

Para describir los metabolitos encontrados en pacientes con SSc y SSp se realizó una recopilación de estudios, en este sentido se consideraron seis artículos que darán respuesta a los objetivos planteados.

Para su selección, se tuvo en cuenta que los textos contengan información descrita sobre estudios de metabolómica en suero en las enfermedades de interés. La

información obtenida es escasa ya que la bibliografía encontrada sobre metabolómica en SSp y SSc es limitada, sobre todo en muestras de suero. Teniendo en cuenta esta bibliografía, se encontraron metabolitos que se describen en el siguiente apartado y que presentaron perfil diferencia en suero de casos y controles.

4.1 Metabolitos encontrados en Esclerosis Sistémica y Síndrome de Sjogren

Según la revisión bibliográfica realizada en estas dos enfermedades, se logró obtener una recopilación de metabolitos encontrados en SSc y SSp, ver Tabla 1 y 2 (ver anexos). Se evaluaron varios parámetros, entre ellos, la taxonomía química de los metabolitos obtenidos, con una gran diversidad de compuestos de diferente grupo taxonómico, también se tuvo en cuenta su origen o fuente de obtención, ya sea endógena o exógena. Y por último, se consideró la fórmula química y su identificación HMDB para cada uno de los metabolitos.

Según su taxonomía química, los metabolitos encontrados se agruparon según este parámetro para facilitar su comprensión, esto se observa en la figura 2 para SSc y SSp respectivamente. Como se mencionó anteriormente, ambas enfermedades presentan una gran diversidad de metabolitos, sin embargo, se logró observar cómo se destacaban unos grupos sobre otros en cada una de las enfermedades.

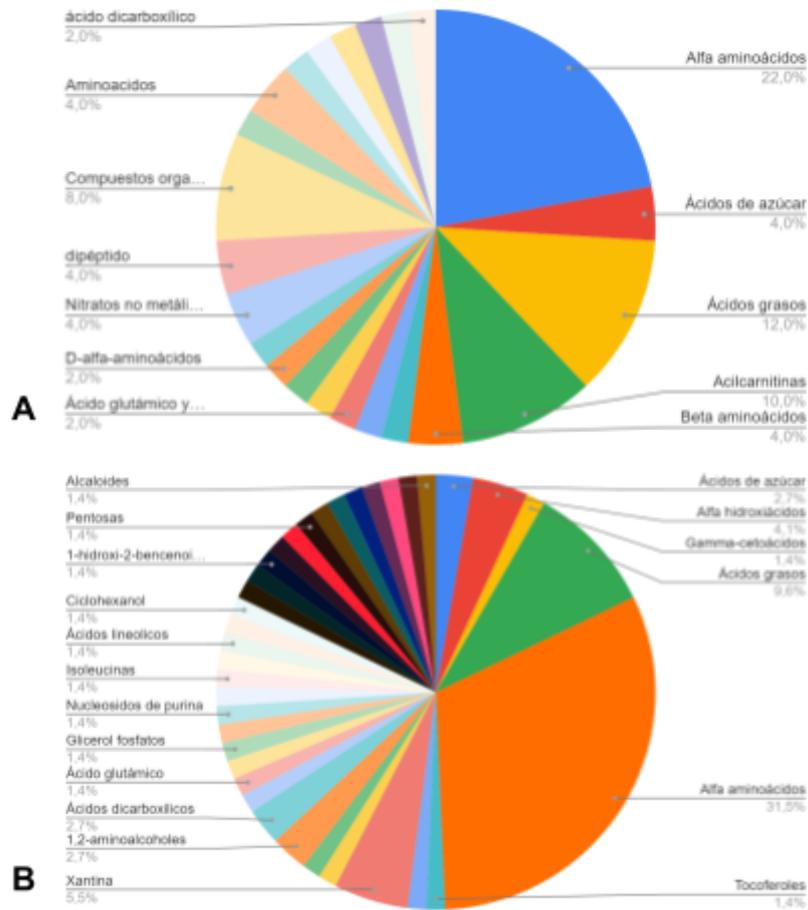


Figura 2. Metabolitos encontrados según su taxonomía química en SSc y SSp. Se observan los porcentajes de acuerdo su taxonomía química en Esclerosis Sistémica (A) y Síndrome de Sjögren (B).

Con base a los datos obtenidos, se deduce que los metabolitos que se encuentran alterados en mayor cantidad en la SSc son los alfa aminoácidos, los ácidos grasos y las acilcarnitinas los cuales representan un 44%. Por otra parte, los metabolitos restantes representan el 56% de los 50 metabolitos graficados como son los ácidos de azúcar, beta aminoácidos, prolina, histidina, ácido glutámico, isoleucinas y derivados, colinas, carnitina, glicerofosfolípidos, nitratos no metálicos, dipéptido, compuestos orgánicos, aminoácidos, ácidos indolil carboxílicos, aminoácido N-trimetilado, sustancia química natural, gas simple, benceno, ácido dicarboxílico, lo cual nos indica las posibles rutas metabólicas con más alteraciones en dicha enfermedad.

Por otra parte, con la información obtenida en la búsqueda de SSp se puede observar que de los metabolitos encontrados, aproximadamente el 41% de estos equivalen mayoritariamente a ácidos grasos y alfa aminoácidos. El 59% restante comprende diversos compuestos como se nombran en la tabla 2 y en la Figura 3, estos incluyen metabolitos de diferente taxonomía química. Todas estas desregulaciones presentadas pueden indicar que hay una alteración en las diversas rutas metabólicas.

Además de lo anterior, es de gran importancia reconocer la fuente de los metabolitos encontrados en esta revisión, los cuales pueden provenir de una fuente exógena que hace referencia a aquellos metabolitos adquiridos de un origen externo como lo puede ser la alimentación o distintos tipos de medicamentos, y por otro lado, pueden ser metabolitos de fuente endógena los cuales tienen su origen dentro del propio organismo en donde entra a jugar un papel importante la genética de cada individuo, los cuales son elaborados por distintas células del huésped. En los metabolitos evaluados se encontró que todos los metabolitos seleccionados en SSp y SSc tienen un origen exógeno, lo que nos proporciona información de gran relevancia para comprender el papel que juega la ecología autoinmune en el desarrollo de estas dos enfermedades.

4.2 Rutas metabólicas alteradas en Esclerosis Sistémica y Síndrome de Sjogren

El análisis de interacciones de metabolitos y enriquecimiento de rutas metabólicas es una herramienta versátil para el análisis de vías metabólicas y, por medio de esta, se puede determinar cuando ocurren perturbaciones o alteraciones de interés en determinados compuestos. Es así como por medio de Metabo Analyst se realizaron gráficos de análisis de metabolitos y enriquecimiento de estos mismos con base a los metabolitos alterados.

