



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

**NUEVOS FACTORES DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE
DESENLACES ADVERSOS EN PACIENTES CON COVID-19**

TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA
PRESENTA:

DR. ANDRÉS ARTEAGA GARRIDO

ASESOR:
DR. JOSÉ JIRAM TORRES RUIZ

Ciudad de México, 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso


DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

TÍTULO DE TESIS:

NUEVOS FACTORES DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE DESENLACES ADVERSOS EN PACIENTES CON COVID-19

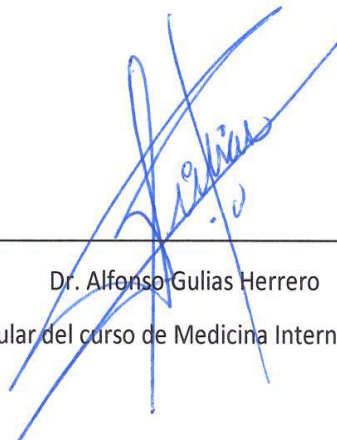


Dr. Sergio Ponce de León Rosales

Director de Enseñanza del INCMNSZ



INCMNSZ
INSTITUTO NACIONAL
DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
"DR. SALVADOR ZUBIRÁN"
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA



Dr. Alfonso Gulias Herrero

Profesor titular del curso de Medicina Interna del INCMNSZ



Dr. José Jiram Torres Ruiz

Médico adscrito del servicio de Urgencias

Tutor de tesis

Tabla de contenido

Contenido

1. Antecedentes	1
1.1 Factores de riesgo de progresión de COVID-19.....	1
2. Planteamiento del problema	4
3. Justificación.	5
4. Objetivos.	5
4.1 Objetivo primario.....	5
4.2 Objetivos específicos.	5
5. Material y métodos.....	5
5.1 Caracterización por citometría de flujo multiparamétrica de células mononucleares de sangre periférica (CMSP).....	6
5.2 Medición de los perfiles de citocinas / quimiocinas y coagulación.....	8
5.3 Valoración de la firma metabolómica.....	8
5.4 Evaluación de las trampas extracelulares de neutrófilos circulantes (NET).....	9
5.5 Evaluación de los marcadores de atrofia muscular, hipoxia, respuesta antiviral y estrés oxidativo.	9
5.6 Análisis estadístico.....	9
6. Resultados	10
7. Discusión	21
8. Conclusiones.....	22
9. Referencias.....	22

Índice de tablas

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes con COVID-19 según la gravedad de la enfermedad	12
Tabla 2. Subconjuntos de células sanguíneas periféricas de pacientes con COVID-19 según la gravedad de la enfermedad.....	15
Tabla 3. Citocinas y quimiocinas séricas de COVID-19 según la gravedad de la enfermedad	18
Tabla 4. Otros marcadores biológicos en pacientes con COVID-19 según la gravedad de la enfermedad.	20

1. Antecedentes

La presencia de un nuevo síndrome respiratorio agudo grave por Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) se informó por primera vez en China y posteriormente se ha extendido a todas las regiones del mundo. La neumonía viral asociada con el SARS -CoV-2 se ha denominado oficialmente como enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) (1).

Desde diciembre de 2019, se ha identificado un número creciente de casos de neumonía por el nuevo coronavirus en Wuhan, una gran ciudad de 11 millones de personas en el centro de China (2). El 29 de diciembre de 2019, los primeros 4 casos notificados, todos vinculados al mercado mayorista de productos del mar de Huanan (sur de China), fueron identificados por hospitales locales mediante un mecanismo de vigilancia de la "neumonía de etiología desconocida" que se estableció a raíz del brote de síndrome respiratorio agudo severo (SARS) en el 2003, con el objetivo de permitir la identificación oportuna de nuevos patógenos como COVID-19 (3).

El 11 de marzo de 2020, en Ginebra, el Director General de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el doctor Tedros Adhanom Ghebreyesus, anunció que la nueva enfermedad por el coronavirus 2019 (COVID-19) se caracterizaba como una pandemia (4).

Como se ha reportado con anterioridad, sabemos que el espectro de enfermedad por Coronavirus 2019 (COVID-19) puede variar desde asintomático hasta potencialmente mortal. Aproximadamente del 5 al 33% de los pacientes con neumonía COVID-19 serán ingresados en una unidad de cuidados intensivos (5,6,7). Es la razón por la cuál la identificación temprana de los pacientes que desarrollarán una enfermedad grave es crucial. Hasta el día 19 de febrero del 2021 se han reportado 2,424, 060 muertes a nivel mundial atribuidas a esta enfermedad (8). A causa de la gravedad de la enfermedad, se han evaluado varios marcadores inflamatorios como predictores de mortalidad entre los pacientes hospitalizados con COVID-19 grave (7,9).

1.1 Factores de riesgo de progresión de COVID-19.

Algunos estudios han reportado varios factores de riesgo asociados con un curso grave de neumonía COVID-19 y su progresión a síndrome de dificultad respiratoria aguda (7,10). Se han reportado múltiples factores de riesgo que pueden clasificarse en características del paciente, por ejemplo: edad, comorbilidades y síntomas. Además de signos vitales que se obtienen al revisar al paciente a su ingreso al servicio de urgencias, por ejemplo: frecuencia respiratoria y presión arterial (11,12) y anomalías de laboratorio que incluyen estudios inflamatorios, de coagulación y de órganos específicos, por ejemplo: lactato deshidrogenasa, dímero D, fibrinógeno, troponinas cardíacas,

pruebas de función hepática y renal (13,14) también los hallazgos de imágenes pulmonares, por ejemplo: número de lóbulos afectados y extensión estimada de la neumonía (15).

Un Estudio de cohorte retrospectivo de 201 pacientes con neumonía COVID-19 confirmada, y que ingresaron en el Hospital Wuhan Jinyintan en China, entre 25 de diciembre de 2019 y 26 de enero de 2020 reportó lo siguiente: 84 pacientes (41,8%) desarrollaron SIRA, y de ellos, 44 (52,4%) fallecieron. Los factores de riesgo relacionados con el desarrollo de SIRA y la progresión del SIRA a la muerte incluyó edad avanzada, neutrofilia, disfunción de órganos y coagulación (elevación de LDH y dímero D). Además, se reportó que varios factores asociados con el desarrollo de SIRA no se asociaron con muerte (comorbilidades, recuentos de linfocitos, CD3 y CD4, AST, prealbúmina, creatinina, glucosa, lipoproteínas de baja densidad, ferritina sérica, proteínas totales) (10).

Un estudio realizado en nuestro Instituto evaluó los marcadores hematológicos y bioquímicos tomados al ingreso del paciente y determinó qué tan predictivos eran del desarrollo de enfermedad crítica o muerte. Se reportó que los valores más altos de las pruebas fácilmente disponibles (biometría hemática y troponina I), incluido el índice de neutrófilos/ linfocitos, el índice de neutrófilos derivado y la troponina I; se asociaron con un mayor riesgo de muerte o ingreso en cuidados intensivos ($P < 0,001$). Como resultado del estudio se reportó que las pruebas hematológicas comunes pueden ser útiles para determinar temprano en el curso de la enfermedad qué pacientes tienen probabilidades de desarrollar formas graves (16).

Otro estudio realizado en China, en una cohorte retrospectiva de pacientes con COVID-19 de 575 hospitales en 31 regiones administrativas provinciales en enero de 2020. Se examinaron variables epidemiológicas, clínicas, de laboratorio e imagen al ingreso hospitalario, fueron evaluados usando el operador de selección y contracción mínima absoluta y regresión logística para construir una puntuación de riesgo predictivo (COVID-GRAM). La puntuación proporciona una estimación del riesgo de que un paciente hospitalizado con COVID-19 desarrolle una enfermedad crítica. La precisión de la puntuación fue medida por el área bajo la curva. Se utilizaron datos de 4 cohortes adicionales en China, de pacientes hospitalizados con COVID-19 para validar la puntuación. Los datos se analizaron entre el 20 de febrero de 2020 y el 17 de marzo de 2020.

La cohorte de desarrollo incluyó a 1590 pacientes, la media de edad de los pacientes en la cohorte fue de 48.9 años; 904 (57.3%) eran hombres. La cohorte de validación incluyó 710 pacientes con una media de edad de 48.2 años, 382 (53.8%) eran hombres y 172 (24.2%).

