



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD.
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD.

CAMPO DE CONOCIMIENTO: EPIDEMIOLOGÍA

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON L-CITRULINA SOBRE LA
DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN PACIENTES RECUPERADOS DE COVID-19
DEL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS "ISMAEL
COSÍO VILLEGAS".

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS DE LA SALUD

P R E S E N T A:

MARÍA FERNANDA SALGADO FERNÁNDEZ

TUTORES:

DRA. DULCE GONZÁLEZ ISLAS

DR. ARTURO OREA TEJEDA

[INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS "ISMAEL
COSÍO VILLEGAS"]

COMITÉ TUTORAL:

DRA. WENDY DANIELLA RODRÍGUEZ GARCÍA

[FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, UNAM]

C. a DR. LAURA ADRIANA FLORES CISNÉROS

[INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA]

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX, NOVIEMBRE DE 2022



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.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Servicio de Cardiología, en especial a mis tutores, quienes han sido parte importante en mi proceso de formación, tanto académica como personalmente. Gracias a este gran equipo por el apoyo, los consejos y el cariño que nos ha unido desde que llegué a mi segundo hogar.

Agradezco a mis padres y hermanas, por siempre ser el sostén incondicional durante mi formación profesional, gracias por siempre estar.

A mi esposo, quien durante todo este tiempo ha sido mi soporte, mi compañero, y motivación para alcanzar cada objetivo y meta que me he propuesto.

A CONACyT, por el apoyo otorgado durante la realización de este proyecto, así como a los diferentes servicios médicos y de laboratorio del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias que contribuyeron en la realización de este proyecto.

ÍNDICE

	<i>Página</i>
Resumen	1
1. MARCO TEÓRICO	2
1.1 Enfermedad COVID-19 (SARS-CoV-2)	2
1.2 Secuelas post-COVID-19	3
1.3 Alteraciones cardiovasculares por COVID-19	5
1.4 Alteraciones musculoesqueléticas	6
1.4.1 Sarcopenia	7
1.5 Tejido adiposo	8
1.6 Alteraciones en microbiota intestinal	10
1.7 Disfunción endotelial	12
1.7.1 Endotelina-1	15
1.7.2 E-Selectina	16
1.7.3 Moléculas de adhesión intracelular y vascular-1 (ICAM-1 y VCAM-1)	17
1.7.4 Factor de von Willebrand	18
2. ANTECEDENTES	20
2.1 L-Citrulina	20
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	26
4. JUSTIFICACIÓN	27
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	28
6. HIPÓTESIS	28
7. OBJETIVOS	28
7.1 Objetivo general	28
7.2 Objetivos específicos	29
7.3 Objetivos secundarios	29
8. METODOLOGÍA	31
8.1 Procedimiento	32
8.2 Cuadro de operacionalización de variables	35

8.3 Cálculo del tamaño de la muestra	38
8.4 Modelo conceptual	39
8.5 Reclutamiento	40
9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	41
10. RESULTADOS	42
11. DISCUSIÓN	51
11.1 Efecto de la L-citrulina sobre biomarcadores de función endotelial	51
11.2 Efecto de la L-citrulina en la fuerza de mano y caminata de 6 minutos	54
12. CONCLUSIÓN	60
13. ANEXO 1. Formatos de entrega en la consulta	61
14. ANEXO 2. Aprobación de comité de ética e investigación	66
15. Bibliografía	67

ABREVIATURAS

ACT:	Agua corporal total
ADMA:	Dimetilarginina asimétrica
AGM:	Ácidos grasos monoinsaturados
AGP:	Ácidos grasos poliinsaturados
Ang-2:	Angiotensina 2
ATP:	Adenosín trifosfato
BUN:	Nitrógeno ureico en sangre
baPWV	Velocidad de onda de pulso braquial-tobillo
C-HDL:	Colesterol de lipoproteínas de alta densidad
C-LDL:	Colesterol de lipoproteínas de baja densidad
COVID-19:	Enfermedad por coronavirus
DE:	Disfunción endotelial
ECA2:	Enzima convertidora de angiotensina 2
ERO:	Especies reactivas de oxígeno
ET-1:	Endotelina 1
FEVI:	Fracción de expulsión ventricular izquierdo
FEV ₁ :	Volumen espiratorio forzado en el primer segundo
FFMI:	Índice de masa libre de grasa
FMD:	Dilatación mediada por grupo
FVC:	Capacidad vital forzada
FvW:	Factor de von Willebrand
HbA1c:	Hemoglobina glicosilada
IASMM:	Índice de masa apendicular musculoesquelética
IC:	Insuficiencia cardiaca
ICAM-1:	Molécula de adhesión intercelular-1
IL:	Interleucina
IMC:	Índice de masa corporal
INEGI:	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
MAT/TT:	Tiempo de amplitud máximo/tiempo total de la curva

MERS:	Síndrome Respiratorio de Medio Oriente
NCEP-ATPIII:	National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III
NMD:	Vasodilatación dependiente de nitroglicerina
ON:	Óxido nítrico
ONS:	Óxido nítrico sintetasa
ONSe:	Óxido nítrico sintetasa endotelial
PaO ₂ /FiO ₂ :	Presión arterial de oxígeno/ fracción inspirada de oxígeno
PCR:	Proteína C reactiva
PAD	Presión arterial diastólica
PAS	Presión arterial sistólica
SIRA:	Síndrome de insuficiencia respiratoria aguda
SRAA:	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
TFG:	Tasa de filtración glomerular
TNF- α :	Factor de Necrosis Tumoral alfa
VCAM-1:	Molécula de adhesión vascular-1
VIH:	Virus de la inmunodeficiencia humana

RESUMEN

Introducción: La enfermedad COVID-19 es una enfermedad respiratoria severa, se asocia a un síndrome de inflamación sistémica y disfunción endotelial mostrando un peor pronóstico en los pacientes. La L-citrulina es un aminoácido no esencial, se caracteriza por tener efectos benéficos en la función endotelial, inflamación sistémica, y presión arterial, así como en el rendimiento físico. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la suplementación con L-citrulina sobre la disfunción endotelial en pacientes recuperados de COVID-19 del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas” (INER).

Materiales y métodos: Ensayo clínico aleatorizado, (n=48), el grupo intervención recibió 4 gramos de L-citrulina más tratamiento nutricional, mientras que el grupo control solo recibió tratamiento nutricional durante 3 meses. Fueron incluidos pacientes recuperados que fueron hospitalizados en el INER. La disfunción endotelial fue medida a través de biomarcadores (Endotelina-1, E-selectina, ICAM-1 y VCAM-1).

Resultados: El 54.2% son hombres, la edad promedio fue de 53.12 ± 13.5 años. Se observó una disminución significativa de endotelina-1 en el grupo intervención (-0.23 pg/ml; IC 95% -0.45 a -0.003 , $p= 0.047$) a través del seguimiento de los 3 meses, esta disminución se encontró con una tendencia estadística en el límite ($p=0.055$) entre los grupos. No se observaron cambios en el resto de los biomarcadores de función endotelial.

Conclusión: La suplementación con L-citrulina durante 3 meses tiene efectos benéficos sobre la función endotelial al disminuir las concentraciones de Endotelina-1 en pacientes recuperados de COVID-19 del INER.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Enfermedad COVID-19 (SARS-CoV-2)

La enfermedad de coronavirus 2019 (COVID-19) es causada por el virus SARS-CoV-2. Es una enfermedad respiratoria severa, asociada con un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica¹, puede manifestarse como asintomática, de forma moderada con síntomas como fiebre, tos seca, fatiga, y casos graves con complicaciones como síndrome respiratorio agudo severo, sepsis, insuficiencia cardíaca, y choque séptico². El SARS-CoV-2, ingresa a la célula a través del receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA2)², misma que es expresada principalmente en las células epiteliales alveolares y células endoteliales y en otros órganos como corazón, riñones, hígado e intestinos³. La ECA2 facilita la entrada viral, tiene un papel importante en la función del sistema inmunológico y cardiovascular, conduce a la tormenta de citoquinas sistémicas por lo que la expresión de la ECA2 en las células cardiovasculares puede facilitar la propagación viral y su difusión al corazón^{4,5}. Elevados niveles de angiotensina 2 (Ang-2) producen daño al endotelio y complicaciones trombóticas en pacientes con COVID-19⁶.

La COVID-19 está emergiendo como una enfermedad trombótica y vascular dirigida a las células endoteliales⁷, mostrando así un estado hiperinflamatorio, en los pacientes infectados². Se ha descrito que además en éstos sujetos existe un desbalance inmune con potenciación de la respuesta inflamatoria, mediada por la “tormenta de citoquinas”³. Por otra parte, las formas graves de COVID-19 y con

mayor afectación al sistema cardiovascular han sido más frecuentes en sujetos con comorbilidades cardiometabólicas, particularmente hipertensión arterial⁸, obesidad⁹, diabetes mellitus tipo 2 y dislipidemia¹⁰, que conduce a una lesión cardíaca aguda¹¹. Además, se ha descrito que éstas afectaciones cardiovasculares centradas principalmente en lesiones cardíacas¹² y daño al endotelio¹³, pueden persistir aun cuando los sujetos se han recuperado de la enfermedad¹⁴.

1.2 Secuelas post-COVID-19

Se ha definido COVID-19 post-agudo como la persistencia de síntomas y/o remisión tardía a largo plazo de complicaciones por la infección de SARS-CoV-2 después de 4 semanas de la aparición de los síntomas. Además, esta definición se divide en dos categorías: 1) síntomas de COVID-19 subagudos o que continúan, incluyen síntomas y anormalidades que ocurren de la 4 a la 12 semana después de la enfermedad aguda; 2) crónico o síndrome post-COVID-19, el cual incluye síntomas y anormalidades persistentes o presentes después de las 12 semanas de la enfermedad y que no se les atribuye un diagnóstico alternativo¹⁵.

Se han documentado alteraciones en pacientes que se recuperan de la infección por SARS-CoV-2, principalmente daño pulmonar, cardiovascular, músculo-esquelético y renal, así como una progresión de enfermedades crónicas no transmisibles en sujetos que tuvieron la infección¹⁶. En sujetos con daño pulmonar, se han descrito, inflamación de las vías respiratorias, hipertrofia y daño alveolar, dilatación capilar alveolar, infiltración celular inflamatoria, bronquiectasias,

formación de trombos y neumonía. También, distintos patrones intersticiales (cambios agudos de neumonía organizativa con o sin fibrina, neumonía intersticial no específica y fibrosis pulmonar)¹⁷. Algunos estudios han descrito que en pacientes hospitalizados, síntomas pulmonares y físicos como disnea y fatiga pueden persistir después de 3 meses de egreso hospitalario¹⁸.

Asimismo, se han documentado daños vasculares pulmonares mediados principalmente por la vasoconstricción pulmonar hipóxica que cuando está comprometida, las derivaciones intrapulmonares causan una disminución en la oxigenación del flujo sanguíneo venoso, contribuyendo a un suministro disminuido de oxígeno, así como pérdida de la regulación de perfusión pulmonar y microtrombos pulmonares¹⁹. Además, se han reportado alteraciones relevantes en pruebas de función pulmonar con un patrón restrictivo en pacientes recuperados de COVID-19²⁰. En pacientes post-COVID-19 se ha observado un incremento en las concentraciones de algunos elementos como troponinas, Factor de von Willebrand (FvW), dímero D, que se han asociado con un aumento en el riesgo de trombosis y eventos cardiovasculares²¹. Como en virus similares, el SARS-CoV-2, ha sido asociado complicaciones cardiovasculares como miocarditis, lesión miocárdica, choque cardíaco, arritmias, insuficiencia cardíaca, y enfermedad coronaria, siendo ésta la más severa en presencia de la infección²². Por otro lado, también podría originar serios daños en el cerebro y la médula espinal, incluyendo encefalitis, convulsiones, delirios, alteración de la conciencia, inquietud, anosmia, y disgeusia²³. Algunos estudios han sugerido que los daños al sistema nervioso inducido por SARS-CoV-2 podría ser por la entrada del virus al cerebro a través de la circulación

sanguínea, infectando terminaciones nerviosas sensoriales y motoras, así como algunos mecanismos indirectos como la hipoxia, en el tejido cerebral que causa cambios agudos en algunas áreas del cerebro²³. Por otra parte, se han reportado insuficiencia renal aguda (IRA) y crónica (IRC), proteinuria, hematuria, daño en el conducto biliar y necrosis de hepatocitos en pacientes infectados, y siendo IRA uno de las consecuencias más severas de la COVID-19²².

1.3 Alteraciones cardiovasculares por COVID-19

En virus similares como SARS-CoV y Síndrome Respiratorio de Medio Oriente (MERS), se han documentado alteraciones en el metabolismo de hidratos de carbono y lípidos como secuelas de la infección, en un estudio de seguimiento, encontraron que, de los recuperados de SARS-CoV: el 68% presentó hiperlipidemia, 60% alteraciones en el metabolismo de la glucosa y 44% anomalías cardiovasculares²⁴. Aunque es bien conocida la enfermedad respiratoria y el daño pulmonar que puede persistir, diversos estudios han demostrado que pueden ocurrir además secuelas en otros órganos como el corazón y endotelio¹². Estudios publicados recientemente han sugerido que el mecanismo al daño al sistema cardiovascular podría deberse a la infección dirigida a células cardíacas, daño indirecto a través de la afectación pulmonar o daño inducido por la inflamación sistémica y coagulación vascular diseminada, y que estos escenarios podrían suceder simultáneamente²¹. Además, se conoce que en sujetos con COVID-19, existe una alta incidencia de compromiso cardiovascular como lesión miocárdica, infarto agudo al miocardio, miocarditis y miocardiopatía e inflamación

sistémica²⁵, al ser ésta un potente precursor de alteraciones al sistema cardiovascular². Las células endoteliales pueden ser afectadas directamente por la infección viral, así como por la “tormenta de citoquinas” y una respuesta inmune desregulada, resultando en una activación excesiva del endotelio⁶ comprometiendo su actividad anti-inflamatoria y anti-trombótica²⁶, elevando el riesgo de daño y eventos cardiovasculares¹². La importancia de la inflamación y sus efectos procoagulantes, resaltan el papel del endotelio en patología cardiovascular inducida por la infección viral²¹.

1.4 Alteraciones musculoesqueléticas

Desde la fase aguda de la enfermedad, suelen aparecer síntomas relacionados al tejido muscular, mialgias o fatiga que son tercer lugar de síntomas más comunes. Se han descrito diversos mecanismos de daño al músculo, la producción excesiva de citoquinas proinflamatorias en condiciones hipercatabólicas, la edad avanzada y la presencia de comorbilidades (obesidad, diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares, hipoxia, entre otras) son de los principales vínculos de daño al tejido muscular²⁷. Además, en pacientes que han ingresado a la unidad de cuidados intensivos, la pérdida de masa muscular puede deberse a la estancia hospitalaria prolongada, si requirieron ventilación mecánica invasiva y terapia farmacológica²⁸. Por otra parte, en infecciones virales similares como el SARS-Coronavirus, se ha descrito que los pacientes recuperados mostraron capacidad física y estado de salud notablemente menor en comparación con población sin la infección²⁹.