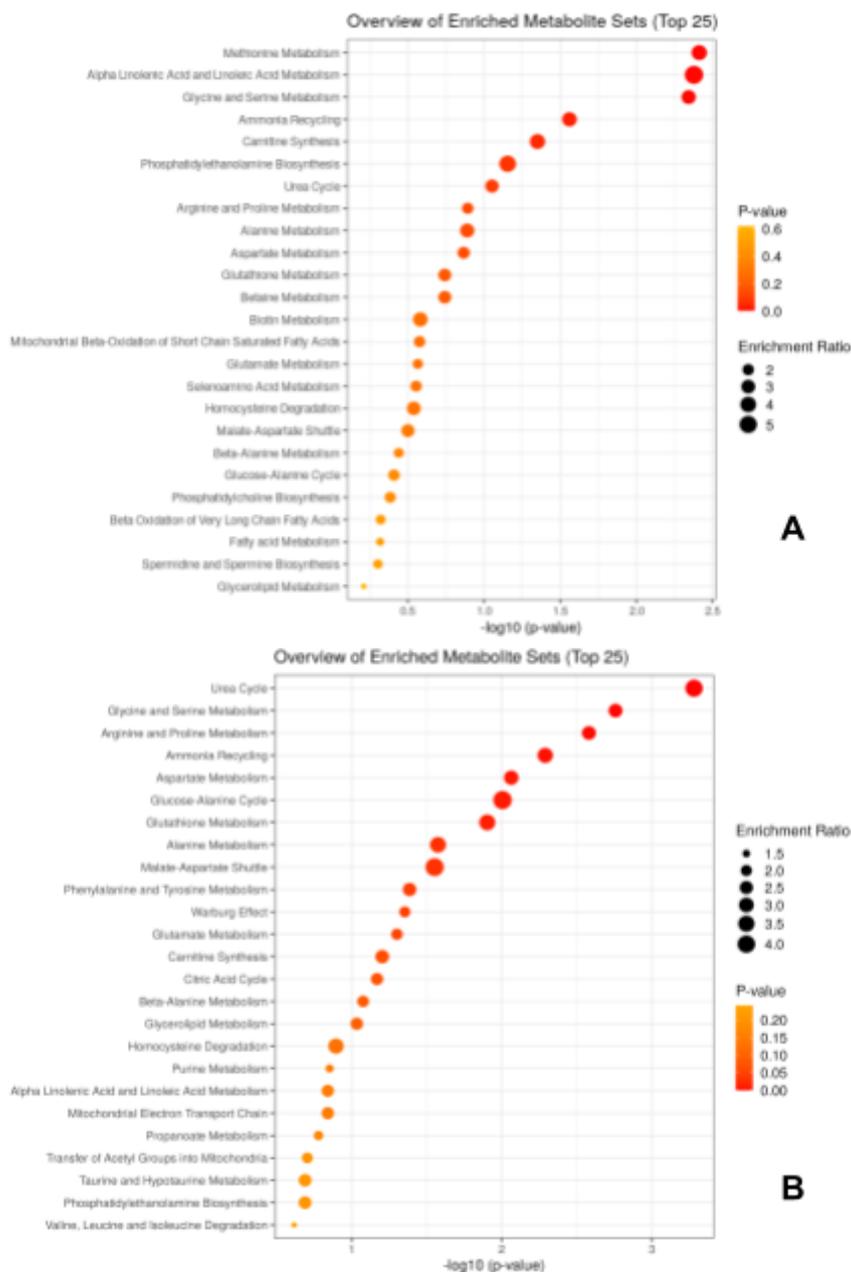


Figura 3. Análisis de conjuntos de metabolitos de SSc y SSp. Se observa el análisis de las rutas que coincidieron en Esclerosis Sistémica (A) y Síndrome de Sjögren (B) representadas como círculos de acuerdo a su nivel de enriquecimiento.

El análisis de enriquecimiento de conjuntos de datos es un método que permite identificar patrones de cambios en enriquecimiento de metabolitos en las vías metabólicas y el valor p de estos; por medio de este análisis, se puede evaluar qué compuestos están sobreexpresados y tienen alteraciones que son significativas en sus concentraciones. Para evaluar el enriquecimiento de una vía se calcula según la relación del número de los aciertos significativos en la vía y el número esperado de

aciertos dentro de la vía. Es así, como las rutas analizadas se muestran como círculos, cada color de estos se basa en su valor p, en donde si tiene más significancia en la vía tendrá un color más intenso, por otro lado, el tamaño de cada círculo representa el impacto de la vía, en donde si se tiene una significancia alta se observará una mayor puntuación de afectación en las vías.

En SSc se encuentran distintos conjuntos de metabolitos involucrados en el desarrollo de la enfermedad, unos con más prevalencia que otros, en donde el metabolismo de la metionina se encuentra con mucha más significancia y así mismo representa uno de los conjuntos con más proporción de enriquecimiento. Esto significa que representa un conjunto con cambios más significativos de metabolitos en la vía afectada por este, sin embargo basados en la gráfica se puede deducir que el conjunto del metabolismo del ácido alfa linolénico representa el grupo con mayor proporción de enriquecimiento. Por otra parte, el metabolismo del glicerolípido se encontró representado como el conjunto con menor significancia y así mismo el de menor enriquecimiento para la afectación en la fisiopatología de esta enfermedad.

Con respecto a SSp, según el análisis de enriquecimiento de las vías, se observa que el ciclo de la urea es una de las vías más perturbadas al mostrar mayor impacto y significancia en esta vía, por lo que nos indica que esta vía metabólica tuvo alteraciones significativas frente a las demás analizadas. Además de esto, se muestra que el metabolismo de glicina y serina junto con el metabolismo de arginina y prolina también mostraron perturbaciones a destacar ya que indican cambios significativos en estas vías metabólicas. Diversas vías metabólicas de las analizadas se encontraron con perturbaciones significativas en SSp, ya sea por su valor p o significancia o por su impacto en estas; esto puede ocasionarse por la variedad de metabolitos alterados encontrados en SSp que pertenecen a diversos grupos químicos, los cuales pueden estar involucrados en distintas vías simultáneamente.

Con respecto a ambas patologías, se observó que estas comparten ciertos metabolitos y así mismo vías metabólicas que presentan perturbaciones. Es así, que al analizar ambas enfermedades en conjunto según su alteración en metabolitos se mostró que las vías con mayor afectación o perturbación de acuerdo a su importancia o impacto correspondieron a las vías de biosíntesis de aminoAcil-tRNA,

biosíntesis de arginina, metabolismo de glicina, serina y treonina, metabolismo de alanina, aspartato y glutamato, metabolismo de D-glutamato y D-glutamina y biosíntesis de fenilalanina, tirosina y triptófano. Esto se puede observar en la Figura 4 a continuación.

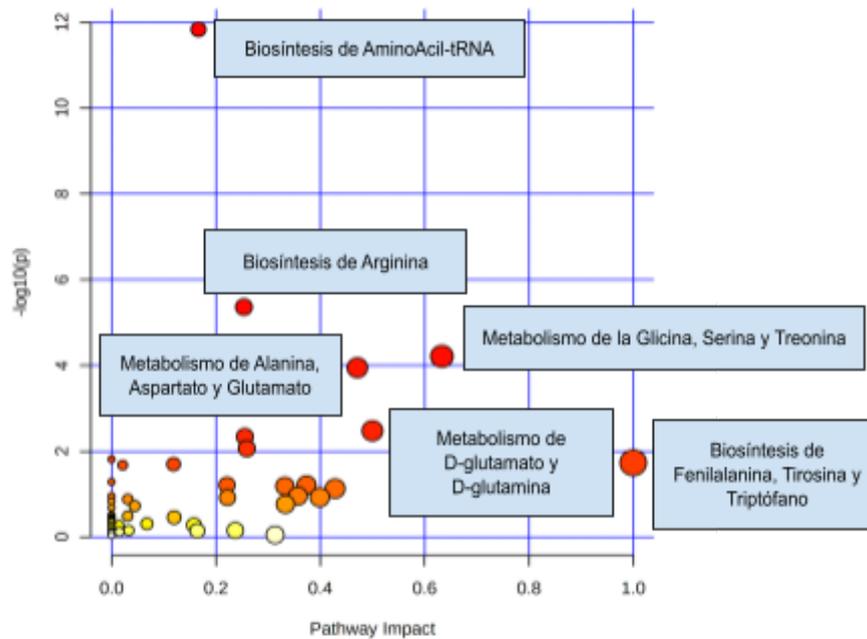


Figura 4. Análisis de ruta metabólica de SSc y SSp. En el eje X se observa el impacto de los metabolitos en cada una de las vías indicadas. En el eje Y se indica el grado de enriquecimiento en los metabolitos identificados. Los colores y el tamaño de cada círculo indica la importancia e impacto de cada ruta respectivamente.