De 72 predictores potenciales, 10 variables fueron factores predictivos independientes y se incluyeron en la puntuación de riesgo: anomalías en la radiografía de tórax (razón de momios (RM) 3.39; intervalo de confianza (IC) del 95%, 2.14-5.38), edad (RM 1.03; IC del 95%, 1.01-1.05), hemoptisis (RM 4.53; IC del 95%, 1.36-15.15), disnea (RM 1.88; 95% CI, 1.18-3.01), alteración del estado mental (RM 4.71; 95% CI, 1.39-15.98), número de comorbilidades (RM 1.60; IC del 95%, 1.27-2.00), antecedente de cáncer (RM 4.07; IC del 95%, 1.23-13.43), proporción de neutrófilos a linfocitos (RM 1.06; IC del 95%, 1.02-1.10), deshidrogenasa láctica (RM 1.002; IC del 95%, 1.001-1.004) y bilirrubina directa (RM 1.15; IC del 95%, 1.06-1.24). El área bajo la curva en la cohorte de desarrollo fue de 0.88 (IC del 95%, 0.85-0.91) y el área bajo la curva en la cohorte de validación fue 0.88 (IC del 95%, 0.84-0.93). La puntuación se ha traducido a una calculadora de riesgo que está disponible gratuitamente para el público "COVID-GRAM Risk Score" (17).

En Reino Unido, se realizó un estudio observacional prospectivo. Participaron 260 hospitales de Inglaterra, Escocia y Gales. Se realizó una cohorte de pacientes reclutados entre el 6 de febrero y el 20 mayo del 2020, con validación realizada en una segunda cohorte de pacientes reclutados después del desarrollo del modelo, entre el 21 de mayo y el 29 de junio de 2020.

Un total de 35463 pacientes fueron incluidos en la cohorte de estudio (tasa de mortalidad 32.2%) y 22361 en la cohorte de validación (tasa de mortalidad 30.1%). El "4C Mortality Score for COVID-19" incluyó ocho variables fácilmente disponibles en la evaluación inicial hospitalaria del paciente: edad, sexo, número de comorbilidades, frecuencia respiratoria, saturación de oxígeno, nivel de conciencia, nivel de urea y proteína C reactiva (intervalo de puntuación de 0 a 21 puntos). El "4C Score" mostró una alta capacidad de discriminación para mortalidad (cohorte de estudio: área bajo la curva 0.79, IC del 95% 0.78-0.79; cohorte de validación: 0.77, IC 95% 0.76 a 0.77). Los pacientes con puntuación de al menos 15 (n = 4158, 19%) tuvieron una mortalidad del 62% (valor predictivo positivo 62%) comparado con 1% mortalidad para aquellos con una puntuación de 3 o menos (n = 1650, 7%; valor predictivo negativo 99%). La puntuación se ha traducido a una calculadora de riesgo que está disponible gratuitamente para el público "4C Mortality Score for COVID-19" (18)

Un estudio realizado en nuestro Instituto se propuso desarrollar un puntaje predictivo de la necesidad de ingreso a una unidad de cuidados intensivos (UCI) en COVID-19. Se evaluaron pacientes ingresados por COVID-19. Se dividieron en un grupo que requirió ingreso a UCI y aquellos que no. Se derivaron modelos predictivos incluyendo variables clínicas, de laboratorio e imagen y se integraron en el puntaje "ABC-GOALS" (presión arterial, disnea, escala Charlson, glucosa,

obesidad, albúmina, LDH y relación S/F). Se incluyeron 329 y 240 pacientes en cohortes de desarrollo y validación, respectivamente. Ciento quince pacientes de cada cohorte requirieron ingreso a UCI. Las áreas bajo la curva de los modelos clínico (ABC-GOALS_C), clínico+laboratorio (ABC-GOALS_{CL}), clínico+laboratorio+imagen (ABC-GOALS_{CLX}) fueron 0.79 (IC95%=0.74-0.83) y 0.77 (IC95%=0.71-0.83); 0.86 (IC95%=0.82-0.90) y 0.87 (IC95%=0.83-0.92); 0.88 (IC95%=0.84-0.92) y 0.86 (IC95%=0.81-0.90) en las cohortes de derivación y validación, respectivamente. El desempeño del ABC-GOALS reportó ser superior a otros puntajes de riesgo. Concluyeron que “ABC-GOALS” es una herramienta para predecir oportunamente la necesidad de ingreso a UCI en COVID-19 (7).

En varios países, incluido México, se han implementado centros de reconversión hospitalaria y de atención temporal para atender a un gran número de pacientes con COVID-19. Muchos de estos centros están preparados para atender a pacientes con necesidades de oxígeno suplementario en salas generales. Sin embargo, algunos pacientes tendrán criterio de ingreso a una unidad de cuidados intensivos (UCI) y ventilación mecánica (7,19), por lo que se vuelve fundamental detectar a los pacientes en riesgo de progresión con el fin de optimizar los recursos hospitalarios.

2. Planteamiento del problema

Actualmente, Latinoamérica es el epicentro de la epidemia por COVID-19 y México ha sido uno de los países más castigados en términos de mortalidad y número de casos. La pandemia ha rebasado a todos los países en cuanto a recursos hospitalarios por lo que surge la necesidad imperativa de buscar factores de riesgo innovadores de progresión de la enfermedad con el fin de optimizar las camas disponibles en los hospitales y en las áreas de cuidados intensivos. Aunque se han planteado diversos modelos de pronóstico en COVID-19, la mayoría de ellos solo incluyen limitadas variables inmunológicas, se basan en variables clínicas, radiográficas y de laboratorio y fueron desarrollados en población asiática o europea [20-23]. Los modelos de progresión en México, no incluyen todas las variables de la compleja fisiopatogenia del COVID-19 y por lo tanto, tienen un área bajo la curva menor de 0.8. La evidencia actual indica que el riesgo de COVID-19 crítico implica una serie de variables inmunológicas[24, 25], metabólicas[26] y musculares[27] que hasta el momento no han sido exploradas como factores de riesgo de progresión de la enfermedad.

3. Justificación.

En el contexto de una pandemia en un país subdesarrollado como el nuestro, y con número de camas en áreas críticas limitadas, cobra relevancia producir escalas que nos ayuden a discernir la gravedad de los pacientes, por lo que es necesario seguir investigando nuevos modelos de factores de riesgo de progresión de la enfermedad. De ahí la importancia de éste estudio llamado “Nuevos factores de riesgo para el desarrollo de desenlaces adversos en pacientes con COVID-19”

4. Objetivos.

4.1 Objetivo primario.

Analizar los factores de riesgo clínicos, inmunológicos, metabólicos y musculares para el desarrollo de desenlaces adversos en COVID-19.

4.2 Objetivos específicos.

Determinar la proporción de pacientes con COVID-19 grave que desarrollan desenlaces adversos
Estudiar las diferencias en los parámetros clínicos, inmunológicos, metabólicos y musculares entre pacientes con COVID-19 grave y crítico.

5. Material y métodos

Reclutamos una cohorte de 121 pacientes con COVID-19 confirmado por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) positiva para SARS-CoV-2 en hisopado nasofaríngeo que acudieron consecutivamente al servicio de urgencias del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, un hospital de referencia para pacientes con COVID-19 en México de marzo a agosto de 2020. Este estudio fue aprobado por los comités institucionales de Ética e Investigación (REF: 3341) de acuerdo con la declaración de Helsinki y todos los pacientes firmaron un consentimiento informado por escrito previo a su inclusión.

Al ingreso hospitalario, los pacientes tuvieron un abordaje médico exhaustivo que incluía una historia clínica completa y una tomografía computarizada (TC) torácica no contrastada de alta definición y baja radiación. Previo al inicio del tratamiento médico, se extrajo una muestra de sangre para la valoración de las siguientes pruebas de laboratorio: biometría hemática, glucosa, nitrógeno ureico en sangre (BUN), creatinina, pruebas de función hepática, proteína C reactiva ultrasensible (PCR), lactato deshidrogenasa (LDH), creatinfosfocinasa (CPK), troponina-I, tiempo de

tromboplastina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activada (aPTT), dímero D, fibrinógeno y gasometría arterial. Todas las muestras de plasma y suero se almacenaron a -80°C hasta su posterior análisis. Calculamos las siguientes puntuaciones de gravedad de la neumonía: PSI / PORT, CURB-65, NEWS 2, qSOFA, SMART-COP, y MuLBSTA[28]. Los pacientes fueron clasificados de acuerdo a su gravedad de la siguiente forma[29]:

1. Enfermedad leve / moderada: fiebre, síntomas de infección de vías respiratorias superiores, con o sin neumonía.
2. Grave: Cualquiera de los siguientes: insuficiencia respiratoria, frecuencia respiratoria > 30 respiraciones por minuto, saturación de oxígeno en reposo <93%, PaO₂ / FiO₂ <300 mmHg.
3. Crítico: Cualquiera de los siguientes: requerimiento de ventilación mecánica invasiva (VMI), choque, falla orgánica múltiple.