1.4.1 Sarcopenia

La sarcopenia es una pérdida no intencionada de masa muscular esquelética, con reducción en la cantidad y calidad muscular³⁰. En estadios severos, la sarcopenia puede definirse además, como una disminución en el rendimiento físico, limitaciones para las funciones físicas de la vida diaria, incrementando el riesgo de caídas y mortalidad³¹. Se ha descrito que la sarcopenia afecta la respuesta inmunológica frente a infecciones agudas³². El posible mecanismo principal podría ser la secreción anormal de miocinas pro-inflamatorias, como las interleucinas (IL) 15, IL-17 y IL-6, que son responsables de la función de células inmunes adaptativas³³. Así mismo, en respuesta a lesiones, células inmunológicas son infiltradas en el músculo esquelético para restaurar la homeostasis muscular promoviendo factores necesarios para la proliferación y diferenciación celular³⁴. Además, las funciones fisiológicas de las células inmunes se pierden gradualmente con la edad, dañando la capacidad regenerativa del músculo esquelético³³.

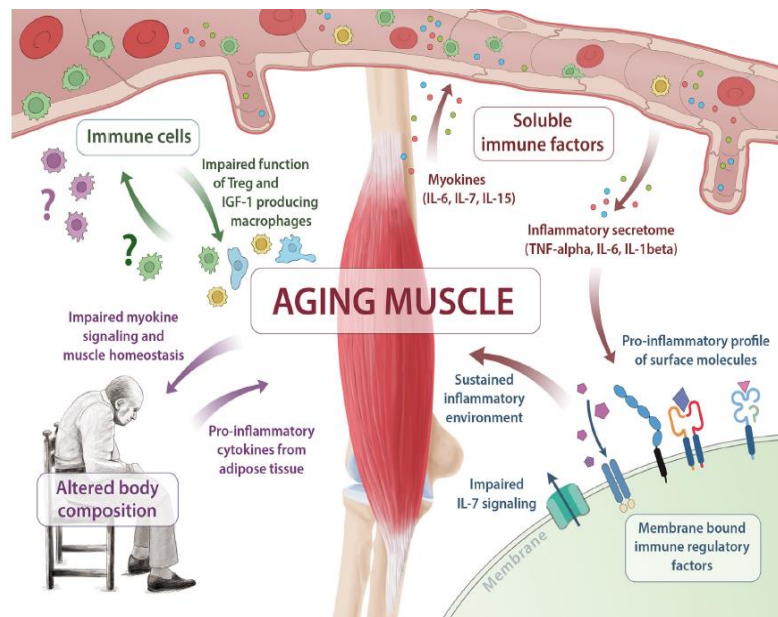


Figura 1. El envejecimiento del músculo esquelético es central en la patogenia de la senescencia inmune y la sarcopenia. Múltiples vías son afectadas incluyendo la señalización insuficiente de miocinas (IL-6, IL-7, IL-15), cambiando los factores reguladores inmunitarios unidos a la membrana conduciendo a un perfil proinflamatorio, deteriorando la función de las células inmunitarias y alterando la composición corporal. Tomado de: Chirtopher Nelke y Cols. Skeletal muscle as a potential central link between sarcopenia and immune senescence, 2019³³.

Durante estrés metabólico por infección severa, el músculo esquelético es catabolizado para proveer al sistema inmunológico, hígado e intestino de aminoácidos. Así, la enfermedad COVID-19 podría ser un factor de riesgo en la incidencia y progresión de sarcopenia por inmovilización física debido a las largas estancias hospitalarias, uso de bloqueadores neuromusculares en aquellos sujetos con ventilación mecánica, el uso de glucocorticoesteroides e inadecuado soporte nutricional durante el curso de la enfermedad³⁵. El músculo esquelético tiene un papel importante en la patogénesis central de la sarcopenia y respuesta inmunológica. A través de interacciones como el proceso inflamatorio, respuesta inmunológica disminuida, el músculo esquelético se ve afectado, resultando en daño a la protección inmunológica, regeneración muscular y alteración de la composición corporal³³. Por otra parte, en sujetos recuperados de COVID-19, como consecuencia del proceso severo de la enfermedad, pueden observarse secuelas de sarcopenia aguda, comprometiendo la capacidad de regeneración muscular³¹.

1.5 Tejido adiposo

El tejido adiposo además de estar compuesto de adipocitos, incluye células endoteliales, fibroblastos y algunas células inmunes. El exceso de tejido adiposo conduce a la infiltración de células inmunes y a un proceso homeostático promotor de inflamación por parte del tejido³⁶. Los adipocitos disfuncionales desencadenan

la secreción de citoquinas inflamatorias y adipocinas que contribuyen al estado proinflamatorio que caracteriza a la obesidad central³⁷. Se ha descrito que sujetos con obesidad desarrollan Disfunción Endotelial (DE), probablemente por la exposición continua a estímulos inflamatorios y estrés oxidativo³⁷, así como a factores como hiperlipidemia causando infiltración de lípidos³⁶. Fracciones de ácidos grasos libres muestran respuestas proinflamatorias induciendo la expresión de moléculas de adhesión, Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- α), y especies reactivas de oxígeno (ERO) en células endoteliales aórticas. Además, se ha descrito que la sobreexpresión de TNF- α promueve la activación de ERO y reduce la biodisponibilidad de óxido nítrico (ON), conduciendo a la DE³⁸. Por otra parte, en la obesidad existe incremento en el depósito de tejido adiposo intramuscular e intermuscular (cambios metabólicamente activos), lo cual resulta en disminución de la densidad muscular asociada con resistencia a la insulina³⁹. Por otro lado, el tejido adiposo también se ha relacionado con el riesgo de trombosis, en sujetos con obesidad se han observado elevadas concentraciones de FvW, Factor Tisular, factor VII, VIII y fibrinógeno favoreciendo un estado hipercoagulante³⁷. Además el exceso de tejido adiposo conduce a la menor liberación de niveles de adiponectina, contribuyendo al incremento de plaquetas y de la coagulación³⁷. Los macrófagos en el tejido adiposo participan en vías inflamatorias que son activadas en individuos con obesidad. Así mismo, existe una expresión desregulada de moléculas de adhesión en macrófagos y células endoteliales en sujetos con obesidad visceral, que sugiere una interacción entre células que contribuyen al proceso inflamatorio local, aumentando la permeabilidad vascular³⁶.

Por otra parte, como consecuencia de la acumulación excesiva de tejido adiposo, la obesidad puede alterar procesos de diversas respuestas inmunológicas, en sujetos con COVID-19 implica uno de los principales factores de riesgo para formas severas y peor pronóstico de la enfermedad⁴⁰. En sujetos con obesidad, el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) está activado de manera crónica y predispone al individuo a alteraciones patológicas cardíacas y renales. Los componentes del SRAA, incluyendo a la ECA2 se expresan en adipocitos y tienen un papel importante en el metabolismo homeostático de lípidos y glucosa.⁴¹ Existe evidencia de que sujetos con obesidad y COVID-19, tienen elevados niveles de ECA2, disminución en la respuesta inmunológica antiviral, han mostrado elevados niveles de tejido adiposo en epicardio así como depósitos de lípidos en vías respiratorias mayores, lo que podría explicar la susceptibilidad a la infección, morbilidad y mortalidad.⁴⁰

1.6 Alteraciones en la microbiota intestinal

La microbiota intestinal juega un papel importante en la salud a través de sus acciones metabólicas y protectoras. Está compuesta de microorganismos residentes las cuales incluyen bacterias, virus y hongos, predominando las familias de bacterias como Bacteroidaceae, Prevotellaceae, Rikenellaceae, Lachnospiraceae y Ruminococcaceae⁴². Se ha descrito que la microbiota intestinal regula y desarrolla la función del sistema inmunológico innato y adaptativo⁴³, así

mismo, la microbiota deriva señales a las células inmunes para activar respuestas pro y antiinflamatorias afectando la susceptibilidad de varias enfermedades⁴⁴. Se sabe que la alimentación tiene un papel importante en la composición y salud de la barrera intestinal. Se ha descrito que los prebióticos mejoran la inmunidad, diversidad intestinal, digestión, entre otras, especialmente en personas de edad avanzada, y los probióticos han mostrado buenos resultados en la mejora de las condiciones inflamatorias y regular la inmunidad⁴².

Diversos estudios han sugerido que la microbiota intestinal se muestra afectada en pacientes infectados por SARS-CoV-2, la cual es de suma importancia en la modulación de la respuesta inmunológica frente a la infección aumentando principalmente una respuesta inflamatoria en la enfermedad⁴⁵. Se ha descrito que una potencial ruta de infección de SARS-CoV-2 es a través del sistema digestivo, algunos autores sugieren que síntomas como diarrea pueden asociarse con una alta expresión de la Ang-2⁴⁶. Se ha reportado en diversos estudios que la alteración en la microbiota intestinal fue asociada con mayor severidad de la enfermedad, mayor abundancia en bacterias oportunistas (*Streptococos*, *Rothia*, *Veillonella* y *Actinomyces*), así como reducción de bacterias benéficas como *Lactobacillus* y bifidobacterias⁴⁷. También la alteración de la microbiota intestinal ha sido bien identificada y confirmada en otras infecciones virales respiratorias vinculadas a una posible causa de inflamación intestinal y lesión inmunológica en pacientes con influenza⁴⁸. Por otra parte, las alteraciones en la microbiota podrían desarrollarse por múltiples factores, principalmente la administración de los medicamentos durante la enfermedad COVID-19, como fosfato de cloroquina, ritonavir, remdesivir,

lopinavir, y en caso de neumonía, antibióticos, algunos síntomas gastrointestinales que se presentan durante la infección como vómito y diarrea, así como las largas estancias hospitalarias lo que podría conducir a esta disbiosis⁴⁹. Como consecuencia, los sujetos con COVID-19, podrían desarrollar disbiosis relacionada con la enfermedad aún después de haberse recuperado⁴⁵.

En un estudio, describieron la microbiota intestinal en sujetos recuperados de COVID-19 en comparación con sujetos sanos, y encontraron que los sujetos recuperados tuvieron mayor abundancia de *Rothia* y *Erisipelatoclostridio*, (*Rothia* relacionada con inflamación pulmonar y neumonía en pacientes inmunocomprometidos), y ésta fue significativamente mayor en comparación con los controles. Lo que sugiere que los cambios y la progresión de la COVID-19 se refleja en diversos estadios de la enfermedad y que la microbiota intestinal en estos pacientes no está completamente recuperada después de 3 meses de haber superado el proceso infeccioso agudo y una disminución de bacterias antiinflamatorias proveen un riesgo potencial de desórdenes de inflamación intestinal crónica en pacientes convalecientes de la enfermedad⁵⁰.

Inflamación en COVID-19

1.7 Disfunción endotelial

La disfunción endotelial (DE) consiste en una condición sistémica en la cual el endotelio pierde sus propiedades fisiológicas, como la permeabilidad vascular, regulación del tono vascular, reclutamiento de neutrófilos⁶, promoviendo un estado

protrombótico, proinflamatorio y prooxidante⁵¹. Las células endoteliales también tienen un papel importante en las defensas del organismo, formando la primer línea de encuentro ante patógenos, enviando una alerta temprana de infección, invasión o lesión⁵². Así mismo, la DE se caracteriza por una supresión de la óxido nítrico sintetasa endotelial (ONSe) concomitante con baja biodisponibilidad de ON⁷. El ON producido por la ONSe, es clave para la homeostasis vascular, principalmente por sus propiedades antiploriferativas, antitrombóticas y antiaterogénicas⁶. Por otra parte, la hipoxia juega un papel importante en el cambio metabólico de las células endoteliales como la reducción de ATP en las células generado por la fosforilación oxidativa que conduce a la producción de especies reactivas de oxígeno mitocondriales⁶.

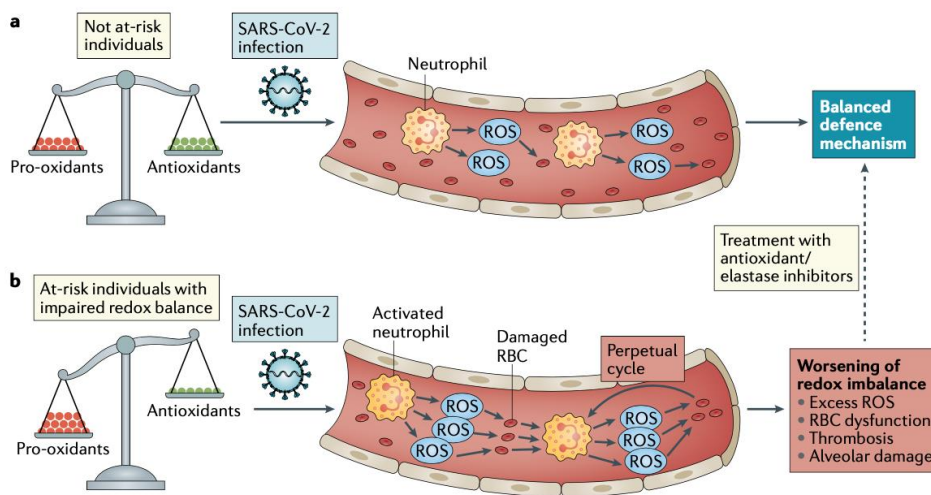


Figura 2. Infección por SARS-CoV-2 conduce a liberar especies reactivas de oxígeno inducido por neutrofilia. Se observan dos escenarios en la infección por SARS-CoV-2, a) en donde en un individuo sin riesgo un exceso de ERO con balanceados por el incremento en defensas antioxidantes, y b) en donde en sujetos con un desbalance de estas propiedades antioxidantes la producción de ERO no es controlada, conduciendo a la peroxidación de membranas de los glóbulos rojos lo que a su vez perturba la activación de neutrófilos. Tomado de: Mireille Laforge, y Cols. Tissue damage from neutrophil-induced oxidative stress in COVID-19.⁵³

La DE, es el principal determinante de disfunción macro y microvascular⁶, y cambios en las funciones homeostáticas contribuyen a lesiones en el tejido endotelial⁵². Se ha descrito que el balance dañado de las propiedades protrombóticas/antitrombóticas del endotelio pueden contribuir a la trombosis vascular en sujetos con COVID-19⁵², y que además, la DE podría explicar el empeoramiento de la enfermedad²⁶. Por otro lado, en sujetos con COVID-19 existe una desregulación de moléculas procoagulantes como el FvW^{52,21}, un potente marcador de daño endotelial, mostrándose severamente incrementado en pacientes infectados⁵⁴. Así mismo, las células endoteliales pueden producir uno de los vasoconstrictores más potentes: endotelina-1, en respuesta a la Ang-2, trombina o LDL oxidado⁵². Características fundamentales en la disfunción de las células endoteliales incluye también la producción local de moléculas de adhesión como la E-selectina en respuesta a la producción de citoquinas inflamatorias como TNF- α e IL-1 β ²¹. Todas éstas moléculas actúan como marcadores de daño endotelial, peor pronóstico y precursores de enfermedad cardiovascular⁵⁴.