5. Discusión

5.1 Metabolómica de Esclerosis sistémica

Una gran cantidad de metabolitos evaluados en distintas investigaciones se encontraron alterados, el grupo de los metabolitos derivados de aminoácidos representa una parte importante de dichas alteraciones debido a que estos se encuentran involucrados en la síntesis de elementos estructurales y reguladores en el organismo, por lo cual su alteración significa el desencadenamiento de distintas enfermedades como la SSc generando así una perturbación en el patrón sanguíneo.⁵¹

Una de las principales complicaciones en la SSc es el cambio en la piel o esclerodermia. Los datos obtenidos en suero muestran concentraciones muy bajas de una serie de aminoácidos como la asparagina, sarcosina, prolina, histidina, ornitina, citrulina y fenilalanina, También, el triptófano tiene gran relevancia en la SSc, este metabolito es empleado por células endoteliales y por medio de la vía de la quinurenina induce apoptosis dependiente de ROS, es decir, que la quinurenina es un metabolito importante para las células inmunes.⁵²

La inflamación es una manifestación que se presenta en los pacientes que padecen SSc, en donde se da una producción elevada del óxido nítrico que al metabolizarse va a generar eventos de vasoconstricción, lo que desencadenando cambios patológicos en el sistema vascular; transformación de la inflamación en un endurecimiento de la zona afectada, y por ende piel dura y rígida.⁵³

El citrato es otro metabolito alterado en el suero de pacientes con SSc, juega un papel importante en el metabolismo para la producción de energía y al encontrarse en pocas cantidades aumenta su requerimiento, lo que explicaría su disminución debido a su alta demanda para suplir la deficiencia energética en estos pacientes. De igual manera, la respuesta inflamatoria y autoinmune involucra metabolitos como la L-alanina y L-lisina, por lo cual, bajos niveles de estos metabolitos ha sido

observada en estos pacientes. Según un estudio realizado a pacientes con SSc se evidencio que la concentración de citrato se redujo en gran medida en el suero de los pacientes comparado con sueros de individuos sanos. También se ha descrito que se presenta una afectación en el ciclo de krebs a nivel sanguíneo, ya que intermediarios en el ciclo como en el ácido cítrico modula los procesos proinflamatorios de los macrófagos.⁵²

Por otra parte, se encontró que algunos metabolitos aumentan y otros disminuyen en pacientes con SSc en comparación con controles sanos. Los niveles disminuidos pueden deberse a su gasto constante como requerimiento por las células y así mismo por su baja producción.

Con relación a los mecanismos patogénicos de la SSc, estudios en pacientes y modelos experimentales de la enfermedad han permitido conocer metabolitos implicados en lesiones vasculares con isquemia-reperfusión, estrés oxidativo anormal, activación del sistema inmune, afectación gastrointestinal asociada al sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado y malabsorción.⁵²

Es importante resaltar que la metabolómica ofrece una adecuada identificación de potenciales biomarcadores, debido a que por medio de esta ciencia ómica se puede estudiar el perfil metabolómico de las células y del organismo de los pacientes que presentan SSc, esto gracias a el estudio sistémico de los efectos de una gran variedad de factores biológicos sobre el metaboloma. Es así que constituye una herramienta versátil para cuantificar e identificar metabolitos presentes en el suero de pacientes con SSc y productos finales de procesos fisiopatológicos que representan una mejor comprensión a los eventos biológicos de la enfermedad.⁵²

En las enfermedades autoinmunes como la SSc suele ocurrir una alteración tanto en la glucólisis como en la gluconeogénesis en donde se pierde el control de estas vías debido a la infiltración realizada por las células inmunes de los distintos tejidos generando de esta manera una disminución de la relación del oxígeno en la célula. Esto se puede explicar ya que se produce una acumulación de las células inflamatorias que se generan en respuesta a esta enfermedad por lo cual el edema

aumenta la distancia entre las células y los vasos arteriales los cuales suministran el oxígeno.⁵² Al encontrarse alteradas las funciones celulares se generan cambios en una variedad de rutas metabólicas asociadas al desarrollo de la SSc. El metabolismo de los aminoácidos, una mayor producción de proteínas, aumento de la glucólisis por la disminución de la glucosa, generará de esta una reducción de los niveles normales de ATP en el cuerpo y una reducción de la beta-oxidación de los ácidos grasos.⁵⁴

5.2 Metabolómica de Síndrome de Sjogren

Como se observó en las gráficas presentadas, la gran parte de metabolitos alterados corresponde a ácidos grasos y alfa aminoácidos. La alteración de ácidos grasos en SSp se ha descrito anteriormente por Shikama et al⁴⁶, en donde se expone que los pacientes con SSp presentan prevalencia de trastornos metabólicos como dislipidemia. También, Shikama et al en su investigación muestra cómo los niveles altos de ácidos grasos pueden causar apoptosis de células epiteliales de glándulas salivales y lagrimales que pueden liberar α -fodrina escindida, esta proteína es presentada por células dendríticas o macrófagos y es reconocida como autoantígeno, desencadenando reacción autoinmune. Además, estos pueden aumentar la secreción de IL-6, la cual promueve la inflamación y secreción de anticuerpos, y la secreción de IL-1, que es una interleucina proinflamatoria que estimula moléculas de adhesión en células endoteliales vasculares aumentando la población de monocitos en las glándulas.⁴⁶

Por otro lado, según lo descrito por Simopoulos⁴⁷, los ácidos grasos poliinsaturados como ácido eicosapentaenoico EPA y ácido docosahexaenoico DHA (metabolitos encontrados en pacientes de SSp), tienen propiedades antiinflamatorias debido a que compiten frente al ácido araquidónico (metabolito también encontrado en pacientes con SSp) para la síntesis de leucotrienos, los cuales son hormonas que promueven la inflamación y secreción de mucosa.⁴⁷

Se ha observado que el metabolismo de ácidos grasos en suero interviene en el desarrollo de enfermedades autoinmunes, esto debido a que se encuentran involucrados en procesos mitocondriales ya sea por la producción de moléculas

(plasmalógeno) como de fuente de energía para esta. También se ha mostrado como los trastornos de oxidación de ácidos grasos pueden causar enfermedades como hipoglucemias, enfermedades hepáticas, entre otras, estrechamente relacionadas con el metabolismo de diversos componentes. Los ácidos grasos insaturados se han visto involucrados en SSp, como el ácido linoleico, el cual da paso al ácido araquidónico, que es importante en la membrana de las células que hacen respuesta inflamatoria, además de ser precursor directo de prostaglandinas y leucotrienos, que participan en la reacción autoinmune provocando inflamación si se encuentran en exceso.⁴⁷

También, se encontró que los metabolitos más recurrentes encontrados en la metabolómica de SSp son aminoácidos. Uno de los más significativos es el triptófano, el cual se ha encontrado tanto en muestras de suero como de plasma. Este metabolito está relacionado con la vía metabólica de la quinurenina ya que este es aminoácido es catabolizado por la indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO) para producir quinurenina, además de la responsable de la síntesis de nicotinamida adenina dinucleótido o NAD (el cual es un derivado de la vitamina B3 que tiene un papel crucial en el metabolismo) a partir del triptófano.⁴⁸