Además, se realizaron los siguientes procedimientos experimentales:

5.1 Caracterización por citometría de flujo multiparamétrica de células mononucleares de sangre periférica (CMSP).

Aislamos CMSP mediante gradientes de densidad después de centrifugación con Ficoll-Paque (GE Healthcare Life Sciences, Illinois, EE. UU.). Después de lavar las células dos veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS), las teñimos con el marcador de viabilidad Zombie Aqua (Biolegend, California, EE. UU.). Las células se lavaron dos veces con suero fetal bovino (FBS) al 5% en PBS y se incubaron durante 30 min a temperatura ambiente con el bloqueador FcX (Biolegend, California, EE. UU.) y los siguientes anticuerpos acoplados a fluorocromos: CD19-BUV496 (BD Biosciences, Franklin Lakes, Nueva Jersey, EE. UU.), CD3-APC / Fire-750, CD4-Alexa fluor 488, CD8-PE / Dazzle-594, CD10-PE, CD11c-PE / Dazzle-594, CD14-PerCP, CD15- FITC, CD16-Alexa fluor 700, CD21-Alexa fluor 700, CD24-BV421, CD25-BV421, CD27-APC-Cy7, CD38-BV650, CD45RA-PE, CD45RO-FITC, CD56-PE, CD62L-PE / Cy5, CD127-BV650, CD335-BV650, CD355-APC, CCR7-PE / Dazzle-594, IgD-PerCP / Cy5.5 (todos de Biolegend, California, EE. UU.). Para la evaluación de las células T cooperadoras y citotóxicas, estimulamos las CMSP con 12-miristato 13-acetato de forbol (PMA), ionomicina y monensina durante 5 horas a 37°C. Las células se fijaron y se permeabilizaron con el kit de fijación / permeabilización cytofix / cytoperm (BD Biosciences, Nueva Jersey, EE. UU.) De acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se detectaron citocinas intracitoplasmáticas con los siguientes anticuerpos acoplados a fluorocromos: IFN- γ -APC, IL-4-PE, IL-17-BV421 (todos de Biolegend,

California, EE. UU.). Se adquirieron un millón de eventos en un citómetro de flujo LSR Fortessa de 4 láser (BD Biosciences, Nueva Jersey, EE. UU.).

Caracterizamos los siguientes subconjuntos de linfocitos: linfocitos T CD4 + (CD3 +, CD4 +), linfocitos T CD8 + (CD3 +, CD8 +), linfocitos T vírgenes (CD3 +, CD4 + o CD8 + CD45RA+, CD45RO-), linfocitos T de memoria (CD3 +, CD4 + o CD8 + CD45RA -, CD45RO +), células T de memoria central (CD3 +. CD4 + o CD8 +, CD45RA-, CD45RO +, CD62L +, CCR7 +), células T de memoria efectora (CD3 +, CD4 + o CD8 +, CD45RA-, CD45RO +, CD62L-, CCR7-), Th1 (CD4 +, IFN- γ +), Th2 (CD4 +, IL-4 +), Th17 (CD4 +, IL-17 +), Tc1 (CD8 +, IFN γ +), Tc2 (CD8 +, IL-4 +), Tc17 (CD8 +, IL-17 +), células NK (CD3-, CD335 +), células NK con alta y baja expresión de CD56 (CD56hi y CD56lo), células T reguladoras (CD4 +, CD25hi, CD127lo / -), células B totales (CD3 -, CD19 +), células B de transición CD21- (CD19 + CD27- CD38hi CD24hi CD21- / lo), células B de transición CD21 + (CD19 + CD27- CD38hi CD24lo CD21 +), células B vírgenes en reposo (CD19 + CD27- IgD + CD38- CD24- CD11c-), células B vírgenes activadas (CD19 + CD27- IgD + CD38- CD24- CD11c +), plasmablastos (CD19 + CD27hi CD38hi), células B de memoria clásica sin cambio de isotipo (CD19 + CD27 + IgD +), células B de memoria clásicas con cambio de isotipo (CD19 + CD27 + IgD-), células B de memoria CD27- IgD- no clásicas (CD19 + CD38- / lo CD24 + CD27- IgD-), células B de memoria CD27- IgD + no clásicas (CD19 + CD38- / lo CD24 + CD27- IgD +), células B doble negativas 1 (CD19 + CD27- IgD- CD38- CD24- CD21 + CD11c-), células B doble negativas 2 (CD19 + CD27- IgD- CD38- CD24- CD21- CD11c +), células B doble negativas 3 (CD19 + CD27- IgD- CD38- CD24- CD21- CD11c-), células B doble negativas 4 (CD19 + CD27- IgD- CD38- CD24- CD21 + CD11c +).

Los monocitos se clasificaron en clásicos (CD14 ++, CD16-), intermedios (CD14 +, CD16 +) y no clásicos (CD14lo, CD16 +). Los granulocitos de baja densidad (LDG) se clasificaron como LDG totales (CD14-, CD15 +), maduros (CD14-, CD15 +, CD10 +) e inmaduros (CD14-, CD15 +, CD10-). Expresamos las proporciones de los subtipos de CMSP como números absolutos según el número de linfocitos (células T, B y NK), monocitos (subconjuntos de monocitos) y leucocitos totales (LDG) en el hemograma completo extraído en la fecha de reclutamiento. Las muestras se analizaron utilizando el software FlowJo v10.7 (BD Biosciences, Nueva Jersey, EE. UU.).

5.2 Medición de los perfiles de citocinas / quimiocinas y coagulación.

La concentración sérica de 32 citocinas y quimiocinas y 4 factores de coagulación en plasma se midieron utilizando el kit MILLIPLEX Multi-Analyte Profiling (MAP) Human Cytokine / Chemokine Magnetic Bead Panel 29-plex kit (EMD Millipore, Darmstadt, Alemania), el TGF- β Luminex Performance Assay 3-plex kit (R&D Systems, Minneapolis, EE. UU.) y el kit ProcartaPlex Multiplex Immunoassay Human Coagulation Panel 4-plex (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EE. UU.), según las instrucciones de los fabricantes. Las lecturas de la intensidad de la fluorescencia de las perlas para todas las muestras y estándares se convirtieron en las concentraciones de analito correspondientes utilizando el software Bio-Plex Manager v6.2 (Bio-Rad, California, EE. UU.).

Los analitos medidos incluyeron: interleucina 1- α (IL-1 α), IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, interferón α -2 (IFN α 2), IFN γ , factor de necrosis tumoral α (TNF- α), TNF- β , proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1) / CCL2, proteína inflamatoria de macrófagos 1- α (MIP-1 α) / CCL3, proteína inflamatoria de macrófagos-1 β (MIP-1 β) / CCL4, proteína inducida por interferón- γ (IP- 10) / CXCL10, eotaxina-1 / CCL11, factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento transformante β 1 (TGF- β 1), TGF- β 2, TGF- β 3, factor IX, proteína C (factor XIX), proteína S y factor von Willebrand (vWF). Los niveles séricos de IL-18 se evaluaron mediante ELISA (MBL, Massachusetts, EE. UU.) de acuerdo con las instrucciones del proveedor.

5.3 Valoración de la firma metabolómica.

Realizamos un análisis metabolómico de sueros de todos los pacientes empleando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC / MS). Nuestro método detectó 46 metabolitos con desviación estándar relativa (RSD) <30% en la muestra de control de calidad (QC), que consiste en volúmenes iguales de todas las muestras incluidas en el análisis, como se describió anteriormente. [30].