En sujetos con COVID-19 existe un incremento en el proceso inflamatorio, mostrando hiperinflamación y un perfil de coagulación alterado⁶. Las citoquinas asociadas a la “tormenta de citoquinas” son principalmente PCR, IL-1 α , IL- β , IL-6, IL-7 y TNF- α ⁶, una sobreproducción de estas podría perturbar los procesos normales del endotelio y potenciar los patológicos⁵². Además, se sabe que en sujetos con COVID-19, el estado proinflamatorio tiene un papel importante en el curso, severidad de la enfermedad y daño multiorgánico². Así mismo, se ha asociado a la apoptosis de las células endoteliales, incrementando la expresión de

moléculas de adhesión, cambios procoagulantes, empeorando el flujo vascular²⁶. Eventos cardiovasculares adversos asociados con COVID-19, han sido vinculados con la severidad de la inflamación resultando en disfunción cardíaca²¹.

Marcadores de disfunción endotelial

1.7.1 Endotelina-1

La endotelina-1 (ET-1) es un péptido de 21 aminoácidos y potente vasoconstrictor⁵⁵, es sintetizada predominantemente por las células vasculares endoteliales⁵⁶, ET-1 media su acción a través de la activación de los receptores acoplados a la proteína G tipo A y B. ET-1 secretada por las células endoteliales, actúa de manera paracrina para causar constricción de la célula del músculo liso vascular principalmente a través de los receptores tipo A. Así mismo, actúa como autocrina en los receptores tipo B para inducir la relajación principalmente a través de la liberación de NO⁵⁵. ET-1 es la isoforma más predominante e importante y es 10 veces más potente que la angiotensina-1⁵⁷. ET-1 ejerce una acción vasoconstrictora y proliferativa sobre las células de músculo liso vascular, tiene un papel importante en la regulación del tono y remodelación vascular^{57,58}. Las concentraciones normales de ET-1 en plasma son aproximadamente 1 – 2 pg/mL⁵⁷. ET-1 participa en la regulación de la presión arterial y función vascular, y está elevada en plasma en pacientes con hipertensión esencial⁵⁵. Las concentraciones en plasma se encuentran elevadas en pacientes con condiciones asociadas con

lesión de las células endoteliales, así como hipertensión, insuficiencia cardiaca congestiva, enfermedad coronaria y diabetes mellitus⁵⁹.

1.7.2 E-Selectina

La E-selectina es una molécula de adhesión clave que regula la unión de leucocitos al endotelio en los sitios dañados, media el reclutamiento de leucocitos circulantes apoyando las interacciones adhesivas⁶⁰. Es expresada por células endoteliales activadas⁶¹. Su síntesis y expresión puede ser inducida por citoquinas como la interleucina IL-1 o TNF- α ⁶². Es un potente marcador de lesión y/o activación del endotelio⁶³. Se ha sugerido que papel de esta molécula de adhesión como marcador de actividad de enfermedades autoinmunes conduce a infecciones, aterosclerosis, neoplasmas, enfermedades crónicas inflamatorias y vasculitis, así como tromboembolismo venoso recurrente⁶⁰. Así mismo, concentraciones elevadas de E-selectina han sido asociadas con la obesidad y podría ser explicada por la producción de TNF- α e IL-6 que se producen en los adipocitos viscerales los cuales pueden inducir a la expresión de esta molécula⁶⁴. Por otro lado, en pacientes con COVID-19 se han observado cifras elevadas de E-selectina, en comparación con sujetos con SARS clásico (24.9 ng/mL, [9.2 – 42.5]; vs 3.3 ng/mL, [2.4 – 5.7]; $p < 0.001$)⁶⁵. Las concentraciones aproximadas son 0.5 – 10 ng/mL⁶¹.

1.7.3 Moléculas de adhesión intracelular y vascular 1 (ICAM-1 y VCAM-1)

La ICAM-1 es una molécula de adhesión celular e inflamación de leucocitos. Su producción es inducida por gamma-interferón y es necesaria en la migración de neutrófilos al tejido inflamado⁶⁶. Por otra parte, la VCAM-1 es una molécula de adhesión que su expresión es mediana por citoquinas en células endoteliales activadas principalmente, también es importante en el traslado de leucocitos a sitios dañados y/o inflamados⁶⁷. A través de las citoquinas inflamatorias la ICAM-1 incrementa significativamente su expresión y se ha descrito como un marcador de disfunción/activación endotelial⁶⁸. Estas moléculas de adhesión se han observado elevadas en diversas patologías, principalmente aquellas inflamatorias como apnea del sueño⁶⁹, y recientemente en COVID-19 donde diversos estudios han concluido que la expresión de estas moléculas está estrechamente relacionada con la severidad de la enfermedad y podrían contribuir a la disfunción en la coagulación⁷⁰. Así mismo, la elevación anormal de estas moléculas están relacionadas con el desarrollo de arteriosclerosis⁷¹, y aterosclerosis, siendo la respuesta inflamatoria desregulada un indicador de la sobre expresión de ICAM-1 y VCAM-1. Además, se han mostrado incrementadas en presencia de células endoteliales expuestas a ERO⁷². Por otra parte, en sujetos recuperados de COVID-19 se observaron niveles más elevados de ICAM-1 después de 5 semanas después del diagnóstico inicial de la enfermedad, mostrándose como un indicador de secuelas tardías debido a la infección⁷³.

1.7.4 Factor de von Willebrand

El Factor de von Willebrand (FvW) es una gran glicoproteína multimérica presente en el plasma y en la matriz del subendotelio. Se almacena en forma de multímeros en cuerpos de Weibel-Palade y gránulos de plaquetas⁷⁴. Incrementa sus sitios de unión con la célula endotelial, plaquetas y el factor VIII de la coagulación, y es sintetizada en las células endoteliales y en megacariocitos⁷⁵. En respuesta a estrés y mediadores inflamatorios las células endoteliales se activan y liberan grandes cantidades de multímeros de FvW hiperreactivos a la circulación, mismos que provienen de la proteólisis mediada por la ADAMTS-13 (A Desintegrin And Metalloprotease, with Trombo Spodin-1-like domains)⁷⁵. La función principal de ADAMTS-13 es desintegrar el FvW anclado a la superficie endotelial⁷⁴, y un defecto en esta función puede influir en la progresión local de eventos protrombóticos⁷⁶. Una subunidad del FvW tiene sitios de unión para receptores plaquetarios principales, la glicoproteína Ib en el complejo GPIb-IX-V e integrina IIb 3 en el complejo GPIIb-IIIa, a través de éstas interacciones el FvW actúa como puente entre las plaquetas circulantes en sitios de lesión vascular, promoviendo la adhesión plaquetaria⁷⁵. Las concentraciones de FvW en plasma son aproximadamente de 50-200 UI/dL, con una vida media alrededor de 12 horas⁷⁷, y pueden ser medidas en plasma a través de ELISA⁷⁸. El FvW está involucrado en la agregación plaquetaria y formación de trombos debido a su importante participación en la inflamación, es identificado como un factor crucial en la propagación de aterosclerosis, resultando en isquemia cerebral⁷⁴. Así mismo, se ha descrito como un marcador potente de daño endotelial, asociado a la presencia de enfermedad cardiovascular y como peor pronóstico en

sujetos con alguna cardiopatía⁷⁹. En la patogénesis de COVID-19, la activación endotelial y la interacción con diversos factores de inflamación, así como con el material viral, podría ser crucial en la agregación plaquetaria⁷⁴. La coagulopatía en enfermedades críticas como choque séptico o síndrome respiratorio agudo severo implica una cantidad sustancial de activación de células en el endotelio y plaquetas, como resultado de esta activación no mitigada de la cascada de coagulación, la actividad del antígeno de FvW elevado puede ser acompañado de la reducción de la ADMTS13, lo que produce una microangiopatía⁵⁴. Se han reportado altas concentraciones de FvW en sujetos con COVID-19^{80,54}, en pacientes que han estado en terapia intensiva el antígeno se encontró en 565% vs 278% (valor de referencia: 62 – 175%) en sujetos que no estuvieron en terapia intensiva⁵⁴, que han sido asociados a endoteliopatía, activación plaquetaria, y coagulopatía⁸⁰, tanto en pacientes críticos como no críticos, y desempeña un papel importante en la progresión y pronóstico de la enfermedad⁵⁴.

2. ANTECEDENTES

2.1 L-Citrulina

L-Citrulina es un α -aminoácido no esencial hidrosoluble⁸¹, potente precursor endógeno de la L-arginina⁸², la cual incrementa la biodisponibilidad de ON. En las células endoteliales, el ON es sintetizado de la L-arginina por la ONSe, generando ON y L-citrulina⁸¹. En humanos sanos, las concentraciones de L-citrulina sérica varían entre 20 y 60 $\mu\text{mol/L}$, con una media de 40 $\mu\text{mol/L}$ ⁸³. Los niveles circulantes de L-citrulina son dependientes de la función del ciclo proximal de la urea en el intestino⁸⁴, los enterocitos toman la L-citrulina ingerida oralmente y la transportan efectivamente a través de tracto gastrointestinal⁸¹, pasando secundariamente por el hígado⁸⁴. Aproximadamente el 83% de la citrulina circulante es tomada por los riñones, donde es convertida a arginina por la arginosucinato sintetasa y la arginosucinato liasa en las células de los túbulos proximales⁸⁵. Por otro lado, el ON puede regular procesos importantes como el tono vascular, agregación plaquetaria, adhesión de leucocitos, y se ha observado que los niveles circulantes de L-citrulina podrían ser más predictivos de la función de las (óxido nítrico sintetasa) ONS⁸⁴.

Con respecto a la suplementación oral se ha observado que los niveles en plasma aumentaron 5 veces, y menos del 1%, de la L-citrulina fue excretada por orina, implicando que la ruta oral tiene una buena absorción⁸⁵. Además, se ha descrito una buena tolerancia a la L-citrulina, sin embargo altas dosis (15 g) han tenido una fracción menor de absorción y retención en plasma, probablemente debido a la saturación de sus transportadores, o reducida conversión renal de L-

citrulina a L-arginina, por lo que para incrementar las concentraciones circulantes de L-arginina, se han sugerido dosis que han demostrado ser efectivas desde 3 g hasta 10 g/día⁸¹. La L-citrulina ha demostrado tener potenciales capacidades anti-hipertensivas y cardiovasculares, debido a sus efectos vasodilatadores en el endotelio, al aumentar la biosíntesis de ON⁸¹, éste induce relajación vascular del músculo liso a través de la ON guanosin ciclasa, y desempeña un papel importante en la regulación de la presión arterial⁸⁶. Así mismo se han descrito sus efectos en la reducción del estrés oxidativo que son parte importante en la progresión de desórdenes vasculares⁸². La L-citrulina es capaz de incrementar la ONSe en las células endoteliales, la cual reduce la formación de ERO. El mecanismo de la L-citrulina para mejorar la función endotelial, en condiciones como aterosclerosis, es probablemente mediado por la reducción de la formación de radicales de hidroxilo⁸⁷. También, la suplementación con L-citrulina provee efectos benéficos en la salud vascular modulando la inflamación crónica de bajo grado, reduciendo las concentraciones de citoquinas inflamatorias como IL-6, TNF- α y PCR⁸⁸, mientras que induce reducciones selectivas de citoquinas proinflamatorias, preserva citoquinas anti-inflamatorias (IL-10) y la producción de ON⁸⁹, Asimismo, se han descrito efectos benéficos de la suplementación con L-citrulina a corto plazo sobre la reducción de la rigidez arterial⁹⁰.

Por otro lado, en sujetos con COVID-19 de moderado a severo, se han descrito bajas concentraciones de L-citrulina en plasma, probablemente debido a las alteraciones gastrointestinales que sufren los sujetos infectados, así como permeabilidad y mala absorción por los enterocitos, las bajas concentraciones de L-

citrulina se correlacionaron con la inflamación sistémica, marcadores clínicos de severidad como superficie pulmonar afectada, ingreso a unidad de cuidados intensivos e intubación orotraqueal⁹¹.

En un ensayo clínico, Masahiko Morita y Cols⁸²., evaluaron los efectos de la suplementación con L-citrulina sobre la función endotelial y la oxidación de lípidos en sangre en 22 pacientes de 41 a 64 años, con diagnóstico de agina vasoespástica. Evaluaron la función endotelial a través de la dilatación mediada por flujo (FMD) con un punto de corte <5.5% como predictor de riesgo cardiovascular. Su intervención fue de 800 mg/día de L-citrulina vía oral durante 8 semanas. Observaron un aumento en las concentraciones de L-arginina (49.1 ± 2.6 a 56.3 ± 3.7 , $p < 0.05$), y de la FMD (3.2 a 4.1 %, $p < 0.05$), así como una disminución en la relación arginina/dimetilarginina asimétrica (ADMA) (0.45 a 0.37 $\mu\text{mol/l}$, $p < 0.01$) y en el c-LDL oxidado (128.2 ± 9.0 a 113.7 ± 7.6 U/l, $p < 0.05$), sugiriendo que ésta suplementación mejora la función del endotelio, probablemente debido al aumento de las concentraciones de L-arginina y la proporción arginina/ADMA asociadas con reacciones dependientes del ON, así como reducción del estrés oxidativo.

De igual forma, en un ensayo clínico aleatorizado por, Bahereh Barkhidarian y Cols⁸⁸., evaluaron el efecto de la suplementación con arginina y citrulina sobre factores de inflamación. Se aleatorizaron a 102 pacientes de 5 unidades de cuidado intensivo en tres grupos: suplementación con L-arginina (10 g/día), L-citrulina (10 g/día) y grupo control. Todos los grupos recibieron además una fórmula enteral con 42.8% de hidratos de carbono, 16.6% de proteína, y 34.2% de lípidos durante 10 días de tratamiento. Evaluaron como marcadores de inflamación IL-6 y PCR.

Después de la intervención, observaron reducción de las concentraciones de IL-6 (22.83 ± 16.30 a 11.96 ± 12.52 , $p= 0.009$), y PCR (39.13 ± 24.86 a 27.97 ± 30.51 , $p= 0.025$) sólo en el grupo con suplementación con L-citrulina, sugiriendo que ésta podría tener efectos benéficos sobre la respuesta inflamatoria.

Además, en un ensayo clínico aleatorizado, Masayuki Ochiai y Cols⁹⁰., evaluaron los efectos a corto plazo de la suplementación con L-citrulina sobre la rigidez arterial. Un total de 15 sujetos sanos con un índice de rigidez arterial >1400 cm/min fueron aleatorizados en dos grupos: L-citrulina (5.6 g/día, $n=8$) o placebo ($n=7$) durante 7 días. Evaluaron la rigidez arterial mediante la velocidad de onda de pulso braquial-tobillo (baPWV). Después de los 7 días de intervención encontraron una disminución de baPWV ($1.577.8 \pm 27.5$ a $1.442.0 \pm 31.7$ cm/min, $p <0.01$), un aumento en las concentraciones de L-arginina (119.3 ± 26.8 a 162.6 ± 28.1 , μM $p<0.01$), L-citrulina (33.4 ± 3.9 a 56.9 ± 22.8 μM , $p<0.05$) y arginina/ADMA (324 ± 43.4 a 393.7 ± 66.9 , $p<0.05$), concluyeron que, a corto plazo, la suplementación con L-citrulina podría mejorar funcionalmente la rigidez arterial.