La vía de la quinurenina es la vía metabólica principal en catabolizar el triptófano y está relacionada con el SSp y el sistema inmune. La quinurenina puede convertirse en metabolitos denominados quinureinas que son inmunomoduladores por medio de dos enzimas, una de ellas siendo IDO, es participante crítico en la tolerancia inmune periférica, por lo que el aumento de su actividad puede llevar al agotamiento del triptófano que es requerido para la proliferación de linfocitos T, limitando su respuesta; también, IDO puede inducir a linfocitos Treg que son necesarios para la tolerancia inmune ya que participa en la regulación y homeostasis inmunitaria además de establecer un entorno de autotolerancia.⁴⁹ De igual manera, según Reis et al⁵⁵, IDO participa en la respuesta inmune debido a que tiene actividad enzimática en el citoplasma y actividad transcripcional en el núcleo, por lo que tiene un papel como modulador de la respuesta inmune. Su actividad es inducida en macrófagos por citocinas como IFN- γ y TNF- α y por prostaglandinas. Se ha encontrado de igual forma, que el agotamiento del triptófano afecta particularmente a los linfocitos Th1 y promueve la diferenciación de linfocitos Treg. En SSp se ha observado que hay un

aumento sérico de IL-7 en pacientes que son positivos para IFN; este aumento de IL-7 puede inhibir la función de linfocitos Treg, causando una pérdida de tolerancia. La vía metabólica de la quinurenina también puede participar en mecanismos inflamatorios de las manifestaciones neurológicas de enfermedades autoinmunes por medio de IDO. Existe evidencia de que esta vía se relaciona con el sistema nervioso central, la privación de triptófano induce ojo seco, además de la asociación entre la inflamación crónica con dolor y trastornos neuropáticos en SSp. También, se ha mostrado que la inflamación de las glándulas salivales lleva a una mayor expresión de quinurenina.^{49, 55}

Entre los metabolitos encontrados también se destaca la desregulación de ácidos orgánicos comparado con controles sanos, esto puede indicar que en SSp presenta estrés oxidativo.⁴⁶ Esto se resalta debido al ácido fumárico, uno de los metabolitos encontrados, debido a que tiene efectos beneficiosos en el estrés oxidativo, ya que parece estar mediado por la activación de la respuesta antioxidante del factor nuclear 1 similar al 2 Nrf2, que es la principal defensa para el estrés oxidativo y sus efectos citotóxicos. También, muestra que puede modular las respuestas de células inmunes al intervenir en la diferenciación de las células dendríticas y disminución en la producción de citoquinas proinflamatorias.⁵⁰

Hallazgos en muestras de plasma han permitido describir vías metabólicas en especial de aminoácidos en pacientes con SSp, en especial triptófano, prolina y fenilalanina entre otros. Estos aminoácidos también se han encontrado alterados en los resultados presentados en este análisis. Otros metabolitos desregulados como ácidos grasos insaturados, fosfatidilinositoles, acilglicinas, lisofosfatidil colinas y acilcarnitinas han sido reportados.⁵⁶

Diversos estudios previos han investigado el perfil metabólico en pacientes con SSp, en muestras de saliva. En un estudio de metabolómica salival realizado por Kageyama G et al.⁵⁷ demostró una reducción en diversidad y número de metabolitos detectados en pacientes con SSp en comparación con individuos sanos. Se encontró una marcada diferencia en la disminución de glicina, tirosina, ácido úrico y

fucosa. Esto junto a otros análisis de ómicas son de gran ayuda para aclarar la patogénesis de la enfermedad.

5.3 Metabolómica de Esclerosis Sistémica y Síndrome de Sjogren

Después de analizar las vías metabólicas alteradas en ambas enfermedades estudiadas, se encontró que estas compartían ciertas rutas metabólicas por lo que puede que guarden cierta similitud en cuanto a los procesos fisiopatológicos en el transcurso de ambas enfermedades. Así mismo, como los metabolitos encontrados son de fuente exógena, esto nos indica que el ambiente y el entorno intervienen en la progresión de las enfermedades. Según lo observado en la Figura 4 la biosíntesis de fenilalanina, tirosina y triptófano es la que tuvo mayor impacto de las vías analizadas de los metabolitos estudiados. Por otra parte, la biosíntesis de aminoacil-tRNA tuvo un mayor enriquecimiento sobre las demás vías metabólicas.

Por otra parte, las vías de los ácidos grasos y la del triptófano fueron encontradas alteradas tanto en SSc como en SSp, ya que representan un grupo abundante en la fisiopatología de ambas enfermedades. Los ácidos grasos juegan un papel importante en la inflamación presente en los pacientes con dichas enfermedades y el triptófano es requerido para la proliferación de linfocitos T. Esto se puede evidenciar en la Figura 4 en donde los ácidos grasos están representados como metabolitos de gran importancia en estas enfermedades.

6. Conclusiones

- Cambios en el perfil metabolómico de pacientes con SSc y SSp frente a controles sanos fueron reportados en la literatura incluida en este estudio, demostrando que la metabolómica es una herramienta útil para comprender la fisiopatología de estas dos condiciones autoinmunes.

- El enfoque metabolómico permite la identificación de distintas moléculas como posibles biomarcadores en SSc y SSp.
- Además de metabolitos diferenciales entre estas dos entidades estudiadas, también se encontraron metabolitos compartidos, demostrando vías metabolómicas compartidas que pueden confirmar la tautología autoinmune.
- Los ácidos grasos y los aminoácidos se lograron identificar como los metabolitos más predominantes y que se comparten en estas dos enfermedades, los cuales juegan un papel importante en las manifestaciones clínicas de los pacientes afectados. Es así que tienen un potencial para ser usados como orientación de tratamiento y seguimiento de estas enfermedades inmunológicas.

7. Perspectivas

A partir de la revisión de la literatura realizada, el grupo de investigación realizará estudios metabólicos en sueros de pacientes colombianos con estas dos enfermedades, con el fin de conocer posibles biomarcadores de diagnóstico pronóstico, y así mismo, establecer el papel de factores ambientales en la fisiopatología y desarrollo de las enfermedades autoinmunes.

8. Referencias bibliográficas

1. Inforeuma. Esclerosis Sistémica: Qué es, Síntomas, diagnóstico y tratamiento. [Internet]. [Citado 2021 Ago 14]. Disponible en: <https://inforeuma.com/enfermedades-reumaticas/esclerosis-sistemica/>
2. Clínic Barcelona. Síndrome de Sjögren. [Internet]. [Citado 2021 Ago 16]. Disponible en: <https://www.clinicbarcelona.org/asistencia/enfermedades/sindrome-de-sjogren/evolucion-de-la-enfermedad>
3. Anaya J, Santana C, Alzate M, González N, Villarraga A. The Autoimmune Ecology. Microbial Immunology. [Internet]. 2016; 26. [Cited 2022 mar 26]. Available in: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2016.00139/full>
4. Anaya J, Jiménez P, Ramírez C. The autoimmune ecology: an update. Curr Opin Rheumatol. [Internet]. 2018 Jul;30(4):350-360. [Cited 2022 mar 26]. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29438164/>
5. Zhang Q, Yin X, Wang H, Wu X, Li X, Li Y, et al. Fecal Metabolomics and Potential Biomarkers for Systemic Lupus Erythematosus. Immunol Frontal. [Internet] 2019; 10:976. [Cited 2022 mar 19]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6509220/>
6. Mendoza C, Garcia M, Mendez S, Munguia P, Etchegaray I, Diaz G, et al. Metabolomic profile of insulin resistance in non-diabetic women with systemic lupus erythematosus. Scielo. [Internet]. 2021; 157. [Cited 2022 mar 26]. Available in: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0016-38132021000600613&script=sci_arttext
7. Kalantari S, Chashmnia S, Nafar M, Zakeri Z, Parvin M. Metabolomics approach reveals urine biomarkers and pathways associated with the

pathogenesis of lupus nephritis. Metabolomics approach reveals urine biomarkers and pathways associated with the pathogenesis of lupus nephritis. Iran J Basic Med Sci. [Internet]. 2019; 22(11):1288-1295. [Cited 2021 jun 13]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7038420/>