5.4 Evaluación de las trampas extracelulares de neutrófilos circulantes (NET).

La cantidad de NET plasmáticas se abordó mediante ELISA, como se describió anteriormente [31]. Brevemente, se recubrieron placas de 96 pocillos durante la noche a 4°C con mouse anti elastasa de neutrófilos humanos (NE) 1: 2000 (Calbiochem, Darmstadt, Alemania) en buffer de recubrimiento del kit ELISA de detección de muerte celular (Roche, Basilea, Suiza). Lavamos las placas tres veces con PBS / Tween20 y bloqueamos los sitios de unión no específicos con albúmina de suero bovino (BSA) al 1% en PBS durante 6 horas a temperatura ambiente para la detección de complejos ADN-NE como se describió anteriormente [31]. Las muestras de plasma se diluyeron 1:10 en BSA al 1% y se incubaron durante la noche a 4°C. Después de lavar tres veces con PBS / Tween 20, incubamos las placas con el anticuerpo anti-ADN-POD humano del kit ELISA de detección de muerte celular (Roche, Basilea, Suiza). Lavamos la placa cinco veces con PBS / Tween 20 y aplicamos el sustrato TMB (Thermofisher Scientific, Massachusetts, EE. UU.). La placa se leyó a 450 nm después de aplicar la stop solution y se calculó el índice de densidad óptica (ODI) como se describió anteriormente[31].

5.5 Evaluación de los marcadores de atrofia muscular, hipoxia, respuesta antiviral y estrés oxidativo.

Evaluamos mediante ELISA, siguiendo las instrucciones del proveedor, los niveles plasmáticos de TRIM63 (MyBioSource, California, EE. UU.) y atrogin-1 (MyBioSource, California, EE. UU.) como marcadores de atrofia muscular. Las concentraciones séricas de HIF-1 α (Thermofisher Scientific, Massachusetts, EE. UU.) Y 8-hidroxi 2 desoxiguanosina (Abcam, Cambridge, Reino Unido) para evaluar la hipoxia tisular y el estrés oxidativo, y los niveles plasmáticos de TRIM21 (MyBioSource, California, EE. UU.) como parte de la respuesta inmune innata antiviral también se midieron mediante un ELISA comercial.

5.6 Análisis estadístico.

Las variables cuantitativas se expresaron como medianas e intervalos intercuartiles (IQR). Las diferencias entre los grupos se evaluaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis. La determinación de los factores de riesgo de malos desenlaces en COVID-19 se evaluó mediante regresión de Cox.

6. Resultados

Ochenta (66%) pacientes eran hombres. La mediana de edad en el momento del reclutamiento fue de 48 (36-58) años. 34 (28%) pacientes fueron leves / moderados, 51 (42%) graves y 36 (29%) críticos. Todos los pacientes completaron el seguimiento y fueron incluidos en el análisis. 81 (66%) pacientes tenían al menos una comorbilidad. 32 (26%) pacientes tenían diabetes, 31 (25%) hipertensión, 48 (39%) obesidad, 12 (9%) dislipidemia, 8 (6%) cardiopatía, 4 (3%) enfermedad renal crónica, 6 (4%) enfermedad hepática crónica, 4 (3%) enfermedad pulmonar crónica y 6 (4%) cáncer. Durante el período de seguimiento, 22 (18%) pacientes fallecieron y 6 (5%) pacientes progresaron. Los pacientes con COVID-19 crítico y grave tenían un índice de masa corporal (IMC) más alto en comparación con la enfermedad leve (30,3 (27,45-34,12) frente a 29,6 (27,35-31,68) frente a 26,3 (24,9-29,1), $P = 0,0008$, respectivamente). Por el contrario, los pacientes leves / moderados tenían niveles más altos de hemoglobina (16,35 g / dL (16,35-16,35) vs 15,50 (14,2-16,35) vs 14,55 (11,55-16,12), $P < 0,0001$) y albúmina (4,55 g / dL (4,39- 4,60) vs 3,80 (3,53-4,19) vs 3,12 (2,80-3,45), $P < 0,0001$) en comparación con sujetos graves y críticos (tabla 1).

En la tabla 2, representamos la mediana (RIQ, rango intercuartil) de cada subconjunto de células según la gravedad de la enfermedad. Los pacientes con COVID-19 crítico tenían un número absoluto más bajo de células Th1 (19,18 (6,17-78,71) frente a 100,05 (52,23-240,89), $P < 0,0001$), mientras que los pacientes leves / moderados mostraron mayores cantidades de células T efectoras de memoria CD8 + en comparación a COVID-19 grave y crítico (34,45 (17,28-41,53) frente a 22,29 (5,16-28,58) frente a 1,25 (0,31-2,41), $P = 0,0002$). En el compartimento mieloide, los granulocitos de baja densidad (GBD) totales aumentaron según la gravedad de la enfermedad (42,15 (22,01-94,11) frente a 181 (65,7-319,40) frente a (1062 (334,00-3427,20), $P < 0,0001$) (tabla 2).

Otras variables inmunológicas, incluidas las citocinas / quimiocinas séricas, se resumen en la tabla 3.

Los niveles séricos de MCP-1 fueron más altos en pacientes críticos en comparación con sujetos leves / moderados (592,23 (381,68-902,38) frente a 473 (350-531,70), $P = 0,013$). Los complejos de NET circulantes fueron mayores en pacientes graves y críticos (0,83 (0,46-0,84) frente a 1,3 (0,89-1,73) frente a 1,11 (0,85-1,62), $p = 0,0004$) en comparación con los sujetos leves / moderados (tabla 4). Curiosamente, los niveles plasmáticos de TRIM63 aumentaron según la gravedad de la enfermedad (tabla 4).

Los metabolitos que mostraron un cambio $> 0,5$ (P ajustado $< 0,05$) mediante el análisis de agrupamiento de acuerdo con la gravedad de la enfermedad se muestran en la figura

complementaria 3 y en la tabla complementaria 1. Las diferencias entre los grupos se muestran en la tabla complementaria 2. Curiosamente, el nivel del ácido 3-hidroxiisovalérico aumentó según la gravedad de la enfermedad (1,78 (1,42-2,16) frente a 2,54 (1,82-3,20) frente a 3,86 (2,63-4,85), $P < 0,0001$).

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes con COVID-19 según la gravedad de la enfermedad

Variable	Leve/moderado Mediana (RIQ) N=34	Grave Mediana (RIQ) N=51	Crítico Mediana (RIQ) N=36	Valor P
Características demográficas				
Mujer (%)	44.2	39.3	16.7	
Hombre (%)	55.80	60.70	83.30	
Edad (años)	34.00 (27.25-43.00)	48.00 (42.00-60.50)	54.50 (46.75-60.75)	<0.001
Comorbilidades (Número)	0 (0-0)	1 (1-2)	1 (1-2)	<0.001
Características clínicas				
Índice de masa corporal (kg/m ²)	26.73 (24.90-29.10)	29.60 (27.35-32.68)	30.30 (27.45-34.12)	<0.001
Presión arterial media (mmHg)	93.30 (85.25-100.00)	94.60 (84.80-101.50)	90.30 (82.72-100.00)	0.60
Frecuencia cardíaca (latidos por minuto)	92.00 (79.00-105.02)	105.00 (92.5-117.00)	113.5 (98.00-128.20)	<0.001
Frecuencia respiratoria (por minuto)	18.00 (16.00-20.00)	24.00 (20.00-30.00)	36.00 (30.00-42.00)	<0.001
Saturación de oxígeno (SpO ₂ , %)	95.00 (95.00-94.00)	88.00 (84.00-90.50)	64.00 (53.50-82.25)	<0.001
Temperatura (°C)	37.00 (36.50-37.50)	37.00 (36.50-37.50)	37.10 (36.2-37.52)	0.59
Parámetros de laboratorio				
Leucocitos (cels/mm ³)	7356.00 (5200.00-7912.00)	7300 (5250-10450)	10700.00 (7700.00-13075)	<0.001
Linfocitos totales (cels/mm ³)	1478.88 (1157.25-1678.40)	837.00 (530.50-1143.50)	695.00 (503.00-977.00)	<0.001
Neutrófilos totales (cels/mm ³)	3715.00 (3303-3715)	6042 (3919-8568)	9158.00 (6896.00-11390)	<0.001