Así mismo, en un ensayo clínico aleatorizado Orea-Tejeda y Cols⁹²., evaluaron el efecto de la suplementación con L-arginina y L-citrulina sobre la función endotelial en pacientes estables con insuficiencia cardiaca (IC) con fracción de expulsión reducida e IC derecha a través de la fotopletismografía (índice MAT/TT <30 = normal). Su intervención consistió en un grupo suplementado con 8 g/día de L-arginina en 2 dosis ($n=15$), y otro con L-citrulina (3 g/día) una dosis ($n=15$), ambos grupos recibieron el tratamiento farmacológico convencional además de la suplementación, durante 60 días. Observaron una disminución el índice MAT/TT en

el grupo de L-arginina (basal: 38.75 ± 11.52 , final 23.32 ± 6.08 , $p=0.007$, post-isquemia: 36.60 ± 11.51 , final 18.81 ± 15.13 , $p=0.004$) y en el grupo con L-citrulina (basal: 41.4 ± 13.47 , final 23.65 ± 6.74 , $p=0.007$, post-isquemia: 49.51 ± 15.17 , final 27.13 ± 7.87 , $p=0.003$), sugiriendo que la administración de la arginina y citrulina tiene efectos benéficos sobre la función endotelial mostrado por la normalización del índice MAT/TT.

Por otra parte, Balderas Muñoz y Cols⁹³., evaluaron el efecto de la suplementación con L-citrulina sobre la clase funcional de la IC, fracción de expulsión ventricular izquierdo (FEVI) y flujo sanguíneo periférico en pacientes con IC sistólica. 35 pacientes fueron aleatorizados en dos grupos: L-citrulina (3g/día) más tratamiento convencional y control, durante 4 meses. Mostrando en el grupo de suplementación con L-citrulina con un aumento en la FEVI en reposo (20.30%, $p=0.03$) y en esfuerzo (12.71% ($p=0.04$), así como una disminución en el índice MAT/TT -23.13% ($p<0.001$), mejorando con esta suplementación la clase funcional de la IC, y mostrando cambios en la vasodilatación independiente de la función endotelial.

En una revisión sistemática y meta-análisis de ensayos clínicos aleatorizados Mahboobi S. y Cols⁸⁶., evaluaron la eficacia de la L-citrulina sobre la presión arterial sistólica y diastólica, incluyeron 15 ensayos clínicos aleatorizados con un total de 424 participantes, el rango de dosis de L-citrulina de 2.7 a 8.4 g/día y periodo de intervención desde 1 hasta 16 semanas. Observaron una disminución en general de la presión arterial sistólica (PAS) de -7.54 mmHg (IC 95%, -9.44 a -5.63, $p=0.0001$) y diastólica (PAD) de -3.77 mmHg (IC 95%, -5.67 a -1.86, $p=0.0001$),

sugiriendo que la suplementación con L-citrulina podría reducir la presión arterial sistólica.

En otro ensayo clínico cruzado, Morteza Safi y Cols⁹⁴., evaluaron la eficacia del consumo oral de L-citrulina sobre la función y vasodilatación endotelial. En 30 pacientes con diagnóstico de enfermedad coronaria, midieron la FMD y la vasodilatación dependiente de nitroglicerina (NMD), así como la proporción FMD/NMD (<1). La intervención fue L-citrulina vs placebo durante 15 días. Observaron diferencias en la medición basal vs. después de la suplementación con L-citrulina con un aumento en la FMD (0.92 ± 0.16 mm, $p < 0.001$) y aumento de la proporción FMD/NMD (0.12 ± 0.02 , $p < 0.001$) así como diferencias en FMD y FMD/NMD en L-citrulina vs. placebo ($p < 0.001$), concluyendo que la L-citrulina mejora la función endotelial en pacientes con enfermedad coronaria. Sin embargo, una de las grandes limitaciones de este estudio es que no reportan la dosis de L-citrulina que administraron.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La actual pandemia por la enfermedad COVID-19, se ha extendido hasta más de 600 millones de casos y más de 6 millones de muertes a nivel mundial. La situación a nivel nacional se centra en más de 7 millones de casos acumulados y más 300 mil muertes. Los sujetos que se han recuperado son más de 3 millones a nivel nacional, mientras que en el INER se tienen aproximadamente más de 2000 sujetos recuperados. Por otro lado, las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en el mundo, representan el 16% de todas las muertes por enfermedades crónicas a nivel mundial. En México, de acuerdo a datos del INEGI 2021, la principal causa de muerte es COVID-19, segunda enfermedad cardiovascular, seguido de diabetes mellitus las cuales están relacionadas a causas metabólicas. Aunado a esto, el 76% de mujeres y el 72.1% de hombres adultos mexicanos tienen sobrepeso u obesidad y el 30.2% hipertensión. Se sabe que los casos graves de COVID-19 están asociados con la presencia de comorbilidades como hipertensión arterial, diabetes sobrepeso u obesidad y enfermedades cardiovasculares, y éstas condiciones a su vez, asociadas con disfunción endotelial crónica, lo cual hace especialmente susceptible a nuestra población con altas tasas de letalidad. Por otro lado, en pacientes post-COVID-19 se han observado secuelas agudas y crónicas a nivel cardiovascular, musculoesquelético, neurológico, gastrointestinal, entre otros sistemas del organismo. Principalmente la DE se ha caracterizado en estos pacientes por promover un estado procoagulante y estas alteraciones persisten como secuela de la enfermedad. Al ser la DE un potente factor de riesgo cardiovascular, es importante mejorar esta condición, por lo que la

importancia de adquirir tratamientos no farmacológicos es fundamental. Diversos estudios han demostrado que la suplementación con L-citrulina puede tener efectos benéficos sobre la función del endotelio, de inflamación y la rigidez arterial, en pacientes con condiciones de edad avanzada y presencia de enfermedades coronarias. También, es importante mencionar, que el efecto de la suplementación con L-citrulina en pacientes recuperados de COVID-19 aún no se ha descrito en la literatura.

4. JUSTIFICACIÓN

Se sabe que existe una estrecha relación entre la COVID-19 y la DE en los pacientes recuperados de la enfermedad. Si bien, el tratamiento farmacológico y no farmacológico durante el proceso de la enfermedad se ha asociado con la mejoría de los pacientes en situación crítica favoreciendo su recuperación. Por otro lado, el SARS-CoV-2 ha demostrado tener un efecto metabólico por la alta secreción de moléculas inflamatorias y daño endotelial. Mientras que estas alteraciones en distintos sistemas del organismo persisten en sujetos recuperados de COVID-19, la importancia de proponer tratamientos que permitan reducir el daño a la función endotelial es determinante. Por lo tanto, es primordial conocer el comportamiento de nuevas estrategias no farmacológicas como la suplementación con L-citrulina, la cual ha demostrado tener efectos benéficos en la función endotelial y la inflamación sistémica, para atenuar las afectaciones cardiovasculares provocadas por la COVID-19 coadyuvar en el tratamiento, reducir su riesgo cardiovascular y mejorar la calidad de vida de estos sujetos.

5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el efecto de la suplementación con 4 gramos de L-citrulina vía oral durante 3 meses sobre la DE en pacientes de 20 - 80 años recuperados de COVID-19 confirmado mediante prueba de PCR negativa en comparación con el grupo control del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas”?

6. HIPÓTESIS

Los pacientes de 20 - 80 años recuperados de COVID-19 confirmado mediante prueba de PCR negativa que sean suplementados con 4 gramos de L-citrulina durante 3 meses mejorarán la DE comparado con los sujetos del grupo control.

7. OBJETIVOS

7.1 General:

Evaluar el efecto de la suplementación con 4 gramos de L-citrulina sobre la DE en pacientes de 20 - 80 años recuperados de COVID-19 confirmado mediante prueba de PCR negativa comparado con el grupo control del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas”.

} Evaluar el efecto de la suplementación con L-citrulina sobre la funcionalidad física a través de la caminata de 6 minutos comparado con el grupo control en pacientes recuperados de COVID-19 del INER.

8. METODOLOGÍA

Tipo de estudio: Ensayo clínico aleatorizado, abierto.

Lugar: Servicio de Cardiología del INER.

Criterios de selección:

Criterios de inclusión:

- ⌋ Pacientes recuperados de COVID-19, confirmado mediante prueba de PCR negativa, que acuden al INER después el alta hospitalaria.
- ⌋ Sujetos que acepten participar en el protocolo y firmen consentimiento informado.

Criterios de exclusión:

- ⌋ Pacientes con diagnóstico de VIH
- ⌋ Pacientes con una tasa de filtración glomerular $<30 \text{ mL/min/1.73m}^2$
- ⌋ Personas que participen en otro protocolo de intervención.

Tiempo de seguimiento:

- ⌋ 90 días, cada 45 días una evaluación.

Suplemento:

- ⌋ Dosis: 4 g/día de L-citrulina, durante 90 días

8.1 Procedimiento:

Los sujetos que fueron hospitalizados en el INER se citaron aproximadamente 2 a 3 meses después de su egreso hospitalario para una valoración integral en el servicio de consulta externa para pacientes post-COVID-19. El servicio de Cardiología del Instituto, cuenta con una consulta nutricional en la cual se abordaron a los sujetos para invitarlos a participar en el protocolo.

Cuando el sujeto, al ser valorado por primera vez, cumplió con los criterios de inclusión y aceptó participar en el protocolo:

- 1) Se le pidió firmar un consentimiento informado.
- 2) Se aleatorizaron en grupo intervención y grupo control.
- 3) Se le realizó la medición basal la cual comprende: historia clínica (antecedentes patológicos heredofamiliares, antecedentes no patológicos, estilo de vida, recordatorio de 24 horas); valoración de la composición corporal del sujeto (bioimpedancia eléctrica); pruebas de funcionalidad (fuerza de mano y caminata de 6 minutos la cual fue realizada por una fisioterapeuta de acuerdo a las guías de la ATS, se recolectaron laboratorios bioquímicos (química sanguínea, perfil de lípidos, pruebas de funcionamiento hepático); y consulta nutricional (plan de alimentación adecuado a las necesidades energéticas y nutrimentales de cada paciente).
- 4) Se realizó la primera toma de muestra de sangre para evaluar función endotelial.
- 5) De acuerdo al grupo de tratamiento al que el sujeto fue aleatorizado se realizó lo siguiente:

- a. Grupo Intervención. Se suplementó al paciente con un sobre de 4 g de L-citrulina por un periodo de 45 días. Se le pidió que la primera dosis se tomara en ese momento con la finalidad de explicarle la forma en que debe tomar la L-citrulina. El contenido del sobre con 4 g de L-citrulina se disolvieron en una botella pequeña de agua purificada (aproximadamente 200 ml), posteriormente se le pidió al paciente que lo bebiera. Se otorgó al paciente el resto de los sobres con el suplemento (44 sobres). Para lograr un mejor apego al suplemento se le entregó al paciente un calendario de adherencia en donde se le explicó que cada día que tomara el suplemento marcara el número del suplemento y escribiera fecha y hora (Anexo 1). Además, se brindó tratamiento nutricional acorde a sus requerimientos energéticos, en el cual se entregó el plan de alimentación y material de recomendaciones (Anexo 1).
 - b. Grupo Control: se brindó tratamiento nutricional de acuerdo al requerimiento energético. Se entregó el plan de alimentación, y material de recomendaciones.
- 6) En ambos grupos: se brindó un seguimiento entre consultas a través de llamadas y/o mensajes de WhatsApp.
 - 7) En ambos grupos: se citó al sujeto a los 45 días después de su primera consulta.

En la consulta de seguimiento (segunda medición) a los 45 días:

- 1) Grupo intervención: Se le pidió que entregara el registro de sus primeras 45 tomas del suplemento L-citrulina, y se le otorgaron las siguientes 45 dosis del suplemento y una hoja nueva de registro. Además, se ajustó el plan de alimentación y se le brindó retroalimentación nutricional.
- 2) Grupo control: se ajustó el plan de alimentación y se brindó retroalimentación nutricional.
- 3) En ambos grupos: se valoró nuevamente en el sujeto la composición corporal (bioimpedancia eléctrica), pruebas de funcionalidad (fuerza de mano) y recordatorio de 24 horas y se citó a los 45 días para su valoración final.
- 4) En ambos grupos: se brindó un seguimiento entre consultas a través de llamadas y/o mensajes de WhatsApp.

En la consulta final a los 45 días posterior a la segunda medición (día 90):

- 1) Grupo intervención: Se le pidió que entregara el registro de sus 45 tomas del suplemento L-citrulina. Además, se ajustó el plan de alimentación y se le brindó retroalimentación nutricional.
- 2) Grupo control: se ajustó el plan de alimentación y se brindó retroalimentación nutricional.

En ambos grupos: se valoró nuevamente en el sujeto la composición corporal (bioimpedancia eléctrica), pruebas de funcionalidad (fuerza de mano y caminata de 6 minutos), recordatorio de 24 horas, se recolectaron laboratorios bioquímicos (química sanguínea, perfil de lípidos, pruebas de funcionamiento hepático).

Se le realizó la toma de muestra de sangre final para evaluar la disfunción endotelial.

8.2 CUADRO DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Unidad de Medición	Escala de Medición
<i>Variables Antecedentes</i>				
Edad	Tiempo que ha vivido una persona contando desde su nacimiento ⁹⁵ .	Interrogatorio de años cumplidos.	Años.	Cuantitativa continua.
Sexo	Condición orgánica, masculina o femenina ⁹⁶ .	Apariencia física.	Hombre. Mujer.	Nominal dicotómica.
Obesidad	Exceso de acumulación de grasa en el cuerpo [Término MeSH].	Determinado mediante bioimpedancia eléctrica. Porcentaje de grasa >32% en mujeres y >25% en hombres. ⁹⁷	Presencia / ausencia	Nominal dicotómica.
Diabetes Mellitus tipo 2	Trastorno caracterizado por hiperglucemia e intolerancia a la glucosa [Término MeSH].	Determinado mediante expediente clínico.	Presencia / ausencia	Nominal dicotómica.
Hipertensión arterial	Presión arterial sistémica persistentemente alta [Término MeSH].	Determinado mediante expediente clínico.	Presencia / ausencia	Nominal dicotómica.
Dislipidemia	Anormalidades en niveles séricos de lípidos, tanto aumento como disminución [Término MeSH].	Determinado mediante laboratorios bioquímicos en expediente.	Presencia / ausencia	Nominal dicotómica.
Peso	Masa o cantidad de pesadez de un individuo [Término MeSH].	Determinado mediante báscula SECA (mod. 700)	Kilogramos.	Cuantitativa continua de razón.
Talla	Estatura o altura de la persona ⁹⁸ .	Determinado mediante estadímetro	Centímetros.	Cuantitativa continua de razón.