8. Li J, Xie X-W, Zhou H, Wang B, Zhang M-J, Tang F-Y. Metabolic profiling reveals new serum biomarkers of lupus nephritis. Lupus. [Internet]. 2017;26(11):1166-1173. [Cited 2022 feb 10]. Available in: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0961203317694256?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed
9. Zhang Q, Li X, Yin X, Wang H, Fu C, Wang H, et al. Metabolomic profiling reveals serum L-pyroglutamic acid as a potential diagnostic biomarker for systemic lupus erythematosus. Rheumatology. [Internet] Volume 60, Issue 2. 2021. [Cited 2022 mar 20]. Available in: <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keaa126>
10. Anaya J, Shoenfeld Y, Correa PA, Carrasco MG, Cervera R. Autoinmunidad y Enfermedad Autoinmune. [Internet]. 1ra. ed. Colombia. CORPORACIÓN PARA INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS. 2005. [Cited 2021 ene 15] Disponible en: <https://repository.urosario.edu.co/handle/10336/28852?show=full>
11. Theofilopoulos A N, Kono D H, Baccala R. The multiple pathways to autoimmunity. Nat Immunol. [Internet]. 2017 Jun 20;18(7):716-724. [Cited 2021 jun 17]. Available in: <https://www.nature.com/articles/ni.3731>
12. Holick F. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. AM J CLIN NUTR. [Internet]. 2004; 17. [Cited 2020 Oct 13]. Available in: [10.1093/ajcn/80.6.1678S](https://doi.org/10.1093/ajcn/80.6.1678S)
13. Herrmann I, Kellert M, Schmidt H, Mildner A, Hanish U, Bruck W, et al. Streptococcus pneumoniae Infection Aggravates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis via Toll-Like Receptor 2. Infect Immun. [Internet]. 2006;

74:4841–4848. [Cited 2020 oct 13]. Available in:
<https://journals.asm.org/doi/10.1128/IAI.00026-06>

14. Segerstrom S. Stress, Energy, and Immunity: An Ecological View. *Curr Dir Psychol Sci.* [Internet]. 2007; 16:326–330. [Cited 2020 Oct 13]. Available in: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1111/j.1467-8721.2007.00522.x>
15. Corsini E, Liesivuori J, Vergieva T, Van Loveren H, Colosio C. Effects of pesticide exposure on the human immune system. *Hum Exp Toxicol.* [Internet]. 2008; 27: 5846–5861. [Cited 2020 Oct 13]. Available in: <https://www.mdpi.com/1660-4601/12/6/5846>
16. Lebba V, Nicoletti M, Schippa S. Gut microbiota and the immune system: an intimate partnership in health and disease. *INT J IMMUNOPATH PH.* [Internet]. 2012; 25:823-833. [Cited 2020 Oct 13]. Available in: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/039463201202500401>
17. Clark P M, Dawany N, Dampier W, Byers S W, Pestell R G, Tozeren A. Bioinformatic analysis reveals microRNA and transcriptome signatures and drug repositioning targets for IBD and other autoimmune diseases. *Inflamm Bowel Dis.* [Internet]. 2012; 18:2315-33. [Cited 2020 Oct 13]. Available in: [10.1002/ibd.22958](https://doi.org/10.1002/ibd.22958)
18. Karlén J, Faresjo T, Ludvigsson J. Could the social environment trigger the induction of diabetes related autoantibodies in young children? *Scand. J. Public Health.* [Internet]. 2012; 40(2):177-182. [Cited 2020 Oct 13]. Available in: <https://doi.org/10.1177/1403494811435491>
19. Guivier E, Galán M, Henttonen H, Cosson J, Charbonnel N. Landscape characteristics and helminth co-infection shape the immune heterogeneity of field mice, with consequences for the epidemiology of the Puumala virus. *J. Heredity.* [Internet]. 2013; 112: 274–281 [Cited 2020 Oct 13]. Available in: [10.1038/hdy.2013.103](https://doi.org/10.1038/hdy.2013.103)

20. Villarraga A, Hoz J, Fernández O, Amaya J, Franco J. Autoimmune ecology. 1 ed. [Internet]. Bogotá: Prensa Universitaria El Rosario. 2013 [Cited 2020 Oct 13]. Available in: <https://editorial.urosario.edu.co/gpd-autoimmunity.html>
21. Tiniakou E, Costenbader K, Kriegel M. Sex-specific environmental influences on the development of autoimmune diseases. *J. Clin. Immunol.* [Internet]. 2013; 149: 182-191 [Cited 2020 Oct 13]. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521661613000466>
22. Brinkworth J, Barreiro L. The contribution of natural selection to present-day susceptibility to chronic inflammatory and autoimmune disease. *Curr. Opin. Immunol.* [Internet]. 2014; 31: 66–78 [Cited 2020 Oct 13]. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25458997/>
23. Franco JS, Anaya JM. The autoimmune tautology with a focus on antiphospholipid syndrome. *Lupus.* [Internet]. 2014; 23: 1273 - 1275 [Cited 2020 Oct 13]. Available in: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0961203314537362>
24. Wekerle H. The gut-brain connection: triggering of brain autoimmune diseases by commensal gut bacteria. *J. Rheumatol.* [Internet]. 2016; 55: 68–75 [Cited 2020 Oct 13]. Available in: <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kew353>
25. Huffnagle G, Dickson R, Lukacs N. The respiratory tract microbiome and lung inflammation: a two-way street, mucosal immunology. *Mucosal Immunol.* [Internet]. 2016; 10: 299 - 306 [Cited 2020 Oct 13]. Available in: <https://doi.org/10.1038/mi.2016.108>
26. García M, Jiménez E, Gálves J, Vázquez L, Mendoza C, Etchegaray I, et al. Vitamin D and Sjögren syndrome. [Internet]. 2017; 587-593. [Cited 2020 Nov 21]. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2017.04.004>

27. Lee C, Hsu P, Su C. Increased prevalence of Sjogren's syndrome in where soils contain high levels of chromium. [Internet]. 2019. 1121-1126. [Cited 2020 Nov 21]. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.122>
28. Cui L, Lu H, Lee YH. Challenges and emergent solutions for LC-MS/MS based untargeted metabolomics in diseases. Wiley Periodicals. [Internet]. 2018. [Cited 11 Mar 2021]. Available in: [10.1002/mas.21562](https://doi.org/10.1002/mas.21562)
29. Gautier JC. Drug Safety Evaluation: Methods and Protocols. Humana Press. [Internet]. 2017. [Cited 11 Mar 2021]. Available in: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-60761-849-2>
30. Sugimoto M, Kawakami M, Robert M, Soga T, Tomita M. Bioinformatics Tools for Mass Spectroscopy-Based Metabolomic Data Processing and Analysis. Current Bioinformatics. [Internet]. 2012; 7, 96-108. [Cited 11 Mar 2021]. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22438836/>
31. Cansın Ö, Eylem C, Reçber T, Kır S, Nemutlu E. Integration of GC–MS and LC–MS for untargeted metabolomics profiling. [Internet]. 2020; 190; 113509. [Cited 2021 Abr 16]. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113509>
32. Ribbenstedt A, Ziarrusta H, Benskin JP. Development, characterization and comparisons of targeted and non-targeted metabolomics methods. PLoS ONE. [Internet]. 2018; 13(11). [Cited 11 Mar 2021]. Available in: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207082>
33. Barnes S, Benton H, Casazza K, Cooper S, Cui X, Du X, et al. Training in metabolomics research. II. Processing and statistical analysis of metabolomics data, metabolite identification, pathway analysis, applications of metabolomics and its future. J Mass Spectrom. [Internet]. 2016 Aug; 51(8): 535–548. [Cited 2021 Abr 15]. Available in: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jms.3780>