Variable	Leve/moderado Mediana (RIQ) N=34	Grave Mediana (RIQ) N=51	Crítico Mediana (RIQ) N=36	Valor P
Monocitos totales (cels/mm ³)	395.00 (395.00-480.80)	478 (303.50-644.50)	532.5 (377.20-663.50)	0.14
Relación NT/LT	2.50 (2.10-4.27)	8.50 (4.23-12.89)	12.27 (6.88-19.34)	<0.001
Hemoglobina (g/dL)	16.35 (16.35-16.35)	15.5 (14.20-16.35)	14.55 (11.55-16.12)	<0.001
Plaquetas (cels/mm ³)	217.80 (217.80-217.80)	212.00 (176.00-262.50)	250.00 (198.80-345.00)	0.032
Glucosa (mg/dL)	100.13 (96.18-106.54)	111.00 (101.5-125.50)	147.00 (113.20-199.50)	<0.001
Nitrógeno ureico en sangre (mg/dL)	12.09 (11.74-13.11)	13.30 (10.00-19.65)	21.90 (13.50-31.68)	<0.001
Creatinina (mg/dL)	0.88 (0.86-0.89)	0.94 (0.78-1.16)	0.95 (0.70-1.23)	0.57
Sodio (mmol/L)	137.80 (137.20-138.00)	136.00 (134.00-139.00)	136.00 (133.00-139.00)	0.062
Potasio (mmol/L)	4.06 (4.04-4.09)	4.02 (3.69-4.38)	4.11 (3.63-4.53)	0.72
Aspartato transaminasa (U/L)	23.00 (18.10-32.00)	37.10 (26.95-64.35)	45.80 (32.27-63,70)	<0.001
Alanina transaminasa (U/L)	31.45 (24.71-36.89)	38.3 (23.65-59.00)	38.40 (26.30-63.58)	0.025
Fosfatasa alcalina (U/L)	80.43 (77.99-85.76)	85.00 (68.00-112.00)	95 (76.75-130.00)	0.031
Bilirrubina total (mg/dL)	0.56 (0.33-0.62)	0.62 (0.50-0.79)	0.71 (0.42-1.03)	0.055
Bilirrubina directa (mg/dL)	0.13 (0.08-0.15)	0.18 (0.13-0.21)	0.71 (0.42-1.03)	0.001
Bilirrubina indirecta (mg/dL)	0.42 (0.26-0.47)	0.45 (0.35-0.58)	0.46 (0.28-0.67)	0.31
Albúmina (g/dL)	4.55 (4.39-4.60)	3.80 (3.53-4.19)	3.12 (2.80-3.45)	<0.001
Globulinas (g/dL)	2.99 (2.96-3.04)	3.21 (2.88-3.53)	3.03 (2.75-3.27)	0.058
Proteína C reactiva (mg/dL)	2.08 (0.96-4.21)	9.43 (6.04-14.24)	18.36 (8.93-26.72)	<0.001
Ferritina (ng/dL)	237.03 (200.20-334.80)	464.00 (241.50-757.00)	781.5 (431.80-1167.00)	<0.001
Troponina I (pg/mL)	2.80 (2.08-3.55)	5.10 (3.10-7.20)	14.80 (5.97-89.00)	<0.001
Lactato deshidrogenasa(U/L)	195.5 (180.4-217.50)	344.00 (277.50-440.5)	518.5 (350.5-1115.00)	<0.001
Creatinina fosfoquinasa (U/L)	89.56 (80.44-114.50)	141.00 (54.00-237.00)	155.00 (97.25-576.25)	0.006
Dímero D (ng/mL)	349.60 (312.90-417.80)	529.00 (417.00-933.50)	1375.00 (1070.00-2509.00)	<0.001

Variable	Leve/moderado Mediana (RIQ) N=34	Grave Mediana (RIQ) N=51	Crítico Mediana (RIQ) N=36	Valor P
Tiempo de trombina (Segundos)	10.40 (10.40-10.65)	12.50 (11.65-13.25)	12.25 (11.50-13.38)	<0.001
Tiempo de tromboplastina (Segundos)	29.9 (29.9-29.9)	32.70 (30.45-34.50)	32.75 (28.90-38.40)	<0.001
Índice internacional normalizado	1.06 (1.06-1.06)	1.10 (1.00-1.14)	1.10 (1.00-1.20)	0.019
Fibrinógeno (mg/dL)	370.20 (355.80-421.00)	615.00 (460.50-723.00)	645.00 (540.00-808.00)	<0.001
Gasometría arterial				
pH	7.46 (7.46-7.46)	7.46 (7.44-7.48)	7.44 (7.38-7.47)	0.0346
PaCO ₂ (mmHg)	28.92 (28.92-28.92)	30.75 (28.35-32.20)	31.40 (28.93-39.10)	0.001
HCO ₃ (mmHg)	20.34 (20.34-20.34)	21.70 (20.00-22.70)	21.70 (18.95-25.62)	0.006
Lactato (mmol/L)	1.14 (1.14-1.14)	1.2 (1.00-1.60)	1.85 (1.47-2.65)	<0.001
PaFi	304.80 (304.80-304.80)	247.00 (221.00-296.50)	102.50 (86.50-166.80)	<0.001
Anion Gap (mmol/L)	14.70 (14.70-14.70)	14.00 (12.90-15.45)	14.10 (12.10-16.25)	0.13

Tabla 2. Subconjuntos de células sanguíneas periféricas de pacientes con COVID-19 según la gravedad de la enfermedad.

Variable	Leve/moderado Mediana (RIQ) N=34	Grave Mediana (RIQ) N=51	Crítico Mediana (RIQ) N=36	Valor P
Subconjuntos de linfocitos T y B (números absolutos)				
CD4 ⁺ (cels/μl) totales	342.18 (163.47-534.17)	209.33 (119.67-354.47)	260.06 (113.36-344.01)	0.090
CD4 ⁺ cels reguladoras (cels/μl)	105.41 (57.37-226.86)	89.82 (36.48-158.79)	100.59 (46.47-185.38)	0.54
Naïve CD4 ⁺ (cels/μl)	184.77 (98.78-322.36)	126.22 (64.15-211.21)	134.15 (72.34-241.80)	0.13
CD4 ⁺ de memoria (cels/μl) totales	78.88 (44.15-125.65)	49.79 (27.95-92.55)	54.52 (23.11-92.77)	0.14
CD4 ⁺ de memoria central (cels/μl)	6.91 (3.25-12.29)	5.45 (1.20-10.14)	9.04 (1.61-19.85)	0.43
CD4 ⁺ (cels/μl) de memoria efectora	34.45 (17.28-56.64)	26.73 (11.47-35.90)	16.62 (5.01-40.89)	0.0383
Th1 (cels/μl)	100.05 (52.23-240.89)	50.14 (25.81-130.77)	19.18 (6.17-78.71)	<0.001
Th2 (cels/μl)	11.34 (7.04-28.51)	6.37 (3.65-15.86)	9.40 (4.16-21.01)	0.0525
Th17 (cels/μl)	2.65 (1.14-9.21)	1.52 (0.61-3.37)	0.52 (0.07-3.62)	0.001
CD8 ⁺ totales (cels/μl)	382.15 (212.51-484.74)	156.98 (80.94-258.45)	112.58 (71.25-183.34)	<0.001
CD8 ⁺ células reguladoras (cels/μl)	72.21 (35.61-113.28)	61.22 (28.67-130.60)	12.37 (6.20-27.83)	<0.001
CD8 ⁺ naive (cels/μl)	215.28 (131.01-302.85)	110.22 (50.02-184.44)	72.43 (40.38-121.03)	<0.001
CD8 ⁺ (cels/μl) totales de memoria	59.11 (31.64-118.06)	30.49 (14.26-44.92)	19.85 (6.11-43.16)	<0.001
CD8 ⁺ de memoria central (cels/μl)	2.48 (1.25-5.48)	1.45 (0.55-2.98)	1.25 (0.31-2.41)	0.090