		SECA (mod. 700)		
Índice de masa muscular esquelética	Fibras musculares y tejido conectivo. Se refiere sólo a masa muscular esquelética, comprende aproximadamente el 40% del cuerpo y está asociado con un deterioro en presencia de sarcopenia ^{99,100} .	Determinado mediante bioimpedancia eléctrica. División de la masa muscular esquelética en kg entre estatura. MME (kg) = $[Ht^2/R \times 0.401] + (\text{sexo} \times 3.825) + (\text{edad} \times -0.071)] + 5.102$. ¹⁰¹	Kilogramos/metros	Cuantitativa continua de razón.
Índice de masa muscular apendicular	Es la porción apendicular de la masa muscular esquelética, representa 73 al 75% de la masa muscular esquelética total ¹⁰⁰ .	Determinado mediante bioimpedancia eléctrica, y fórmula: $asmm = (-3.964 + (\text{talla}^2)/R) + (0.095 \times \text{peso}) + (1.384 \times \text{sexo}) + (0.064 \times Xc)$ ¹⁰⁰ .	asmm/(talla/100 ²)	Cuantitativa continua de razón.
Ángulo de fase	Arco tangente = $(Xc/R) \times 180^\circ/\pi$. Asociado con la celularidad, tamaño de la célula e integridad de la membrana celular, del comportamiento de la resistencia que depende de la hidratación así como del estado nutricional, y de pronóstico ¹⁰² .	Determinado mediante bioimpedancia eléctrica.	Grados sexagesimales.	Cuantitativa continua de razón.
Fuerza de mano	Fuerza ejercida al agarrar o apretar [Término MeSH].	Determinado mediante dinamometría.	Kilogramos.	Cuantitativa continua de razón.
Tejido adiposo	Tejido conectivo compuesto por células grasas [Término MeSH].	Determinado mediante bioimpedancia eléctrica.	Porcentaje y kilogramos.	Cuantitativa continua de razón.

Dinapenia	Pérdida de fuerza muscular asociada a la edad que no es causada por daño muscular o neurológico ¹⁰³ .	Dinamometría: <16 kg mujeres < 27 kg hombres	Presencia / ausencia	Nominal dicotómica.
Depleción muscular	Baja cantidad de masa muscular ¹⁰⁴ .	Masa apendicular musculoesquelética (kg)/ talla ² : <5.5 kg/m ² en mujeres <7 kg/m ² en hombres.	Presencia / ausencia	Nominal dicotómica.
Variable independiente				
L-citrulina	Aminoácido no proteico, no esencial, neutral ⁸¹ .	Suplemento en polvo, dosis: 4 g.	Sí / no	Nominal dicotómica.
Variable dependiente				
Endotelina-1	Péptido vasoconstrictor, sintetizado en células vasculares endoteliales, participa en la regulación de la presión arterial y función vascular ⁵⁵ .	Valores indicados por laboratorio.	Nanogramos	Cuantitativa continua de razón.
E-selectina	Molécula de adhesión, regula la unión de leucocitos al endotelio, marcador de lesión y/o activación del endotelio ⁶⁰ .	Valores indicados por laboratorio.	Picogramos	Cuantitativa continua de razón.
ICAM-1	Molécula implicada en la adhesión de leucocitos e inflamación, necesaria para la migración de neutrófilos a	Valores indicados por laboratorio.	Nanogramos	Cuantitativa continua de razón.

	tejido inflamado [Término MeSH]			
VCAM-1	Molécula de adhesión inducida por citoquinas presente en células endoteliales activadas, participa en el reclutamiento de leucocitos a sitios de inflamación [Término MeSH].	Valores indicados por laboratorio.	Nanogramos	Cuantitativa continua de razón.

8.3 Cálculo del tamaño de la muestra:

Se calculó el tamaño de muestra para dos medias independientes a partir de la siguiente fórmula:

$$n = \frac{2\sigma^2[Z_{\alpha/2} + Z_{\beta}]^2}{\Delta^2}$$

Donde:

$$\Delta = 2.2$$

$$\sigma = 2.5$$

95% de confianza (1.96)

80% de poder (0.842)

$$n = \frac{2(2.5)^2[1.96 + 0.842]^2}{(2.2)^2} = 20.2$$

Considerando el 20% de pérdidas: 20 + 20%= 24 sujetos por grupo.

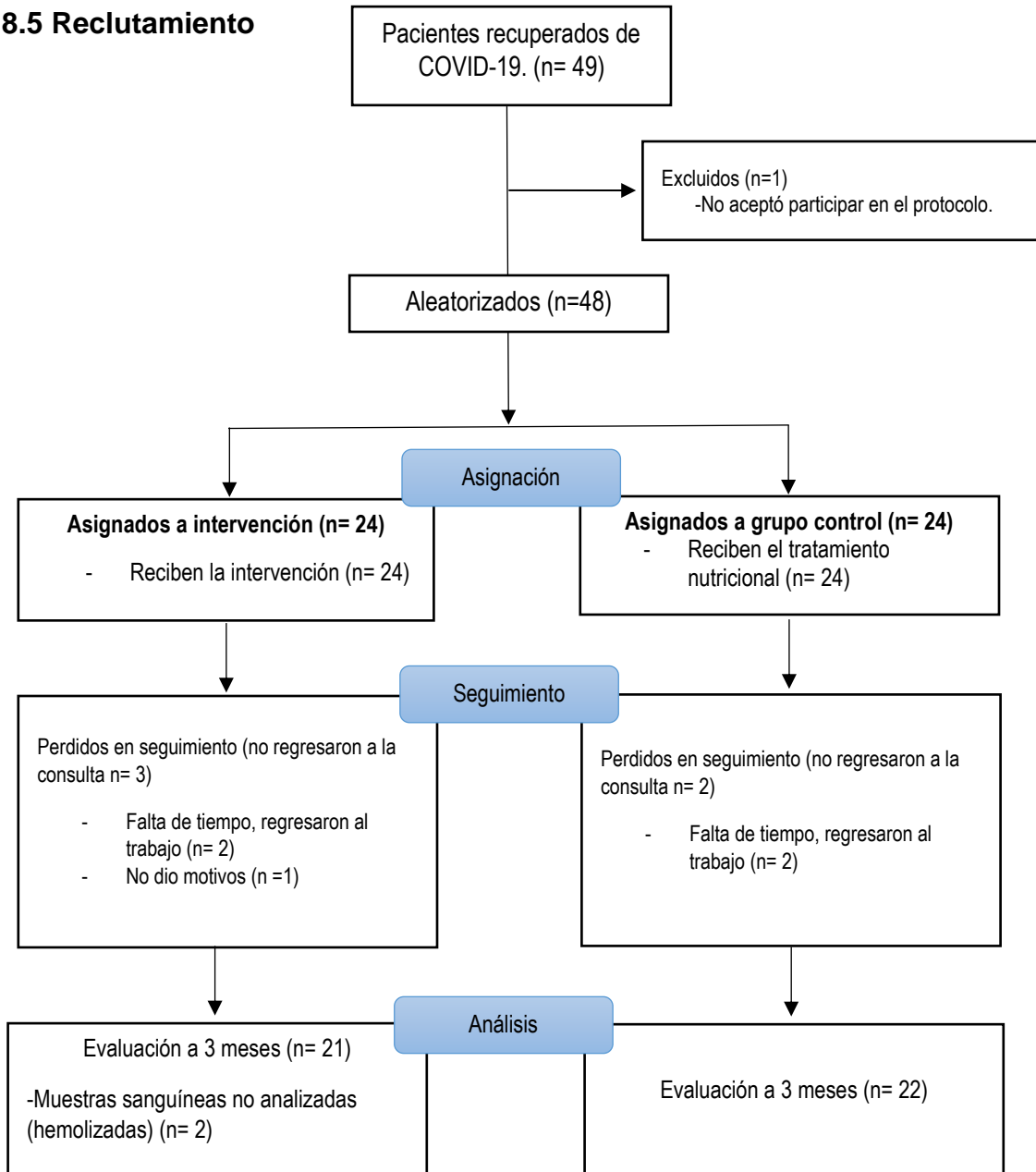
Se utilizó un artículo de intervención en donde se evaluó el efecto de la dieta mediterránea suplementada con aceite de oliva o nueces vs dieta baja en grasa

sobre biomarcadores de inflamación¹⁰⁵. El biomarcador que se utilizó para realizar el tamaño de muestra fue E-selectina.

8.4 Modelo conceptual

Antecedente	Independiente	Intermedias	Dependiente
Edad			
Sexo			
Comorbilidades			
Obesidad			
Diabetes Mellitus tipo 2			Disfunción endotelial:
Hipertensión arterial	Suplementación con L-citrulina	Apego al plan de alimentación	E-Selectina
Dislipidemia		Apego al consumo del suplemento	Endotelina-1
Composición corporal			ICAM-1
Fuerza de mano			VCAM-1
Metros recorridos (C6M)			

8.5 Reclutamiento



9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó en el programa STATA versión 15.1.

Los datos se presentaron de la siguiente manera: para variables categóricas en frecuencia y porcentaje; variables continuas con distribución normal en media y desviación estándar, mientras que los datos de las variables continuas con distribución no normal se reportaron en mediana y percentiles (25,75).

Con la finalidad de comparar los grupos de estudio, para las variables categóricas se utilizó la prueba de X^2 o prueba exacta de Fisher. Para las variables continuas que tuvieran una distribución normal se realizó una prueba T-Student, si se distribuyó no normal se utilizó la prueba U de Mann-Whitney.

Posteriormente, para determinar si los sujetos del estudio tuvieron diferencias a lo largo del estudio se realizó un modelo de efectos fijos. Se realizó el análisis por intención a tratar (ITT) y por protocolo (PP).

Se consideró estadísticamente significativo una $p < 0.05$.

10.RESULTADOS

Descripción de las características de la población de estudio.

En la tabla 1 se muestran las características de los sujetos recuperados de COVID-19 que participaron en el estudio. El 54.2% son hombres, la edad promedio fue de 53.12 ± 13.5 años. El 56.3% tuvo obesidad diagnosticada por IMC, mientras que, al diagnosticar por porcentaje de grasa corporal, se elevó a 81.3%, 36.2% presentó hipertensión arterial y 31.3% diabetes mellitus tipo 2. La presión arterial sistólica promedio fue de 111.9 ± 13.24 mmHg y diastólica de 68.8 ± 10.1 mmHg. La saturación de oxígeno se encontró en 94.4 ± 2.6 % para nuestra población en estudio. Respecto a las variables de composición corporal, el peso promedio fue de 86.2 ± 18.5 kg, la fuerza de mano derecha fue 24.5 ± 9.4 kg y de mano izquierda 19 (16, 30.5) kg, el ángulo de fase fue de 6.36 ± 0.87 °, el porcentaje de grasa corporal promedio fue de 33.49 % y el índice de masa apendicular músculo esquelética fue de 7.02 ± 1.12 kg/m². Se encontró que el 23% de la población tuvo depleción muscular y el 35.42% dinapenia.

Al realizar la comparación de las características basales entre los grupos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la mayoría de las variables, sin embargo, los sujetos del grupo control tuvieron mayores niveles de triglicéridos (237.1 ± 80.8 vs 140.7 ± 45.4 mg/dL, $p=0003$), comparado con el grupo intervención.

Así mismo, en la tabla 2 se muestran los indicadores clínicos de severidad de los pacientes del estudio. El 66.67 % de la población en estudio requirió

intubación y el 56.25% tuvo síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (SIRA) moderado al ingresar a hospitalización. Los pacientes del grupo control tuvieron más días de estancia hospitalaria (38 (11, 48) vs 17 (11.5, 24.5) $p= 0.025$), así como más días transcurridos desde su egreso de hospitalización a su ingreso al estudio (134 (90, 181) vs 87.5 (64, 123.5), $p= 0.032$) comparado con el grupo intervención. No se observaron diferencias en el resto de los indicadores de severidad entre los grupos de estudio.

Tabla 1. Características basales de la población en estudio.

	Total n= 48	Grupo intervención n= 24	Grupo control n= 24	<i>p</i> *
Hombres, n, (%)	26 (54.2)	15 (62.5)	11 (45.83)	0.247
Edad, años	53.12 (13.5)	54.9 (10.5)	51.3 (16)	0.354
Comorbilidades, n, (%)				
Obesidad, % grasa corporal	39 (81.3)	20 (83.3)	19 (79.2)	0.500
Obesidad, IMC	27 (56.3)	14 (58.3)	13 (54.2)	0.953
Hipertensión arterial	17 (36.2)	8 (34.8)	9 (37.5)	0.846
Diabetes mellitus	15 (31.3)	7 (29.2)	8 (33.3)	0.755
Dislipidemia	10 (20.8)	3 (12.5)	7 (29.2)	0.286
Sarcopenia	2 (4.3)	0	2 (8.3)	0.489
Indicadores clínicos				
Presión arterial sistólica, mmHg	111.9 (13.2)	114.8 (13)	109.7 (13.3)	0.256
Presión arterial diastólica, mmHg	68.8 (10.1)	71.3 (10.8)	66.9 (9.3)	0.201
Frecuencia cardíaca, latidos/min	76.9 (10.6)	77.7 (9.9)	76.3 (11.3)	0.701
Frecuencia respiratoria, r/min	18.8 (4.2)	18.6 (3.6)	18.9 (4.7)	0.788
Saturación de oxígeno, %	94.4 (2.6)	95.1 (2.5)	93.9 (2.6)	0.200
Composición corporal				
Peso, (kg)	86.2 (18.5)	88.7 (18.9)	83.7 (18)	0.353
Talla, (cm)	164.3 (9.7)	165.4 (9.2)	163.2 (10.3)	0.436
IMC, kg/m ²	31.9 (5.9)	32.4 (6.6)	31.3 (5.3)	0.518
Fuerza de mano derecha, (kg)	24.5 (9.4)	25.3 (8.9)	23.6 (10)	0.529
Fuerza de mano izquierda, (kg)	19 (16, 30.5)	19 (16.5, 31)	19 (13.5, 27)	0.725
Ángulo de fase, (°)	6.4 (0.9)	6.3 (0.7)	6.4 (1)	0.585
Grasa corporal, (%)	33.5 (9.9)	32.7 (8.8)	34.3 (11)	0.592
Grasa corporal, (kg)	25.6 (11.2)	25.5 (11.6)	25.7 (11.1)	0.967