34. MZmine. MZmine 3. [Internet]. 2015. [Cited 2021 Abr 15]. Available in:
<http://mzmine.github.io>
35. Wold S, Sjöström M, Eriksson L. PLS-regression: a basic tool of chemometrics. Chemometr Intell Lab Syst. [Internet]. 2001; 58(2): 109-130. [Cited 2021 Abr 15]. Available in:
[https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(01\)00155-1](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(01)00155-1)
36. Zubiri A. Análisis metabolómico no dirigido en dos líneas de conejos seleccionadas de forma divergente para grasa intramuscular. [Internet]. 2018. [Citado el 2021 Abr 17]. Disponible en:
<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/112032/Zubiri%20-%20An%C3%A1lisis%20metabol%C3%B3mico%20no>
37. Iriondo G. Estudio metabolómico de los efectos relacionados con la escasez de agua durante el crecimiento de los cultivos de arroz (*Oryza sativa* japonica). [Internet]. 2016. [Citado el 2021 Abr 17]. Disponible en:
https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/106001/TFM_GUILLERMO_IRIONDO.pdf?sequence=1&isAllowed=y
38. Garcia N, Rubio R, Emperiale V, Movasat A, Systemic sclerosis. [Internet]. 2021; 1769-1778. [Cited 18 Ago 2021]. Available in:
<https://doi.org/10.1016/j.med.2021.04.004>
39. Herrera M, Monge P, ESCLEROSIS SISTÉMICA CUTÁNEA, [Internet]. 2015; 591 - 596. [Cited 18 Ago 2021]. Available in:
<https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2015/rmc153o.pdf>
40. MiSistemaInmune. ESCLERODERMIA Y SISTEMA INMUNE. [Internet]. 2017. [Citado 2021 Ago 14]. Disponible en:
<https://www.misistemainmune.es/enfermedades-sistema-inmunitario/autoinmunes/esclerodermia-y-sistema-inmune>

41. Medline Plus. Síndrome de Sjögren. [Internet]. 2020. [Citado 2021 Abr 27].
Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/sjogrenssyndrome.html>
42. Bjordal O, Norheim K, Rødahl E, Jonsson R, Omdal R. Primary Sjögren's syndrome and the eye. *Surv. Ophthalmol.* [Internet] 2020. [Cited 2021 Ago 11]
DOI: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039625719302838>
43. Mavragani C, Haralampos M. Sjögren's syndrome: Old and new therapeutic targets. *J. Autoimmunity.* [Internet]. 2020; 110, 102364. [Cited 2021 Abr 15].
Available in: <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2019.102364>
44. Soyfoo M S, Nicaise C. Pathophysiologic role of Interleukin-33/ST2 in Sjögren's syndrome. *Autoimmun. Rev.* [Internet]. 2021; 20 (3): 102756. [Cited 2021 Ago 11]. Available in:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S156899722100015X>
45. Psianou K, Panagoulas I, Papanastasiou A D, de Lastic A, Spantidea P I, Degn S E, et al. Clinical and immunological parameters of Sjögren's syndrome. *Autoimmun. Rev.* [Internet]. 2018; 17 (10): 1053-1064. [Cited 2021 Ago 11]. Available in: 10.1016/J.AUTREV.2018.05.005
46. Bengtsson AA, Trygg J, Wuttge DM, Sturfelt G, Theander E, Donten M, et al. Metabolic Profiling of Systemic Lupus Erythematosus and Comparison with Primary Sjögren's Syndrome and Systemic Sclerosis. [Internet]. *PLoS ONE* 11(7): e0159384. [Cited 2022 mar 20] Available in:
[10.1371/journal.pone.0159384](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159384)
47. Xu T, Guo Y, Lu J, Shan J, Lin L, Qian W, et al. Untargeted serum metabolomics and potential biomarkers for Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* [Internet]. 2021. [Cited 19 mar 2022]. Available in: PMID: 34251320.
48. Fernández Á, Borrás I, Quirantes R, Alarcón M, Beretta L, Segura A; Precisesads Clinical Consortium. Discovering new metabolite alterations in

primary sjögren's syndrome in urinary and plasma samples using an HPLC-ESI-QTOF-MS methodology. *J Pharm Biomed Anal.* [Internet]. 2020. Feb 5;179:112999. [Cited 20 mar 2022] Available in: 10.1016/j.jpba.2019.112999.

49. Maria NI, van Helden-Meeuwsen CG, Brkic Z, Paulissen SM, Steenwijk EC, Dalm VA, et al. Association of Increased Treg Cell Levels With Elevated Indoleamine 2,3-Dioxygenase Activity and an Imbalanced Kynurenine Pathway in Interferon-Positive Primary Sjögren's Syndrome. *Arthritis Rheumatol.* [Internet]. 2016 Jul;68(7):1688-99. [Cited 20 mar 2022] Available in: 10.1002/art.39629.
50. Gold R, Kappos L, Arnold D, Bar-Or A, Giovannoni G, Selmaj K, et al. Placebo-Controlled Phase 3 Study of Oral BG-12 for Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* [Internet]. 2012. 2012;367:1098-107. [Cited 2021 Abr 11]. Available in: 10.1056/NEJMoa1114287
51. Smolenska Z, Kaczorowska M, Wojteczek A, Zajac B, Zdrojewski Z. Metabolic pattern of systemic sclerosis: association of changes in plasma concentrations of amino acid-related compounds with the presentation of the disease. *NLM.* [Internet]. 2020;7:585161. [Cited 2021 Abr 17] Available in: doi:10.3389/fmolb.2020.585161
52. Murgia F, Svegliati S, Poddighe S, Lussu M, Manzin A, Spadoni T, et al. Metabolomic profile of systemic sclerosis patients. *Sci. Rep.* [Internet]. 2018; 8, 7626. [Cited 2021 Abr 17]. Available in: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25992-7>
53. Mok M, Fung P, Ooi C, Tse H, Wong Y, Lam Y, et al. Serum nitric oxide metabolites and disease activity in patients with systemic sclerosis. *Clin Rheumatol.* [Internet]. 2007.27, 315–322. [Cited 2021 Abr 16] Available in: [10.1007/s10067-007-0708-9](https://doi.org/10.1007/s10067-007-0708-9)

54. Meier C, Freiburghaus K, Bovet C, Schniering J, Allanore Y, Distler O, et al. biomarkers in systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Scientific Reports*. [Internet]. 2020. [Cited 2021 Abr 16] Available in: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78951-6>
55. Reis F, Fantucci M, Adriano L, Valim V, Mattar T, Louzada-Junior P, et al. Neurological and Inflammatory Manifestations in Sjögren's Syndrome: The Role of the Kynurenine Metabolic Pathway. *Int J Mol Sci*. [Internet]. 2018 Dec; 19(12): 3953. [Cited 2021 Abr 15]. Available in: 10.3390/ijms19123953
56. Fernández A, Borrás I, Quirantes R, Alarcón M, Beretta L, Segura A, et al. Discovering new metabolite alterations in primary sjögren's syndrome in urinary and plasma samples using an HPLC-ESI-QTOF-MS methodology. *J. Pharm.* [Internet]. 2020; 179(5): 112999. [Cited 2021 Abr 15]. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.112999>
57. Kageyama G, Saegusa J, Irino Y, Tanaka S, Tsuda K, Takahashi S, et al. Metabolomics analysis of saliva from patients with primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol*. [Internet]. 2015 Nov; 182(2): 149–153. [Cited 2021 Abr 15]. Available in: 10.1111/cei.12683

9. Anexos

Tabla 2. Términos de búsqueda para la selección de Bibliografía.