Variable	Leve/moderado Mediana (RIQ) N=34	Grave Mediana (RIQ) N=51	Crítico Mediana (RIQ) N=36	Valor P
CD8 ⁺ de memoria efectora (cels/μl)	33.13 (17.05-77.15)	18.15 (5.16-28.58)	11.98 (1.12-24.49)	<0.001
Tc1 (cels/μl)	200.24 (64.35-311.67)	92.36 (35.09-137.55)	30.20 (5.73-71.50)	<0.001
Tc2 (cels/μl)	4.22 (2.48-11.73)	2.73 (1.13-5.52)	3.14 (1.81-9.61)	0.065
Tc17 (cels/μl)	2.64 (1.07-7.13)	0.60 (0.22-2.52)	0.29 (0.00-2.26)	<0.001
Células B totales (cels/μl)	30.83 (0.00-109.36)	67.15 (46.99-109.05)	69.73 (40.06-107.67)	0.019
CD21 ⁻ transicional (cels/μl)	0.37 (0.00-2.55)	0.89 (0.31-1.74)	1.15 (0.28-3.46)	0.15
CD21 ⁺ transicional (cels/μl)	0.29 (0.00-34.96)	1.23 (0.30-4.22)	0.41 (0.12-1.66)	0.074
Naive totales (cels/μl)	4.95 (0.00-21.21)	19.72 (13.56-30.66)	29.80 (10.67-44.22)	0.003
Naive en reposo (cels/μl)	4.91 (0.00-20.89)	19.72 (13.36-30.46)	29.70 (10.57-43.99)	0.002
Naive activados (cels/μl)	0.03 (0.00-0.25)	0.15 (0.06-0.32)	0.18 (0.05-0.40)	0.001
Totales de memoria (cels/μl)	5.30 (0.00-15.78)	13.74 (6.53-20.61)	8.35 (4.94-12.65)	0.007
Memoria clásica inconfundible (cells/μl)	0.44 (0.00-3.24)	1.56 (0.58-2.12)	1.22 (0.61-2.24)	0.10
Switched classical memory (cells/μl)	3.29 (0.00-13.53)	11.50 (5.59-16.27)	6.07 (2.78-9.86)	0.002
Plasmablastos (cells/μl)	0.43 (0.00-1.61)	1.28 (0.96-2.24)	0.92 (0.31-2.37)	0.003
IgD ⁻ (cels/μl) de memoria no clásica	1.00 (0.00-7.53)	5.35 (2.34-8.94)	3.36 (1.40-6.91)	0.008
IgD ⁺ (cels/μl) de memoria no clásica	0.48 (0.00-2.75)	2.23 (1.07-4.44)	1.99 (1.20-5.26)	0.0236
Maduras (cels/μl)	10.55 (0.00-34.96)	33.62 (22.28-47.04)	41.17 (22.53-64.35)	0.001
Doble negativo totales (cels/μl)	4.15 (0.00-13.37)	11.08 (5.62-15.74)	13.62 (6.64-20.00)	<0.001
Doble Negativo 1 (cels/μl)	0.23 (0.00-4.14)	3.56 (1.61-5.34)	0.85 (0.11-2.54)	<0.001

Variable	Leve/moderado Mediana (RIQ) N=34	Grave Mediana (RIQ) N=51	Crítico Mediana (RIQ) N=36	Valor P
Doble Negativo 2 (cels/ μ l)	0.01 (0.00-0.20)	0.15 (0.03-0.88)	0.20 (0.05-1.08)	<0.001
Doble Negativo 3 (cels/ μ l)	1.73 (0.00-7.15)	6.05 (2.94-9.81)	9.36 (5.63-16.65)	<0.001
Doble Negativo 4 (cels/ μ l)	0.00 (0.00-0.00)	0.00 (0.00-0.01)	0.00 (0.00-0.04)	0.10
NK totales (cels/ μ l)	21.65 (13.50-33.08)	22.20 (15.70-29.80)	16.70 (8.99-31.02)	0.26
CD56 ^{hi} NK (cels/ μ l)	5.95 (3.16-9.78)	3.30 (2.00-5.48)	4.17 (1.68-7.18)	0.060
CD56 ^{lo} NK (cels/ μ l)	94.35 (89.22-96.75)	96.00 (94.60-98.00)	95.35 (92.83-98.35)	0.066
Subconjuntos mieloides				
Monocitos clásicos (cels/ μ l)	279.19 (249.84-351.35)	336.42 (211.19-481.48)	324.40 (244.30-467.50)	0.33
Monocitos intermedios (cels/ μ l)	90.85 (51.84-118.01)	50.78 (25.89-104.63)	81.30 (31.19-167.20)	0.12
Monocitos no clásicos (cels/ μ l)	27.55 (23.46-42.15)	26.88 (12.64-54.46)	42.53 (14.41-74.71)	0.69
GBD totales (cels/ μ l)	42.15 (22.01-94.11)	181.00 (65.70-304.90)	1062.90 (334.00-3427.20)	<0.001
GBD CD10 ⁺ (cels/ μ l)	0.02 (0.00-0.10)	0.39 (0.07-4.10)	18.98 (1.45-295.87)	<0.001
GBD CD10 ⁻ (cels/ μ l)	0.21 (0.05-0.85)	2.55 (0.66-6.68)	89.37 (8.95-206.53)	<0.001

Tabla 3. Citocinas y quimiocinas séricas de COVID-19 según la gravedad de la enfermedad

Variable	Leve/moderado Mediana (RIQ) N=34	Grave Mediana (RIQ) N=51	Crítico Mediana (RIQ) N=36	Valor P
IL-1a (pg/mL)	12.79 (7.16-55.52)	11.12 (0.75-22.31)	18.33 (8.36-24.56)	0.11
IL-1b (pg/mL)	2.66 (0.62-3.82)	1.14 (0.60-2.59)	3.24 (2.27-4.31)	<0.001
IL-1RA (pg/mL)	44.12 (32.49-80.61)	50.24 (27.68-106.72)	85.13 (43.79-154.59)	0.018
IL-2 (pg/mL)	1.68 (0.47-1.95)	0.80 (0.40-1.47)	1.86 (1.48-2.04)	<0.001
IL-3 (pg/mL)	0.69 (0.17-0.76)	0.19 (0.16-0.23)	0.72 (0.70-0.74)	<0.001
IL-4 (pg/mL)	58.73 (11.90-232.22)	11.90 (11.90-75.46)	50.96 (39.05-67.91)	0.020
IL-5 (pg/mL)	2.21 (0.57-4.41)	1.05 (0.65-2.16)	2.51 (1.94-4.55)	0.001
IL-6 (pg/mL)	12.44 (7.30-25.83)	20.42 (7.42-48.83)	41.07 (14.25-72.38)	0.007
IL-7 (pg/mL)	6.85 (2.50-12.18)	10.11 (5.24-16.75)	12.44 (9.42-17.70)	0.0239
IL-8 (pg/mL)	14.02 (8.23-19.44)	19.83 (11.71-45.45)	42.80 (30.59-174.19)	<0.001
IL-10 (pg/mL)	11.76 (9.77-17.80)	14.71 (8.58-22.23)	24.90 (11.69-34.74)	0.045
IL-12p70 (pg/mL)	4.63 (0.77-7.97)	1.33 (0.59-4.21)	4.49 (3.58-5.59)	<0.001
IL-12p40 (pg/mL)	12.40 (2.95-24.05)	2.95 (2.95-10.76)	14.87 (9.87-18.96)	<0.001
IL-13 (pg/mL)	3.42 (0.57-16.87)	0.56 (0.56-4.91)	3.42 (2.71-4.23)	0.013
IL-15 (pg/mL)	4.74 (3.33-6.35)	4.20 (2.26-6.37)	8.75 (6.79-10.36)	<0.001
IL-17A (pg/mL)	5.46 (2.36-7.40)	1.18 (0.60-5.46)	4.82 (3.30-6.52)	0.002
IL-18 (pg/mL)	516.7 (438.8-674.2)	555.9 (407.3-741.4)	934.00 (745.00-1127.30)	<0.001
TNF-a (pg/mL)	15.59 (10.66-20.54)	17.81 (15.22-25.43)	25.07 (17.82-35.41)	<0.001
TNF-b (pg/mL)	4.68 (0.70-25.20)	0.70 (0.70-10.56)	3.21 (2.61-3.86)	0.11
TGF- b1 (pg/mL)	82843.00 (69762.00-105076.00)	89804.00 (74158.00-100469.00)	88965.00 (74356.00-107545.00)	0.67