Masa libre de grasa, (kg)	60.4 (13.7)	63.2 (13.8)	57.6 (13.3)	0.164
ACT, (%)	42.6 (8.9)	44.5 (9)	40.7 (8.5)	0.145
Tejido blando magro, (%)	53.2 (12.1)	55.4 (12.1)	50.9 (11.9)	0.213
FFMI, kg/m ²	22.1 (3.1)	22.9 (3.7)	21.3 (3.1)	0.114
Masa muscular esquelética, kg	28.9 (8.8)	29.9 (7.9)	27.8 (9.7)	0.391
IASMM, kg/m ²	7 (1.1)	7.2 (1.1)	6.8 (1.2)	0.253
Alteraciones en composición corporal				
Depleción muscular, n (%)	11 (22.9)	5 (20.8)	6 (25)	1
Dinapenia, n (%)	17 (35.4)	8 (33.3)	9 (37.5)	1
Bioquímicos				
Glucosa, mg/dL	95 (86, 107)	98 (91, 125)	93.5 (81.5, 99.5)	0.111
HbA1c, %	6 (1.42)	5.7 (1.3)	6.4 (1.5)	0.151
Colesterol total, mg/dL	200.5 (48.5)	196.2 (42.6)	205.3 (13.8)	0.593
C-HDL, mg/dL	43.5 (6.6)	44.4 (6.4)	42.6 (6.8)	0.452
C-LDL, mg/dL	128.2 (43.8)	130.4 (41.4)	125.7 (47.8)	0.762
Triglicéridos, mg/dL	186 (80.1)	140.7 (45.4)	237.1 (80.8)	0.0001
Proteínas totales, mg/dL	7.1 (0.5)	7 (0.4)	7.2 (0.5)	0.196
Creatinina, mg/dL	0.83 (0.69, 0.99)	0.89 (0.62, 1.01)	0.82 (0.73, 0.93)	0.918
BUN, mg/dL	13 (11, 18)	12 (11, 17)	13 (11, 20)	0.287
Urea, mg/dL	28 (24, 39)	26 (24, 36)	28 (24, 43)	0.287
TFG, mL/min/1.73m ²	94.8 (24.7)	95.5 (5.4)	94 (23.1)	0.839
Biomarcadores de función endotelial				
E-Selectina, ng/ml	77.8 (13.7)	72.3 (13)	82.5 (12.7)	0.015
Endotelina-1, pg/ml	1.1 (0.92, 1.6)	1.2 (0.93, 1.9)	1.07 (0.89, 1.4)	0.346
ICAM-1, ng/mg de prot	2.4 (1.8, 2.8)	2.6 (2, 3.5)	2.2 (1.7, 2.7)	0.239
VCAM-1, ng/mg de prot	11 (7.7, 14.5)	12.5 (7.7, 16.3)	9.2 (7.6, 11.6)	0.200
Consumo de nutrimentos				
Energía, kcal	1435 (1091, 1903)	1474 (1070, 1956)	1346 (1112, 1815)	0.457
Proteína, %	19.5 (15.8, 23.2)	19.7 (16.5, 22.8)	18.5 (13.3, 24.5)	0.724
Hidratos de carbono, %	48.9 (11.8)	48.7 (12.7)	49.1 (11.1)	0.923
Lípidos, %	32.4 (11.7)	32.9 (11.7)	31.8 (12.02)	0.779
Grasa saturada, %	11.1 (4.9)	11.6 (5.3)	10.5 (4.5)	0.473
AGM, %	10.9 (4.7)	10.9 (4.8)	11 (4.8)	0.931
AGP, %	5.1 (3.3, 8.5)	4.7 (3.2, 7.8)	5.6 (3.8, 9.5)	0.246
Omega 3, mg	0.67 (0.41, 1.02)	0.71 (0.41, 0.99)	0.64 (0.4, 1.02)	0.86
Omega 6, mg	7.3 (3.9, 12.4)	6.8 (4, 10.6)	9 (3.9, 13.1)	0.48
Fibra, g	17.3 (13.4, 25)	16.7 (11.4, 25.1)	17.3 (15.7, 22.7)	0.641

Datos presentados en Media (DE) o Mdn (p25, p75).

* valor p, para variables categóricas chi-cuadrada o exacta de Fisher; para variables continuas t-student o U Mann-Whitney.

IMC: Índice de Masa Corporal, ACT: Agua Corporal Total, FFMI: Índice de Masa Libre de Grasa, IASMM: Índice de Masa Apendicular Musculo-esquelética, ICAM-1: Molécula de Adhesión Intercelular-1, VCAM-1: Molécula de Adhesión Vascular-1, HbA1c: hemoglobina glicosilada, BUN: nitrógeno ureico en sangre, TFG: tasa de filtración glomerular, AGM: ácidos grasos monoinsaturados, AGP: ácidos grasos poliinsaturados.

Tabla 2. Indicadores clínicos de severidad de la población de estudio.

	Total n= 48	Grupo intervención n= 24	Grupo control n= 24	p*
Características en hospitalización				
Días de estancia hospitalaria	20 (11, 41)	17 (11.5, 24.5)	38 (11, 48)	0.025
Intubación, n (%)	32 (66.67)	17 (70.83)	15 (62.50)	0.54
Días de intubación	10 (0, 15)	9 (0, 14)	11 (0, 25)	0.631
PaO ₂ /FiO ₂	144 (109, 181)	131 (105, 176)	161.5 (128.3, 201.1)	0.203
SIRA				0.450
Leve	7 (14.58)	4 (16.67)	3 (12.5)	
Moderado	27 (56.25)	15 (62.5)	12 (50)	
Grave	14 (29.17)	5 (20.83)	9 (37.5)	
Características Post-COVID-19				
FEV ₁ , L	2.49 (0.75)	2.48 (0.68)	2.50 (0.83)	0.932
FEV ₁ , %	85.32 (17.46)	85.14 (19.17)	85.52 (16.01)	0.948
FVC, L	3.07 (0.93)	3.06 (0.88)	3.09 (1.01)	0.922
FVC, %	80.03 (16.9)	79.43 (18.5)	80.67 (15.53)	0.828
FEV ₁ /FVC	81.76 (7.31)	81.59 (5.54)	81.95 (8.98)	0.883
Caminata 6 minutos, metros	431.97 (91.65)	423 (70.37)	439.52 (107.74)	0.602
Egreso-ingreso al estudio, días	111 (70.5, 163)	87.5 (64, 123.5)	134 (90, 181)	0.032

Datos presentados en Media (DE) o Mdn (p25, p75).

* valor p, para variables categóricas chi-cuadrada o exacta de Fisher; para variables continuas t-student o U Mann-Whitney.

PaO₂/FiO₂: presión arterial de oxígeno/ fracción inspirada de oxígeno, SIRA: síndrome de insuficiencia respiratoria aguda. FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo, FVC: capacidad vital forzada.

En la tabla 3 se muestran los resultados del efecto de la intervención con citrulina sobre variables de composición corporal, fuerza, variables bioquímicas y caminata de 6 minutos. Respecto a la composición corporal, el grupo que recibió L-citrulina tuvo un aumento en la fuerza de mano derecha (2.3 kg, IC 95% (0.46 a 4.13), p= 0.015) e izquierda (2.47 kg IC 95% (0.62 a 4.31), p= 0.01), y en tejido blando magro (4.31 %, IC 95% (1.9 a 6.71), p= 0.001). En valores de bioquímicos, se observó un aumento en urea (8.58 mg/dL, IC 95% (3.92 a 13.25), p= 0.001), y en nitrógeno ureico en sangre (BUN) (4 mg/dL, IC 95% (1.85 a 6.14), p= 0.001), estos valores bioquímicos fueron estadísticamente significativos entre los grupos

($p= 0.025$ y $p= 0.024$), respectivamente. Así mismo, se observó una disminución significativa en la presión arterial sistólica (-12.76 mmHg, IC 95% (-23.82 a -1.71), $p= 0.025$) y diastólica (-6.23 mmHg, IC 95% (-11.920 a -0.53), $p= 0.033$) y un aumento en los metros recorridos durante la caminata de 6 minutos (138.46 m, IC 95% 96.24 a 180.67, $p<0.001$), después de 3 meses de seguimiento. Con respecto al grupo control, se observó un aumento fuerza de mano derecha (2.65 kg, IC95% (0.81 a 4.48), $p= 0.006$) e izquierda (3.68 kg, IC95% (1.83 a 5.52), $p<0.001$), en tejido blando magro (4.3 % IC 95% (1.84 a 6.77), $p= 0.001$). En cuanto a la caminata de 6 minutos, se observó un incremento en la distancia recorrida (61 m, IC 95% (21.69 a 100.3), $p<0.004$), esta distancia recorrida se mostró significativa entre los grupos, siendo mayor en el grupo intervención ($p= 0.01$). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en el resto de las variables de composición corporal, ni en valores bioquímicos.

Tabla 3. Efecto de la suplementación con L-citrulina después de 3 meses de seguimiento sobre variables de composición corporal, bioquímicos y caminata de 6 minutos.

	Grupo Intervención (n= 21)			Grupo control (n= 22)			p**
	β	IC 95%	p*	β	IC 95%	p*	
Composición corporal							
Peso, kg	-0.94	(-3.25, 1.36)	0.415	1.62	(-0.63, 3.88)	0.155	0.117
IMC, kg/m ²	-0.34	(-1.33, 0.63)	0.481	0.93	(-0.07, 1.94)	0.067	0.073
Fuerza de mano derecha, kg	2.3	(0.46, 4.13)	0.015	2.65	(0.81, 4.48)	0.006	0.786
Fuerza de mano izquierda, kg	2.47	(0.62, 4.31)	0.01	3.68	(1.83, 5.52)	<0.001	0.345
Resistencia, Ohm	3.95	(-23.87, 31.78)	0.776	-7.22	(-35.05, 20.6)	0.603	0.569
Reactancia, Ohm	3.72	(-1.23, 8.67)	0.136	-0.4	(-5.47, 4.67)	0.874	0.247
Ángulo de fase, °	0.09	(-1.08, 1.26)	0.875	0.09	(-1.11, 1.29)	0.877	0.999
Grasa corporal, %	0.28	(-3.21, 3.77)	0.871	0.23	(-3.18, 3.64)	0.891	0.984
Grasa corporal, kg	-0.33	(-3.14, 2.47)	0.812	1.71	(-1.61, 4.59)	0.235	0.309
Masa libre de grasa, kg	-0.62	(-1.69, 0.44)	0.244	0.008	(-1.08, 1.1)	0.988	0.408
ACT, %	0.01	(-1.29, 1.32)	0.984	0.25	(-1.08, 1.6)	0.697	0.791

Tejido blando magro, %	4.31	(1.90, 6.71)	0.001	4.3	(1.84, 6.77)	0.001	1
FFMI, kg/m ²	-0.2	(-0.99, 0.58)	0.61	0.28	(-0.52, 1.09)	0.483	0.392
Masa muscular esquelética, kg	0.51	(-1.94, 2.98)	0.672	-0.23	(-2.75, 2.29)	0.854	0.669
IASMM, kg/m ²	0.19	(-0.05, 0.44)	0.127	0.1	(-0.14, 0.34)	0.404	0.602
Bioquímicos							
Glucosa, mg/dL	-2.94	(-19.11, 13.23)	0.714	-7.77	(-23.49, 7.94)	0.665	0.665
HbA1c, %	11.23	(-5.12, 27.58)	0.17	-0.12	(-16.47, 16.23)	0.988	0.322
Colesterol total, mg/dL	-31.39	(-66.2, 3.42)	0.075	-12.84	(-48.97, 23.28)	0.471	0.454
C-HDL, mg/dL	13.98	(-6.85, 34.82)	0.178	1.17	(-20.51, 22.86)	0.912	0.387
C-LDL, mg/dL	-22.4	(-47.1, 2.29)	0.073	-3.95	(-30.62, 22.72)	0.763	0.305
Triglicéridos, mg/dL	-13.37	(-41.36, 14.62)	0.335	-46.83	(-75.88, -17.79)	0.003	0.1
Urea, mg/dL	8.58	(3.92, 13.25)	0.001	1.09	(-3.44, 5.62)	0.627	0.025
BUN, mg/dL	4	(1.85, 6.14)	0.001	0.51	(-1.57, 2.6)	0.622	0.024
Proteínas totales, mg/dL	-0.22	(-0.45, 0.001)	0.051	-0.15	(-0.37, 0.06)	0.165	0.64
Creatinina, mg/dL	0.10	(0.05, 0.16)	<0.001	0.08	(0.03, 0.14)	0.002	0.575
TFG	-14.63	(-23.85, -5.41)	0.003	-10.73	(-19.69, -1.78)	0.020	0.541
Caminata 6 minutos							
Presión arterial sistólica, mmHg	-12.76	(-23.82, -1.71)	0.025	-9.68	(-19.65, 0.28)	0.056	0.674
Presión arterial diastólica, mmHg	-6.23	(-11.92, -0.53)	0.033	-2.93	(-8.07, 2.19)	0.251	0.386
Frecuencia cardiaca, latidos/min	-4.53	(-17.51, 8.43)	0.479	-1.43	(-13.13, 10.25)	0.803	0.718
Frecuencia respiratoria, r/min	-0.53	(-5.85, 4.77)	0.837	1.93	(-2.85, 6.72)	0.414	0.484
Saturación de oxígeno, %	-0.38	(-3.83, 3.06)	0.821	0.56	(-2.54, 3.67)	0.714	0.679
Distancia recorrida, metros	138.46	(96.24, 180.67)	<0.001	61	(21.69, 100.3)	0.004	0.01

Modelo de efectos fijos.

* valor de p para antes y después de la intervención.

**Valor de p para diferencia entre grupos.

ACT: agua corporal total, AEC: agua extracelular, AIC: agua intracelular, FFMI: índice de masa libre de grasa, IASMM: índice de masa apendicular musculoesquelética, HbA1c: hemoglobina glicosilada, BUN: nitrógeno ureico en sangre, TFG: tasa de filtración glomerular.

En la tabla 4 se muestran los resultados del efecto de la suplementación con L-citrulina sobre biomarcadores de función endotelial después de 3 meses de seguimiento, analizado por intención a tratar, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en las variables de endotelina-1, e-selectina, ICAM-1 y VCAM-1 a lo largo del seguimiento o entre grupos.

Tabla 4. Efecto de la suplementación con L-citrulina después de 3 meses de seguimiento sobre biomarcadores de función endotelial y estrés oxidativo (ITT)

	Grupo Intervención (n= 19)			Grupo control (n= 22)			
	β	IC 95%	p*	β	IC 95%	p*	p**
Endotelina-1, pg/ml	-0.08	(-0.38, 0.21)	0.566	0.06	(-0.21, 0.34)	0.654	0.469
Endotelina-1, pg/ml*	0.0003	(-0.003, 0.004)	0.884	0.0003	(-0.0003, 0.004)	0.851	0.983
E-Selectina, ng/ml	3.89	(-0.53, 8.32)	0.083	-0.08	(-4.2, 4.02)	0.967	0.191
E-Selectina, ng/ml*	0.08	(-0.06, 0.23)	0.241	0.009	(-0.12, 0.14)	0.888	0.442
ICAM-1, ng/mg*	0.02	(-0.61, 0.66)	0.935	-0.07	(-0.67, 0.51)	0.79	0.809
VCAM-1, ng/mg*	0.66	(-2.65, 3.98)	0.688	-0.46	(-3.5, 2.62)	0.762	0.618

Modelo de efectos fijos.

*ajustado por mg de proteína total.

† valor de p para antes y después de la intervención.

**valor de p para diferencia entre grupos.

ICAM-1: molécula de adhesión intercelular-1, VCAM-1: molécula de adhesión vascular-1.