Bases de Datos	Cadena de búsqueda	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
<ul style="list-style-type: none"> - NCBI - Pubmed 	"Systemic sclerosis" AND "metabolomics"	Artículos de investigación y artículos de revisión que contengan información sobre metabolómica en pacientes con Esclerosis Sistémica y Síndrome de Sjögren.	Estudios que no presentaron resultados relevantes para las enfermedades de interés fueron excluidos, se rechazan artículos con fecha de publicación después de diciembre del 2021, papers, capítulos de libros, cartas al autor y reportes de casos.
	"Sjogren syndrome" AND "metabolomics"		
	"Systemic sclerosis" AND "metabolites" AND "serum"		
	"Sjogren's syndrome" AND "metabolites" AND "serum"		

Tabla 3. Metabolitos encontrados en Esclerosis Sistémica según la revisión bibliográfica.

Nombre Metabolito	Fórmula Molecular	Identificación Base de Datos	Taxonomía química	Fuente
Sarcosina	C 3 H 7 NO 2	HMDB000027 1	Alfa aminoácidos	Exógeno
Alanina	C 3 H 7 NO 2	HMDB000016 1	Alfa aminoácido	Exógeno
Aspartato	C4H7NO4	HMDB000019 1	Alfa aminoácido	Exógeno
Treonato	C 4 H 8 O 5	HMDB000094 3	Ácidos de azúcar y derivados (Compuestos)	Exógeno

			orgánicos)	
Glutamato de Triptofano	C 21 H 39 NO 5	HMDB025930 8	Ácidos grasos (Amidas grasas)	Exógeno
L-carnitine	C 7 H 16 NO 3	HMDB000006 2	Acilcarnitina	Exógeno
Isovaleryl-carnitine	C12 H23 N O4	HMDB000068 8	Acilcarnitina	Exógeno
Octanoyl-carnitine	C15 H30 N O4	HMDB000079 1	Acilcarnitina	Exógeno
Palmitoilcarnitine	C 23 H 46 N O 4	HMDB000022 2	Acilcarnitina	Exógeno
β-alanine	C 3 H 7 NO 2	HMDB000005 6	Beta aminoácidos	Exógeno
Proline	C 5 H 9 NO 2	HMDB025152 8	Compuestos orgánicos conocidos como prolina y derivados	Exógeno
Histidina	C 6 H 9 N 3 O 2	HMDB025076 3	compuestos orgánicos (histidina y derivados)	Exógeno
Glutarato	C 5 H 9 NO 4	HMDB006047 5	Compuestos orgánicos (ácido glutámico y derivados)	Exógeno
Colina	C 5 H 14 NO	HMDB000009 7	Compuestos orgánicos (Colinas)	Exógeno
carnitina	C7H16NO3	HMDB000006 2	Carnitina	Exógeno
Glutamina	C 5 H 10 N 2 O 3	HMDB000342 3	D-alfa-aminoácidos	Exógeno
Nitrato	N O3	HMDB000287 8	Nitratos no metálicos	Exógeno
Nitrito	H N O2	HMDB000278	Nitratos no	Exógeno

		6	metálicos	
Aspartil-Asparagina	C 8 H 13 N 3 O 6	HMDB002874 8	dipéptido	Exógeno
Arginina (cisteinil-arginina)	C 9 H 19 N 5 O 3 S	HMDB002876 9	dipéptido	Exógeno
cistina	C 6 H 12 N 2 O 4 S 2	HMDB025071 2	compuestos orgánicos	Exógeno
Glicina	C 2 H 5 NO 2	HMDB000012 3	alfa-aminoácido	Exógeno
Isoleucina	C6 H13 N O2	HMDB000017 2	Isoleucinas y derivados	Exógeno
leucina	C 12 H 17 NO 2	HMDB009466 2	Aminoacido	Exógeno
Lisina	C6 H14 N2 O2	HMDB000018 2	Alfa-aminoácidos	Exógeno
metionina (sulfóxido de metionina)	C 5 H 11 NO 3 S	HMDB000200 5	l-alfa-aminoácidos	Exógeno
Fenilalanina	C 9 H 11 NO 2	HMDB025079 1	compuestos orgánicos	Exógeno
serina	C 3 H 7 NO 3	HMDB000018 7	alfa-aminoácido	Exógeno
triptófano	C 11 H 12 N 2 O 2	HMDB003039 6	ácidos indolilcarboxílicos	Exógeno
tirosina	C 9 H 11 NO 3	HMDB025080 3	compuestos orgánicos	Exógeno
Valina	C 5 H 11 NO 2	HMDB025080 6	compuestos orgánicos	Exógeno
α-aminobutirato	C 4 H 9 NO 2	HMDB000065 0	alfa-aminoácidos	Exógeno
β-aminobutirato	C 4 H 9 NO 2	HMDB003165 4	beta aminoácidos	Exógeno
Betaína	C 5 H 12 NO 2	HMDB000004 3	aminoácido N-trimetilado	Exógeno

citulina	C 6 H 13 N 3 O 3	HMDB025074 2	alfa aminoácidos	Exógeno
Hidroxiprolina	C 5 H 9 NO 3	HMDB024590 3	compuestos orgánicos	Exógeno
ornitina	C 5 H 12 N 2 O 2	HMDB000021 4	alfa-aminoácid os	Exógeno
ADMA	C 8 H 18 N 4 O 2	HMDB000153 9	sustancia química natural	Exógeno
L-NAME	C 7 H 15 N 5 O 4	HMDB025256 3	alfa aminoácidos	Exógeno
L-quinureina	C10H12N2O3	HMDB00684	aminoácido triptófano	Exógeno
Octadecenoilc arnitina	C21H39NO	HMDB94687	acilcarnitina	Exógeno
Ácido estearidónico	C18H28O2	HMDB06547	ácido graso omega 3	Exógeno
Ácido docosaheptaen oico	C22H32O2	HMDB02183	ácido graso esencial omega-3	Exógeno
Ácido linoleico	C18H30O	HMDB01388	Ácido graso poliinsaturado (PUFA)	Exógeno
Ácido araquidónico	C20H32O2	HMDB01043	ácido graso	Exógeno
Ácido ciadónico	C20H34O2	HMDB31058	ácidos grasos de cadena larga	Exógeno
Oxido Nitrico	NO	HMDB000337 8	Gas simple	Exógeno
Acido butanoico	C 13H17 NO 3	HMDB024929 9	benceno	Exógeno
ácido glutárico	C 5 H 8 O 4	HMDB000066 1	ácido dicarboxílico	Exógeno
Sorbitol	C 6 H 14 O 6	HMDB000024 7	alcohol polihídrico	Exógeno

D-glicerato 3-fosfato	C 3 H 7 O 7 P	HMDB0060180	ácidos de azúcar	Exógeno
Asparagina	C4 H8 N2 O3	HMDB0000168	Alfa aminoácido	Exógeno

Tabla 4. Metabolitos encontrados en el Síndrome de Sjögren según la revisión bibliográfica.