Variable	Leve/moderado Mediana (RIQ) N=34	Grave Mediana (RIQ) N=51	Crítico Mediana (RIQ) N=36	Valor P
TGF-b2 (pg/mL)	3020.30 (932.9-3488.80)	932.88 (582.37-932.88)	3407.70 (2906.40-3515.80)	<0.001
TGF-b3 (pg/mL)	6753.22 (562.62-7444.03)	68.24 (68.24-68.24)	7444.03 (7444.03-7444.03)	<0.001
G-CSF (pg/mL)	37.28 (21.05-71.83)	10.10 (3.87-46.91)	35.08 (23.39-47.50)	0.002
GM-CSF (pg/mL)	5.49 (0.50-9.52)	0.50 (0.50-6.42)	7.07 (5.44-8.90)	<0.001
VEGF (pg/mL)	74.83 (34.5-104.38)	117.51 (57.83-175.21)	188.62 (93.28-293.08)	<0.001
EGF (pg/mL)	96.92 (60.84-181.22)	115.19 (74.25-178.27)	142.07 (76.38-216.85)	0.43
IFN-a2 (pg/mL)	31.60 (17.46-57.73)	10.90 (10.90-27.82)	34.59 (26.20-42.93)	<0.001
IFN-g (pg/mL)	17.91 (7.81-25.93)	6.64 (3.05-17-34)	8.30 (5.65-20.24)	0.028
MCP-1/CCL2 (pg/mL)	473.1 (350.40-531.70)	526.57 (382.62-683.87)	592.23 (381.68-902.38)	0.017
MIP-1a/CCL4 (pg/mL)	3.56 (0.70-7.91)	0.70 (0.70-7.76)	4.81 (3.41-8.08)	0.016
MIP-1b/CCL3 (pg/mL)	27.48 (16.84-34.37)	31.00 (22.36-42.28)	46.89 (27.36-66.78)	<0.001
IP-10/CXCL10 (pg/mL)	1002.90 (576.00-1769.30)	1766.40 (644.00-3625.90)	2826.6 (761.90-4573.30)	0.007
Eotaxin/CCL11 (pg/mL)	101.11 (75.29-113.91)	89.23 (64.31-116.25)	74.28 (59.56-88.84)	0.074

Tabla 4. Otros marcadores biológicos en pacientes con COVID-19 según la gravedad de la enfermedad.

Variable	leve/moderado Mediana (RIQ) N=34	Grave Mediana (RIQ) N=51	Crítico Mediana (RIQ) N=36	Valor P
Factores de la vía de la coagulación				
Proteína C	593.84 (447.79-749.56)	622.26 (518.46-762.62)	458.50 (284.82-612.76)	0.033
Proteína S	492.35 (348.08-666.91)	567.36 (440.58-693.27)	436.56 (264.74-672.02)	0.32
Factor de Von Willebrand	331.93 (290.52-443.79)	293.81 (211.85-388.86)	456.50 (246.86-649.54)	0.015
Factor IX	349.67 (234.93-515.41)	433.18 (289.10-534.95)	404.2 (262.50-502.60)	0.56
Marcadores de hipoxia				
HIF-1a (pg/mL)	1742.50 (401.06-4394.40)	1022.00 (721.00-1862.00)	922.00 (501.70-1432.30)	0.50
8-hidroxi-2- desoxiguanosina (ng/mL)	30.77 (23.27-37.42)	42.55 (38.75-45.28)	31.15 (22.74-45.30)	<0.001
Marcadores de atrofia muscular				
Atrogina-1 (ng/mL)	51.38 (26.68-77.31)	42.81 (27.29-56.28)	70.16 (36.89-93.03)	0.017
Trim63 (pg/mL)	103.6 (0.00-336.60)	266.01 (99.48-602.71)	918.60 (558.90-1096.80)	<0.001
Complejos de trampas extracelulares de neutrófilos (ODI)				
NETs (DNA-NE)	0.83 (0.46-1.19)	1.39 (0.89-1.73)	1.11 (0.85-1.62)	<0.001

7. Discusión

En un estudio realizado en nuestro instituto reportó una mortalidad similar en pacientes en hospitalización y terapia intensiva. Se documentaron factores de riesgo de mortalidad similares en comparación con informes anteriores. Sin embargo, el 45% de los pacientes que no sobrevivieron tenían indicación de ingreso a UTI pero, no tuvieron acceso a ventilación mecánica invasiva (UTI) debido a la falta de disponibilidad de camas. Además, la tasa de mortalidad a lo largo del tiempo se debió principalmente a la disponibilidad de camas en áreas de cuidado intensivo, lo que sugiere indirectamente que el hacinamiento fue uno de los principales factores que contribuyeron a la mortalidad hospitalaria [33]. Es por eso que se requiere la investigación de nuevos modelos de discriminación/riesgo de requerir ingreso a un área crítica.

Como se ha reportado previamente, la obesidad es un factor de riesgo importante para peores desenlaces en la infección por COVID-19. Lo cual concuerda con los resultados que arroja este análisis. Estos hallazgos se atribuyen a la inflamación crónica, aumento en citocinas (IL-6, IL 8), como posibles mecanismos a través de los cuales el exceso de tejido adiposo podría conducir al estado hiperinflamatorio agudo que caracteriza a las infecciones graves por SARS CoV-2 [34].

Dentro de las variables de progresión de la enfermedad, nuestro estudio replica y confirma el papel como factores de riesgo para resultados adversos de algunos marcadores; la troponina I predice un peor resultado, probablemente reflejando la lesión del miocardio [16]. La proporción de neutrófilos a linfocitos y DHL como marcador de respuesta inflamatoria sistémica ayuda a predecir la gravedad de la enfermedad [35, 36].

Se ha descrito a la tormenta de citocinas como mecanismo de daño tisular en COVID-19, impulsada por diversas citocinas y quimiocinas incluida IP-10 (Proteína 10 inducible por interferón gamma) [37]. Acorde a los resultados de este análisis se describe como una citocina clave relacionada con la progresión de COVID-19 y su monitorización se ha propuesto como una herramienta prometedora. El presente análisis confirma el papel del aumento de los niveles de cistina, 3,4 dihidroxibutanoico y la depleción de ácido cítrico como factores de riesgo independientes de resultados adversos en pacientes con COVID-19 [38].

Se ha reportado que la disminución prematura del mioinositol sérico entre los lactantes prematuros SDRA conduce a resultados adversos, ya que el mioinositol puede promover la maduración pulmonar inducida por hormonas y curación del daño pulmonar [39]. El análisis que aquí se presenta sugiere el papel de niveles más bajos de mioinositol como marcador de progresión de la enfermedad en COVID-19.

8. Conclusiones

El presente estudio se presenta como una herramienta más para identificar a los pacientes que potencialmente pueden tener peores desenlaces, lo cuál ayudaría a priorizar esfuerzos para su atención médica. Se presenta un perfil más completo que incluye factores clínicos y por laboratorio, dónde se destaca marcadores como el mioinositol y el IP-10 que pueden complementar una escala pronóstica más integral.

9. Referencias

1. Q.Li,X.Guan,P.Wu,X.Wang,L.Zhou,Y.Tong,R.Ren,K.S.M.Leung,E.H.Y.Lau, J.Y. Wong, X. Xing, N. Xiang, Y. Wu, C. Li, Q. Chen, D. Li, T. Liu, J. Zhao, M. Liu, W. Tu, C. Chen, L. Jin, R. Yang, Q. Wang, S. Zhou, R. Wang, H. Liu, Y. Luo, Y. Liu, G. Shao, H. Li, Z. Tao, Y. Yang, Z. Deng, B. Liu, Z. Ma, Y. Zhang, G. Shi, T.T.Y. Lam, J.T. Wu, G.F. Gao, B.J. Cowling, B. Yang, G.M. Leung, Z. Feng, Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus–infected pneumonia, *N. Engl. J. Med.* 382 (2020) 1199–1207, <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001316>.
2. The 2019-nCoV Outbreak Joint Field Epidemiology Investigation Team, Li Q. Notes from the field: an outbreak of NCIP (2019-nCoV) infection in China — Wu- han, Hubei Province, 2019–2020. *China CDC Weekly* 2020;2:79-80.
3. Xiang N, Havers F, Chen T, et al. Use of national pneumonia surveillance to de- scribe inf luenza A(H7N9) virus epidemi- ology, China, 2004–2013. *Emerg Infect Dis* 2013;19:1784-90.
4. www.who.int/es/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-COVID-19---11-march-2020
5. Goyal P, Choi JJ, Pinheiro LC, Schenck EJ, Chen R, Jabri A, et al. Clinical characteristics of COVID-19 in New York City. *N Engl J Med.* 2020;382(24):2372-4. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2010419>
6. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Da- vidson DW, et al. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the NewYork City area. *JAMA.*2020;323(20):2052-9. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.6775>
7. J.M. Mejía-Vilet, B.M. Córdova-Sánchez, D.A. Fernández-Camargo, R.A. Méndez- Pérez, L.E. Morales-Buenrostro, T. Hernández-Gilsoul, A risk score to predict admission to the intensive