En la tabla 5 se muestran los resultados del efecto de la suplementación con L-citrulina sobre biomarcadores de función endotelial en el análisis por protocolo. Se observó una disminución significativa de endotelina-1 en el grupo intervención (-0.23 pg/ml; IC 95% -0.45 a -0.003, p= 0.047) a través del seguimiento de los 3 meses, esta disminución se encontró con una tendencia estadística en el límite (p=0.055) al comparar entre grupos. Sin embargo, en el resto de los biomarcadores de función endotelial como E-selectina, ICAM-1 y VCAM-1 no se observó un cambio a lo largo del seguimiento y entre grupos.

Tabla 5. Efecto de la suplementación con L-citrulina después de 3 meses de seguimiento sobre biomarcadores de función endotelial y estrés oxidativo (PP).

	Grupo Intervención (n= 16)			Grupo control (n= 22)			p**
	β	IC 95%	p*	β	IC 95%	p*	
Endotelina-1, pg/ml	-0.23	(-0.45, -0.003)	0.047	0.06	(-0.13, 0.25)	0.518	0.055
Endotelina-1, pg/ml*	-0.001	(-0.004, 0.002)	0.496	0.0003	(-0.002, 0.003)	0.813	0.502
E-Selectina, ng/ml	2.66	(-2.02, 7.34)	0.257	-0.08	(-4.08, 3.91)	0.965	0.372
E-Selectina, ng/ml*	0.06	(-0.09, 0.23)	0.425	0.009	(-0.12, 0.14)	0.888	0.442
I-CAM, ng/mg*	0.004	(-0.71, 0.72)	0.991	-0.07	(-0.69, 0.53)	0.796	0.86
V-CAM, ng/mg*	0.64	(-3.03, 4.32)	0.724	-0.46	(-3.6, 2.67)	0.766	0.644

Modelo de efectos fijos.

*ajustado por mg de proteína total.

† valor de p para antes y después de la intervención.

**valor de p para diferencia entre grupos.

ICAM-1: molécula de adhesión intercelular-1, VCAM-1: molécula de adhesión vascular-1.

En la tabla 6 se muestra el cambio a lo largo del seguimiento de algunos macronutrientes. Se observó disminución en la ingesta de energía e hidratos de carbono en el grupo intervención, mientras que el grupo control se observó un aumento, no hubo diferencia significativa en estos cambios. Así mismo se observó que el grupo intervención aumentó el consumo de proteína, lípidos, grasa saturada, AGM, omega 3, omega 6 y fibra, mientras que el grupo control disminuyó el consumo de éstos, salvo el consumo de omega 3 y fibra. Por otra parte, se observó una diferencia significativa entre grupos ($p= 0.019$) en el consumo de AGP (2.7 mg, IC 95% (-0.23, 5.25) $p=0.391$ vs -2.36 mg, IC 95% (-5.3, 0.57) $p=0.110$).

Tabla 6. Apego al tratamiento nutricional después de 3 meses de seguimiento en ambos grupos.

	Grupo Intervención (n= 21)			Grupo control (n= 22)			p**
	β	IC 95%	p*	β	IC 95%	p*	
Dieta							
Energía, kcal	-187	(-529, 153)	0.269	111	(-229, 453)	0.507	0.213
Proteína, %	0.65	(-2.46, 3.77)	0.670	-1.17	(-4.29, 1.94)	0.445	0.402
Hidratos de carbono, %	-7.48	(-17.66, 2.69)	0.143	5.24	(-4.93, 15.42)	0.299	0.081
Lípidos, %	6.86	(-3.18, 16.91)	0.172	-4.47	(-14.52, 5.58)	0.369	0.113
Grasa saturada, %	1.55	(-2.21, 5.32)	0.405	-0.86	(-4.62, 2.9)	0.642	0.360
AGM, %	1.56	(-2.12, 5.25)	0.391	-1.72	(-5.41, 1.96)	0.346	0.207
AGP, %	2.7	(-0.23, 5.64)	0.069	-2.36	(-5.3, 0.57)	0.110	0.019
Omega 3, mg	0.21	(-0.31, 0.73)	0.416	0.29	(-0.22, 0.82)	0.254	0.812
Omega 6, mg	3.17	(-2.37, 9)	0.280	-2.86	(-8.7, 3)	0.328	0.150
Fibra, g	0.33	(-7.1, 7.7)	0.927	1.02	(-6.41, 8.45)	0.780	0.894

Modelo de efectos fijos.

* valor de p para antes y después de la intervención.

**valor de p para diferencia entre grupos.

AGM: ácidos grasos monoinsaturados, AGP: ácidos grasos poliinsaturados.

11. DISCUSIÓN

11.1 Efecto de la L-citrulina sobre biomarcadores de función endotelial

El principal hallazgo de nuestro estudio fue mostrar que la suplementación de L-citrulina disminuye los niveles de ET-1 después de 3 meses de suplementación. La ET-1 se ha descrito como un marcador de DE debido a su expresión elevada en sitios de lesión endotelial, el cual se ha asociado a mayor gravedad de COVID-19 agudo, peor pronóstico y se ha documentado que en sujetos recuperados de COVID-19 persisten niveles elevados de ET-1¹⁰⁶, contribuyendo a la DE, como parte del proceso inflamatorio sistémico que en su mayoría persiste hasta semanas después de resuelto el proceso infeccioso.

Con respecto a la suplementación con L-citrulina, no se ha descrito el efecto sobre las concentraciones de ET-1. Sin embargo, en diversos estudios de intervenciones nutricionales basadas en suplementación con nutrientes específicos o a través de patrones de alimentación se ha observado una disminución de este biomarcador.

En un ensayo clínico Godoy Ilha, y Cols¹⁰⁷., encontraron una disminución de ET-1 al suplementar con fitoesteroles (1.6 g), además de un plan de alimentación normo calórico de acuerdo a los criterios de *National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATPIII), durante 4 semanas vs placebo. Los autores observaron que la disminución de ET-1 podría ser consecuencia de la reducción de las concentraciones de c-LDL por el consumo de fitoesteroles, lo cual sugiere que las concentraciones de ET-1 tienen una relación inversa cuando los

niveles de fitoesteroles aumentan en plasma, y que estos pueden mejorar la función endotelial independientemente del efecto que ejerza sobre las concentraciones de colesterol.

En otro estudio Kasmay Özgür y Cols^{108.}, encontraron una reducción significativa de ET-1 después de una intervención con dieta baja en calorías y un programa de ejercicio aeróbico durante 12 semanas en pacientes con intolerancia a la glucosa. La ET-1 está relacionada con el tejido adiposo, en sujetos con obesidad los niveles elevados de ET-1 inhibe la lipólisis de adipocitos viscerales inducida por la insulina, por lo que los autores plantean que la ET-1 tiene un papel importante en la distribución del tejido adiposo. La disminución de ET-1 se asoció a la pérdida de peso específicamente de masa grasa con mantenimiento de la masa libre de grasa, indicando que el tratamiento nutricional y ejercicio tiene efectos benéficos sobre la reducción de ET-1 relacionado a la pérdida de grasa corporal.

Por otro lado, en un meta análisis de ensayos clínicos aleatorizados, Hallajzadeh Jamal y Cols^{109.}, encontraron que la suplementación con curcumina mejoró la función endotelial, sin embargo, no encontraron efectos benéficos sobre biomarcadores como endotelina-1 o ICAM-1. Esto probablemente debido a la heterogeneidad de los estudios que incluyeron, presencia de comorbilidades en los sujetos de los estudios, así como la dosis o frecuencia de la suplementación.

Se ha descrito que la suplementación con L-arginina puede reducir las concentraciones de ET-1, estudiado en ratas con uricemia. Debido a que la L-citrulina es un potente precursor de L-arginina, la cual incrementa la biodisponibilidad de ON, podría explicar la disminución de ET-1, puesto que la

producción de esta molécula localizada en el endotelio podría ser atenuada por el ON¹¹⁰.

En nuestro estudio no se observó mejoría en el resto de los biomarcadores de función endotelial como E-selectina, ICAM-1 y VCAM-1. Sin embargo, en un ensayo clínico aleatorizado, Shanely Andrew R. y Cols¹¹¹., donde evaluaron el consumo 710 ml de jugo 100% de sandía (1.88 g de L-citrulina y 0.40 de L-arginina) diario por 6 semanas, de la muestra total de 45 participantes mujeres menopáusicas con sobrepeso u obesidad, 26 recibieron la intervención y 19 sujetos fueron el grupo control, observaron una disminución del 6% en VCAM-1 ($p < 0.05$) en quienes consumieron el jugo de sandía, lo cual puede deberse a que el jugo de sandía es rico en L-citrulina, L-arginina, licopeno y vitamina C, su consumo podría reducir la expresión de esta molécula de adhesión.

En un meta análisis Schwingshackl L. y Cols¹¹²., describieron una disminución de ICAM-1 cuando se tuvo mayor adherencia al patrón de alimentación mediterráneo en comparación con las intervenciones control. Diversos estudios de dieta mediterránea han mostrado que un mejor apego al consumo de este patrón de alimentación (frutas, cereales enteros, nueces y aceite de oliva virgen), donde el aceite de oliva virgen es base de este patrón y dado que es rico en ácidos grasos monoinsaturados, se ha asociado con disminución de moléculas de inflamación como IL-6, PCR y de adhesión como ICAM-1 y VCAM-1. A pesar de que se observó esta reducción, el estudio cuenta con algunas debilidades como la heterogeneidad de sus intervenciones control, el tiempo de intervención, y la población de estudio de cada ensayo clínico. En concordancia, los mismos autores en un meta análisis

reciente de ensayos clínicos aleatorizados evaluaron el efecto del aceite de oliva sobre marcadores de función endotelial, encontrando disminución significativa en moléculas de adhesión como ICAM-1 y E-selectina¹¹³.

11.2 Efecto de la L-citrulina en la fuerza de mano y caminata de 6 minutos.

La fuerza de mano y la distancia recorrida en la caminata de 6 minutos han sido descritos en las guías de sarcopenia como un indicador de funcionalidad. La fuerza muscular baja (dinapenia), es un potente predictor de estancias hospitalarias prolongadas, disminución en la capacidad funcional, lo que limita la capacidad de realizar actividades de la vida diaria, también es buen indicador del estado de nutrición¹¹⁴, y pronóstico de baja calidad de vida relacionado a la salud¹⁰⁴. Por otro lado, la velocidad de la marcha nos brinda información predictiva acerca de la capacidad limitada tanto física como cognitiva, relacionada a la sarcopenia, caídas y mortalidad¹⁰⁴. Así mismo, en un estudio se asoció la fuerza de mano baja como un buen predictor de mortalidad por cualquier causa, por enfermedad cardiovascular y con la incidencia de enfermedad cardiovascular¹¹⁵.

En nuestro estudio, se observó un aumento en la fuerza de mano y los metros recorridos en la caminata de 6 minutos en el grupo intervención. Los resultados observados sugieren que la suplementación con L-citrulina podría mejorar la funcionalidad muscular. Se han descrito diversos mecanismos que podrían explicar la mejoría en el rendimiento muscular, 1) se ha demostrado que la L-citrulina aumenta los niveles de L-arginina en plasma, la cual es el principal substrato de la

síntesis de ON, además se ha observado que aumenta la síntesis de la ONS por lo que la L-citrulina podría incrementar de manera indirecta la síntesis de ON, y restaurar su producción cuando ésta se ve comprometida, como consecuencia incrementa el flujo sanguíneo, mejora el suministro de oxígeno y energía para activar los músculos y con ello, mejorar el rendimiento muscular^{116,117}. 2) La L-citrulina tiene un papel importante en la homeostasis del nitrógeno. La L-citrulina es un componente del ciclo de la urea en el hígado donde la L-arginina producida a partir de L-citrulina es catabolizada en ornitina y urea, de modo que, la urea que es la principal vía de eliminación de amonio el cual se ha relacionado a la fatiga muscular, se ha sugerido que la suplementación con L-citrulina podría mejorar la homeostasis de amonio mejorando la funcionalidad muscular¹¹⁸.

Así mismo, Bailey y cols¹¹⁹, encontraron que, la suplementación oral con citrulina de 6 g a corto plazo (7 días) mejora la oxigenación muscular durante ejercicio de alta intensidad en adultos sanos aumentando la disponibilidad y distribución entre la microvasculatura del músculo lo que resulta en rendimiento muscular. Por otra parte, los beneficios de la L-citrulina podrían deberse a mejor vasodilatación/perfusión periférica promoviendo la utilización de oxígeno muscular probablemente debido al incremento en la disponibilidad de ON en músculos esqueléticos, el cual podría contribuir en la función y masa muscular¹²⁰.

Se ha estudiado el efecto de la suplementación con L-citrulina sobre la fuerza muscular en ratas, en un estudio encontraron que con una suplementación de 5 g/kg/día por una semana, en ratas desnutridas, la síntesis de proteína incrementó significativamente, fue acompañada de un incremento en el contenido de proteína

en el músculo y se asoció con un incremento en la masa muscular, fuerza y actividad motora, implicando que la suplementación con citrulina podría ser una estrategia transferible a los humanos pero se requieren de futuras investigaciones para determinar el mecanismo ya sea indirecto o directo del efecto de la citrulina sobre la síntesis y contenido proteico en el músculo¹²¹.

De acuerdo con diversos estudios el mecanismo de mejora en la fuerza muscular mediada por la suplementación con L-citrulina en humanos aún no es claro. En una revisión sistemática y meta-análisis de ensayos clínicos aleatorizados del efecto de la suplementación con citrulina-malato sobre fuerza y resistencia en entrenamiento en sujetos sanos y atletas, encontraron que después de esta intervención la fuerza muscular en miembros superiores e inferiores así como, la resistencia en entrenamiento no mejoró, a pesar de que los estudios incluidos en el meta-análisis fueron homogéneos, los autores plantean que son necesarias futuras investigaciones con tamaños de muestra adecuados y en sujetos con distintas condiciones de salud y no atletas¹²².

La enfermedad por COVID-19 se ha caracterizado no solo por alteraciones pulmonares, sino también en otros tejidos como en endotelio y musculoesquelético. La DE durante la enfermedad aguda de COVID-19 ha sido bien documentada a través de biomarcadores de inflamación o moléculas de adhesión, promoviendo un estado proinflamatorio y procoagulante en el paciente infectado, incluso empeorando el pronóstico del mismo, sin embargo, a lo largo del crecimiento de la evidencia respecto a esta enfermedad, se ha observado que estas alteraciones en el endotelio persisten aun cuando los pacientes se han recuperado de la

enfermedad. Lo que permite especular, que la suplementación con L-citrulina podría reducir o limitar el tiempo de afectación de la función endotelial en el periodo post COVID e incluso, la expresión clínica de estas alteraciones llamado síndrome post COVID.