Nombre Metabolito	Fórmula Molecular	Identificación Base de Datos	Taxonomía química	Fuente
Ácido 2-dihidroxibutanoico	C4H8O3	HMDB0000008	Alfa hidroxiaácidos y derivados	Exógeno
Ácido oxoglutámico	C5H6O5	HMDB0000208	Gamma-cet oácidos y derivados	Exógeno
Alanina	C3 H7 NO 2	HMDB0000161	Alfa aminoácido	Exógeno
Alfa-tocoferol	C29 H50 O2	HMDB0001893	Tocoferoles	Exógeno
Ácido aminomalónico	C3 H5 N O4	HMDB0001147	Alfa aminoácido	Exógeno
Ácido araquidónico	C20 H32 O2	HMDB0001043	Ácido graso de cadena larga	Exógeno
Arginina	C6 H14 N4 O2	HMDB0000517	Alfa aminoácido	Exógeno
Asparagina	C4 H8 N2 O3	HMDB0000168	Alfa aminoácido	Exógeno
Ácido aspártico	C4 H7 N O4	HMDB0000191	Alfa aminoácido	Exógeno
β-alanina	C 3 H 7 NO 2	HMDB00000056	Beta aminoácidos	Exógeno
Cafeína	C8 H10 N4 O2	HMDB0001847	Xantina	Exógeno

Ácido cítrico	C6 H8 O7	HMDB0000094	Ácidos tricarboxílicos y derivados	Exógeno
Creatinina	C4 H7 N3 O	HMDB0000562	Alfa aminoácido	Exógeno
Cisteína	C3 H7 N O2 S	HMDB0000574	Cisteína y derivados	Exógeno
Ácido docosahexaenoico DHA	C22 H32 O2	HMDB0002183	Ácido graso de cadena larga	Exógeno
Etanolamina	C2 H7 N O	HMDB0000149	1,2-aminoalcoholes	Exógeno
Ácido fumárico	C4 H4 O4	HMDB0000134	Ácidos dicarboxílicos y derivados	Exógeno
Glucosa	C6 H12 O6	HMDB0000122	Hexosas	Exógeno
Ácido glutámico	C5 H9 N O4	HMDB0000148	Ácido glutámico y derivados	Exógeno
Glutamina	C5 H10 N2 O3	HMDB0003423	Alfa aminoácido	Exógeno
Ácido glicérico	C3 H6 O4	HMDB0000139	Ácidos de azúcar	Exógeno
Glicerol	C3 H8 O3	HMDB0000131	Alcoholes de azúcar	Exógeno
Glicerol-3-fosfato	C3 H9 O6 P	HMDB0000126	Glicerol fosfatos	Exógeno
Glicina	C2 H5 N O2	HMDB0000123	Alfa aminoácido	Exógeno
Ácido hexadecanoico (ácido palmítico)	C16 H32 O2	HMDB0000220	Ácidos grasos de cadena larga	Exógeno
Histidina	C6 H9 N3 O2	HMDB000017	Alfa	Exógeno

		7	aminoácido	
Hipoxantina	C5 H4 N4 O	HMDB0000157	Hipoxantina	Exógeno
Inosina	C10 H12 N4 O5	HMDB0000195	Nucleósidos de purina	Exógeno
Inositol-1-fosfato	C6 H13 O9 P	HMDB00213	Inositol fosfatos	Exógeno
Isoleucina	C6 H13 N O2	HMDB0000172	Isoleucinas y derivados	Exógeno
Ácido láctico	C3 H6 O3	HMDB0000190	Alfa hidroxiaácido	Exógeno
Ácido láurico (ácido dodecanoico)	C12 H24 O2	HMDB0000638	Ácidos grasos de cadena media	Exógeno
L-Leucina	C6 H13 N O2	HMDB0000687	Leucinas y derivados	Exógeno
Ácido linolénico	C18 H30 O2	HMDB0001388	Ácidos lineólicos	Exógeno
Lisina	C6 H14 N2 O2	HMDB0000182	Alfa-aminoácidos	Exógeno
Ácido málico	C4 H6 O5	HMDB0000156	Beta hidroxiaácidos y derivados	Exógeno
L-Metionina	C10 H12 N2 O3	HMDB0000696	Alfa aminoácido	Exógeno
Mioinositol	C6 H12 O6	HMDB0000211	Ciclohexanoles	Exógeno
Naproxeno	C14 H14 O3	HMDB0001923	Naftalenos	Exógeno
Oleamida	C18 H35 N O	HMDB0002117	Amidas grasas	Exógeno
Acido oleico	C18 H34 O2	HMDB0000207	Ácido graso de cadena larga	Exógeno

Ornitina	C5 H12 N2 O2	HMDB0000214	Alfa-aminoácidos	Exógeno
Paracetamol	C8 H9 N O2	HMDB0001859	1-hidroxi-2-bencenoide s no sustituidos	Exógeno
Fenilalanina	C9 H11 N O2	HMDB0000159	Alfa-aminoácidos	Exógeno
Ácido picolínico	C6 H5 N O2	HMDB0002243	Ácidos piridinocarboxílicos	Exógeno
Prolina	C5 H9 N O2	HMDB0000162	Alfa-aminoácidos	Exógeno
Ácido piroglutámico	C5 H7 N O3	HMDB0000267	Alfa aminoácidos	Exógeno
Ácido quínico	C7 H12 O6	HMDB0003072	Ácidos quínicos	Exógeno
Ribosa	C5 H10 O5	HMDB0000283	Pentosas	Exógeno
Ácido salicílico	C7 H6 O3	HMDB0001895	Ácidos salicílicos	Exógeno
Serina	C3 H7 N O3	HMDB0000187	Alfa-aminoácido	Exógeno
Ácido esteárico (ácido octadecanoico)	C18 H36 O2	HMDB0000827	Ácido graso de cadena larga (saturado)	Exógeno
Ácido succínico	C4 H6 O4	HMDB0000254	Ácidos dicarboxílicos	Exógeno
Taurina	C2 H7 N O3 S	HMDB0000251	Ácidos organosulfónicos	Exógeno
Teobromina	C7 H8 N4 O2	HMDB0002825	Xantinas	Exógeno
Ácido treónico	C4 H8 O5	HMDB0000943	Ácidos de azúcar	Exógeno

Treonina	C4 H9 N O3	HMDB0000167	Alfa-aminoácidos	Exógeno
Triptófano	C11 H12 N2 O2	HMDB0000929	Alfa aminoácido (ácidos indolilcarbóxicos)	Exógeno
Tirosina	C9 H11 N O3	HMDB0000158	Alfa-aminoácidos	Exógeno
Urea	C H4 N2 O	HMDB0000294	Ureas	Exógeno
Ácido úrico	C5 H4 N4 O3	HMDB0000289	Xantinas	Exógeno
L-Valina	C5 H11 N O2	HMDB0000883	Alfa aminoácido	Exógeno
Ácido glicólico	C2 H4 O3	HMDB0000115	Alfa hidroxiaácidos	Exógeno
Turanosa	C12 H22 O11	HMDB0011740	Acil glucósidos de mono- y disacáridos	Exógeno
Ácido dehidroabiético	C20 H28 O2	HMDB0061925	Diterpenoides	Exógeno
Ácido behénico	C22 H44 O2	HMDB0000944	Ácidos grasos de cadena larga	Exógeno
Catecol	C6 H6 O2	HMDB0000957	Catecoles	Exógeno
Ácido heptadecanoico	C17 H34 O2	HMDB0002259	Ácidos grasos de cadena larga	Exógeno
Etanolamina	C2 H7 N O	HMDB0000149	1,2-aminoalcoholes	Exógeno
Ácido cáprico	C10 H20 O2	HMDB0000511	Ácidos grasos de cadena	Exógeno

			media	
(+/-) anabasina	C10 H14 N2	HMDB000435 0	Alcaloides y derivados	Exógeno
Ácido pelargónico	C9 H18 O2	HMDB000084 7	Ácidos grasos de cadena media	Exógeno
Xantina	C5 H4 N4 O2	HMDB000029 2	Xantinas	Exógeno