- care unit in patients with COVID-19: the ABC-GOALS score, *Salud Publica Mex.* (2020) 1–11, <https://doi.org/10.21149/11684>.
8. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard. <https://COVID19.who.int/>, 2021 (19 de febrero 2021).
 9. Y. Shang, T. Liu, Y. Wei, J. Li, L. Shao, M. Liu, Y. Zhang, Z. Zhao, H. Xu, Z. Peng, F. Zhou, X. Wang, Scoring systems for predicting mortality for severe patients with COVID-19, *EClinicalMedicine*. 24 (2020) 100426, <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2020.100426>.
 10. Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med.* 2020;180(7):934-43. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>
 11. Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020;382(18):1708-20. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>
 12. Chen R, Liang W, Jiang M, Guan W, Zhan C, Wang T, et al. Risk factors of fatal outcome in hospitalized subjects with coronavirus disease 2019 from a nationwide analysis in China. *Chest.* 2020;158(1):97-105. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2020.04.010>
 13. Wang K, Zuo P, Liu Y, Zhang M, Zhao X, Xie S, et al. Clinical and laboratory predictors of in-hospital mortality in patients with COVID-19: a cohort study in Wuhan, China. *Clin Infect Dis.* 2020;ciaa538. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa538>
 14. Yang R, Gui X, Zhang Y, Xiong Y. The role of essential organ-based comorbidities in the prognosis of COVID-19 infection patients. *Expert Rev Respir Med.* 2020. <https://doi.org/10.1080/17476348.2020.1761791>
 15. Yang W, Cao Q, Qin L, Wang X, Cheng Z, Pan A, et al. Clinical characteristics and imaging manifestations of the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19): A multi-center study in Wenzhou city, Zhejiang, China. *J Infect.* 2020;80(4):388-93. doi.org/10.1016/j.jinf.2020.02.016
 16. Núñez I, Priego-Ranero AA, García-González HB, Jiménez-Franco B, Bonilla-Hernández R, Domínguez-Cherit G, Merayo-Chalico J, Crispín JC, Barrera-Vargas A, Valdés-Ferrer SI. Common hematological values predict unfavorable outcomes in hospitalized COVID-19 patients. *Clin Immunol.* 2021 Feb 4;225:108682. doi: 10.1016/j.clim.2021.108682. Epub ahead of print. PMID: 33549831; PMCID: PMC7860942.

17. Liang W, Liang H, Ou L, et al. Development and Validation of a Clinical Risk Score to Predict the Occurrence of Critical Illness in Hospitalized Patients With COVID-19. *JAMA Intern Med.* 2020;180(8):1081–1089. doi:10.1001/jamainternmed.2020.2033
18. Knight StephenR, Ho Antonia, Pius Riinu, Buchan Iain, Carson Gail, Drake Thomas M et al. Risk stratification of patients admitted to hospital with COVID-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: development and validation of the 4C Mortality Score *BMJ* 2020; 370 :m3339
19. Grasselli G, Pesenti A, Cecconi M. Critical care utilization for the COVID-19 outbreak in Lombardy, Italy. *JAMA.* 2020;323(16):1545-6. [https:// doi.org/10.1001/jama.2020.4031](https://doi.org/10.1001/jama.2020.4031)
20. Izcovich A, Ragusa MA, Tortosa F, Lavena Marzio MA, Agnoletti C, Bengolea A, et al. Prognostic factors for severity and mortality in patients infected with COVID-19: A systematic review. *PLoS One.* 2020;15(11):e0241955.
21. Dong YM, Sun J, Li YX, Chen Q, Liu QQ, Sun Z, et al. Development and Validation of a Nomogram for Assessing Survival in Patients with COVID-19 Pneumonia. *Clin Infect Dis.* 2020.
22. Kaeuffer C, Ruch Y, Fabacher T, Hirschberger O, Mootien J, Eyriey M, et al. The BAS(2)IC Score: A Useful Tool to Identify Patients at High Risk of Early Progression to Severe Coronavirus Disease 2019. *Open Forum Infect Dis.* 2020;7(10):ofaa405.
23. Li J, Chen Y, Chen S, Wang S, Zhang D, Wang J, et al. Derivation and validation of a prognostic model for predicting in-hospital mortality in patients admitted with COVID-19 in Wuhan, China: the PLANS (platelet lymphocyte age neutrophil sex) model. *BMC Infect Dis.* 2020;20(1):959.
24. Nile SH, Nile A, Qiu J, Li L, Jia X, Kai G. COVID-19: Pathogenesis, cytokine storm and therapeutic potential of interferons. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2020;53:66-70.
25. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine Storm. *N Engl J Med.* 2020;383(23):2255-73.
26. Shen B, Yi X, Sun Y, Bi X, Du J, Zhang C, et al. Proteomic and Metabolomic Characterization of COVID-19 Patient Sera. *Cell.* 2020;182(1):59-72 e15.
27. Manzano GS, Woods JK, Amato AA. Covid-19-Associated Myopathy Caused by Type I Interferonopathy. *N Engl J Med.* 2020;383(24):2389-90.
28. Fan G, Tu C, Zhou F, Liu Z, Wang Y, Song B, et al. Comparison of severity scores for COVID-19 patients with pneumonia: a retrospective study. *Eur Respir J.* 2020;56(3).

29. Liu W, Tao ZW, Lei W, Ming-Li Y, Kui L, Ling Z, et al. Analysis of factors associated with disease outcomes in hospitalized patients with 2019 novel coronavirus disease. *Chin Med J (Engl)*. 2020.
30. Fiehn O. Metabolomics by Gas Chromatography-Mass Spectrometry: Combined Targeted and Untargeted Profiling. *Curr Protoc Mol Biol*. 2016;114:30 4 1- 4 2.
31. Lood C, Blanco LP, Purmalek MM, Carmona-Rivera C, De Ravin SS, Smith CK, et al. Neutrophil extracellular traps enriched in oxidized mitochondrial DNA are interferogenic and contribute to lupus-like disease. *Nat Med*. 2016;22(2):146-53.
32. Stekhoven DJ, Buhlmann P. MissForest--non-parametric missing value imputation for mixed-type data. *Bioinformatics*. 2012;28(1):112-8.
33. Olivas-Martínez A, Cárdenas-Fragoso JL, Jiménez JV, Lozano-Cruz OA, Ortiz-Brizuela E, Tovar-Méndez VH, et al. (2021) In-hospital mortality from severe COVID-19 in a tertiary care center in Mexico City; causes of death, risk factors and the impact of hospital saturation. *PLoS ONE* 16(2): e0245772. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245772>
34. Korakas E, Ikonomidis I, Kousathana F, Balampanis K, Kountouri A, Raptis A, et al. Obesity and COVID-19: immune and metabolic derangement as a possible link to adverse clinical outcomes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2020;319(1):E105-E9. Epub 2020/05/28. doi: 10.1152/ajpendo.00198.2020. PubMed PMID: 32459524; PubMed Central PMCID: PMC7322508.
35. Feng X, Li S, Sun Q, Zhu J, Chen B, Xiong M, et al. Immune-Inflammatory Parameters in COVID-19 Cases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7:301. Epub 2020/06/26. doi: 10.3389/fmed.2020.00301. PubMed PMID: 32582743; PubMed Central PMCID: PMC7295898.
36. Zheng Z, Peng F, Xu B, Zhao J, Liu H, Peng J, et al. Risk factors of critical & mortal COVID-19 cases: A systematic literature review and meta-analysis. *J Infect*. 2020;81(2):e16-e25. Epub 2020/04/27. doi: 10.1016/j.jinf.2020.04.021. PubMed PMID: 32335169; PubMed Central PMCID: PMC7177098.
37. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine Storm. *N Engl J Med*. 2020;383(23):2255-73. Epub 2020/12/03. doi: 10.1056/NEJMra2026131. PubMed PMID: 33264547; PubMed Central PMCID: PMC7727315.
38. Shi D, Yan R, Lv L, Jiang H, Lu Y, Sheng J, et al. The serum metabolome of COVID-19 patients is distinctive and predictive. *Metabolism*. 2021;118:154739. Epub 39 2021/03/05.

doi: 10.1016/j.metabol.2021.154739. PubMed PMID: 33662365; PubMed Central PMCID: PMC7920809.

39. Hallman M, Saugstad OD, Porreco RP, Epstein BL, Gluck L. Role of myoinositol in regulation of surfactant phospholipids in the newborn. *Early Hum Dev.* 1985;10(3-4):245- 54. Epub 1985/01/01. doi: 10.1016/0378-3782(85)90055-6. PubMed PMID: 3838720.