Respecto a algunas interrogantes que destacan en nuestro estudio fue que la suplementación con L-citrulina no modificó a los biomarcadores de DE como E-selectina, ICAM y VCAM, lo que podría explicarse por la dosis empleada, aunque en la literatura las dosis efectivas varían desde los 3 hasta los 10 g, el promedio de estas ha sido en general mayor a 7 g, el tiempo de seguimiento en la mayoría de los estudios revisados fue corto, y por el tamaño de muestra, ya que fue un número reducido de pacientes los que concluyeron el estudio, así como la adherencia al tratamiento, tomamos como buena adherencia al suplemento para realizar el análisis por protocolo a los pacientes que consumieron al menos el 80% del total de los sobres a lo largo de la intervención, sólo 3 participantes no cumplieron con la adherencia al suplemento. Respecto a la adherencia al tratamiento nutricional, de acuerdo con los resultados obtenidos podemos observar que no hubo diferencias significativas a lo largo del tratamiento, lo que es importante mencionar ya que el tratamiento nutricional brindado fue igual para ambos grupos de manera personalizada y con las mismas indicaciones y recomendaciones. Sin embargo, rescatamos que el grupo intervención aumentó el consumo de la mayoría de los macronutrientes reportados como: proteína, lípidos, grasa saturada, grasa monoinsaturada y poliinsaturada, omega 3, omega 6 y fibra, al contrario de los sujetos del grupo control quienes disminuyeron este consumo. La obtención de la

información pudo haber sido una limitante para el análisis de la dieta, ya que se realizó a través de un recordatorio de 24 horas en cada consulta que asistían. Esta recolección de datos puede mejorar al utilizar otros instrumentos como la frecuencia de consumo de alimentos. Además, existe evidencia de que factores actitudinales, sociales y ambientales pueden influir en el efecto del tratamiento, por ejemplo, que los pacientes del grupo intervención al estar recibiendo un suplemento se comprometieran más a cumplir con su alimentación, mientras que en el grupo control sólo recibir el tratamiento nutricional sucediera lo contrario¹²³.

Así mismo, algunos de los participantes recibieron terapia física, pero al estar aleatorizados esta intervención pudo haber influido en los resultados de manera similar en ambos grupos. Por otro lado, aproximadamente el 24 % (5 personas de las 21 que terminaron el estudio en el grupo intervención) refirieron haber tenido alteraciones gastrointestinales durante la toma del suplemento, entre los que destacan estreñimiento, diarrea, distensión abdominal y flatulencias. Sin embargo, de acuerdo a la evidencia que se tiene respecto a la microbiota intestinal en pacientes recuperados de COVID-19, estas alteraciones podrían estar mediadas en parte por esta condición ya que en estudios con otras poblaciones no se han reportado efectos adversos durante la suplementación con L-citrulina.

Por otra parte, es importante mencionar que la enfermedad por COVID-19 es reciente, por lo que diversos mecanismos fisiopatológicos que pueden ser afectados después de la recuperación aún no se han esclarecido por completo. Algunos estudios han observado que las alteraciones en el endotelio pueden persistir hasta 1 año después de su recuperación, mostrando elevadas concentraciones de

moléculas de inflamación como IL-6 y de adhesión como ICAM-1 y VCAM-1, incrementando el riesgo de tromboembolismo y de enfermedad cardiovascular¹²⁴. Además, al inicio, en algunos indicadores clínicos de severidad como los días de estancia hospitalaria y los días que transcurrieron desde el egreso hospitalario hasta su incorporación al estudio en los sujetos que se aleatorizaron a grupo intervención y grupo control, fueron diferentes. En ambos grupos, el retraso de casi tres meses en el grupo intervención y de 4.5 meses en el control, esto podría haber influido en estos resultados e induce a plantear la hipótesis que dicha suplementación sería más efectiva con su administración temprana de la misma, probablemente incluso en la etapa aguda.

En nuestro estudio no se evaluaron concentraciones en plasma de L-citrulina, pero dentro de los valores bioquímicos que se recolectaron, se observó un aumento significativo en urea y BUN en los pacientes del grupo intervención. Estos valores nos pueden servir como un acercamiento a la adherencia al tratamiento ya que la L-citrulina es fundamental en el ciclo de la urea, por lo que al haber mayores concentraciones de L-citrulina, la excreción de este compuesto es mayor, sin impactar sobre la función renal de los sujetos del estudio. Se puede observar una disminución de la tasa de TFG en ambos grupos, esto podría explicarse por el daño renal progresivo que se ha descrito como parte del síndrome post-COVID.

Las fortalezas que encontramos en nuestro estudio es que fue un ensayo clínico aleatorizado, y en el análisis estadístico se utilizó un análisis multivariado, un modelo de efectos fijos, que nos permitió ajustar variables distintas entre los grupos al inicio del estudio, así como controlar variables fijas en el individuo.

12. CONCLUSIÓN

Nuestro estudio demostró que la suplementación con L-citrulina durante 3 meses tiene efectos benéficos sobre la función endotelial al disminuir las concentraciones de ET-1, así como un aumento en la fuerza de mano y los metros recorridos en la caminata de 6 minutos lo que implica mejorar la funcionalidad física y muscular, en sujetos recuperados de COVID-19 del INER. Sin embargo, son necesarias futuras investigaciones, con tamaños de muestra mayores, y quizá con el inicio más temprano de la suplementación de la L-citrulina para comprender el mecanismo de mejora a la función endotelial que se ha descrito como un potente factor para limitar el riesgo de enfermedades cardiovasculares, así como para el tejido muscular que se ha relacionado con la funcionalidad en esta población de estudio.

ANEXO 1. Formatos de entrega en la consulta.

1) Registro de toma de suplemento.

REGISTRO DE TOMA DE SUPLEMENTO

Nombre: _____ Fecha de entrega: _____ Próxima cita: _____

#	Fecha	Hora	Efectos positivos	Efectos negativos	#	Fecha	Hora	Efectos positivos	Efectos negativos
1					24				
2					25				
3					26				
4					27				
5					28				
6					29				
7					30				
8					21				
9					32				
10					33				
11					34				
12					35				
13					36				
14					37				
15					38				
16					39				
17					40				
18					41				
19					42				
20					43				
21					44				
22					45				
23									

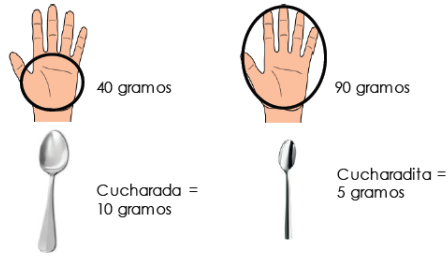
Nota:

- Marque en el cuadro donde aparece el número de la toma del suplemento.
- Anote fecha, hora en cada día de la toma del suplemento.
- Anote que efectos benéficos o negativos notó en cada día de la toma del suplemento.
- Establezca un horario para tomar el suplemento, puede ser por la mañana, tarde o noche, el horario en el que más se le facilite.
- Si olvida tomar en algún día el suplemento, no lo suspenda, y continúe con las dosis entregadas.

LN. Fernanda Salgado
Dra. Dulce González

2) Material de plan de alimentación.

RECOMENDACIONES DEL PLAN DE ALIMENTACIÓN



Realizar el menú que desee con los equivalentes que tiene arriba por cada tiempo de comida y con la lista de alimentos. Si no le es grato un alimento, optar por otro alimento de esa misma clase, por ejemplo, una fruta por otra fruta, manzana por pera.

RECOMENDACIONES GENERALES

- Realizar mínimo 3 comidas al día (desayuno, comida y cena) y 2 colaciones.
- Comer despacio y masticar correctamente.
- Respetar los horarios de alimentación, sin ayuno mayor a 4 horas
- Dormir 7-8 horas/día.
- Realizar mínimo 30 min de ejercicio/día. Hidratarse.

PREFERIR:

- Técnicas de cocción al horno, asadas, al vapor, desgrasar los alimentos
- Utilizar hierbas de olor para cocinar: laurel, epazote, cilantro y perejil
- La fruta entera (evitar los zumos, jugos)
- Cereales integrales: pan integral, bolillo integral o tortilla de maíz
- Leche semidescremada y yogur natural.
- Quesos blancos; panela, requesón, oaxaca, fresco, cottage.
- Carne magra (sin grasa)

EVITAR:

- Alimentos fritos, capeados o empanizados.
- Refrescos y jugos comerciales.
- Repostería y bollería; pan dulce, pasteles, flanes.
- Carnes grasosas y embutidos; tocino, chorizo, cecina, longaniza, barbacoa, etc).

DAME CLIC

Elaborado por:
LNC. Cely Anahi Chávez Méndez
LNC. Carmen Linette Olivo Villalobos
LNC. Giselle Victoria Dávila Said



DASH MEDITERRANEA

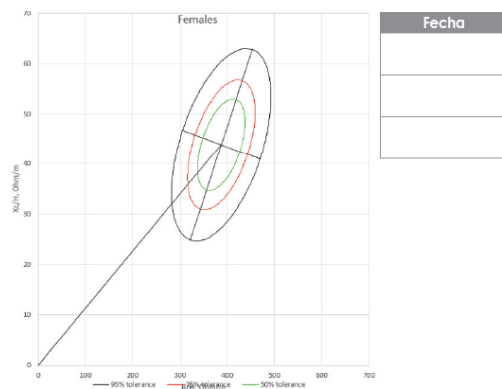
CLINICA DE INSUFICIENCIA CARDIACA Y RESPIRATORIA

DAME CLIC



Nombre:

Datos Antropométricos			
Fecha			
Edad			
Peso (kg)			
Talla (cm)			
IMC (kg/m ²)			
Peso Ideal			
Fuerza (kg)			
Cintura (cm)			
Grasa (%/kg)			
Magro (%/kg)			
ACT (%)			
Ángulo de Fase			




ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL	Porción	LEGUMBRES	Porción	LÁCTEOS	Porción
Huevo	1 pza	Alubia	1/2 tza	Leche Semi / Soya	1 tza
Bistec de res	30g	Frijol	1/2 tza	Yogurt Natural	1/2 tza
Camarón	5 pzas	Garbanzo	1/2 tza	Leche evaporada	1/2 tza
Carne molida de res	30g	Haba	1/2 tza		
Filete de pescado	40g	Hummus	5 cdas	AZÚCAR	Porción
Pechuga de pollo	30g	Lenteja	1/2 tza	Miel	2cditas
Jamón de pavo	2 reb	Alverjón	1/2 tza	Azúcar morena	3cditas
Queso panela	40g	Soya cocida	1/3 tza	Gelatina	1/3 tza
Queso cottage	3 cdas				
Requesón	2 cdas	GRASAS S/ PROTEÍNA	Porción	ALIMENTOS LIBRES DE ERENGÍA	Porción
Salmón	30g	Aceite vegetal	1 cdita	Cacao	1 cda
Pierna de pollo sin piel	1/3 pza	Aceitunas	5 pzas	Café soluble/Té	2 cditas
Muslo de pollo	1/2 pza	Aguacate	1/3 pza	Chiles	—
Claras de Huevo	2 pzas	Crema ácida	1 cda	Cilantro, albahaca, perejil, Canela, ajo, laurel.	—
Lomo de cerdo	40g	Mantequilla	1 1/2 cdita	Jamaica, manzanilla, hierbabuena.	—
Hígado de Pollo	40g				
		GRASAS C/ PROTEÍNA	Porción		
		Ajorjolli	4 cdita		
		Almendras	10 pzas		
		Cacahuates	14 pzas		
		Nueces	3 pzas		
		Semilla Chía	5 cdita		
		Semilla girasol	4 cdita		

Distribución energética			
Calorías:			
	Porcentaje	Calorías	Gramos
Proteínas			
Hidratos de Carbono			
Lípidos			

DISTRIBUCIÓN DE ALIMENTOS EQUIVALENTES POR TIEMPO DE COMIDA						
Grupo	Equivalente	Desayuno	Colación	Comida	Colación	Cena
Verduras						
Frutas						
Cereales						
Leguminosas						
Alimentos de origen animal						
Lácteos						
Grasas con proteína						
Grasas sin proteína						

MENÚ EJEMPLO	
Desayuno	
Colación	
Comida	
Colación	
Cena	



VERDURAS	Porción	FRUTAS	Porción	CEREALES Y TUBÉRCULOS	Porción
Acelga	2 tzas	Blueberries	3/4 tza	Amaranto	1/4 tza
Apio	1 1/2 tza	Ciruela roja	3 pzas	Arroz cocido	1/4 tza
Betabel	1/4 pza	Ciruela pasa	7 pzas	Avena cruda	1/3 tza
Brócoli	1/2 tza	Durazno	2 pzas	Bolillo integral	1/3 pza
Calabacita	1 pza	Fresas	1 tza	Camote cocido	1/3 tza
Cebolla	1/2 tza	Granada	1 pza	Cereal s/ azúcar	1/2 tza
Champiñón	1 tza	Guayaba	3 pzas	Elote	1/2 tza
Chayote	1/2 tza	Kiwi	1 1/2 pza	Espagueti	1/3 tza
Coliflor	1 tza	Mamey	1/3 pza	Fideo	1/2 tza
Ejotes	1/2 tza	Mandarina	2 pzas	Galleta habanera	4 pzas
Espinaca	2 tzas	Mango	1/2 pza	Galleta maria	5 pzas
Espárragos	6 pzas	Manzana	1 pza	Granola	3 cda
Flor de calabaza	1 tza	Maracuyá	3 pzas	Palomitas naturales	2 1/2 tza
Germen de alfalfa	3 tzas	Melón	1 tza	Pan integral	1 reb
Huazontle	1/2 tza	Naranja	2 pzas	Pan tostado	1 pza
Huiflacoche	1/3 tza	Papaya	1 tza	Papa cocida	1/2 pza
Jícama	1/2 tza	Pera	1/2 pza	Quinoa	20g
Jitomate	2 pzas	Piña	1 tza	Tortilla maíz	1 pza
Lechuga	3 tzas	Plátano	1/2 pza	Tortilla harina	1/2 pza
Nopal	2 pzas	Sandía picada	1 tza	Tortilla nopal	2 pzas
Pepino	1 tza	Toronja	1 pza	Tostada horneada	2 pzas
Verdolaga	1 tza	Tuna	2 pzas	Hotcake int.	1 pza
Zanahoria	1/2 tza	Uvas	18 pzas		

Datos Bioquímicos			
Fecha			
Colesterol total			
Colesterol HDL			
Colesterol LDL			
Triglicéridos			
Apo A			
Apo B			
Glucosa			
Urea			
Creatinina			
Ácido úrico			
IFG			

3) Material didáctico (recomendaciones nutricionales)

Observaciones



RECOMENDACIONES

Nutricionales

POST COVID-19



ELIGE UN ESTILO DE VIDA Saludable

Verduras

Las porciones de verduras son libres durante el día, y es importante que incluyas **al menos 1 porción** de verduras en cada tiempo de comida diariamente, son ricas en **fibra**.

Frutas

Incluye al menos **3 porciones** de frutas frescas durante el día. Son ricas en **vitaminas y minerales** para el buen funcionamiento del organismo.

Cereales

Consumo **cereales integrales y sin grasa**, incluye 1 porción en cada tiempo de comida, aportan **energía** a nuestro cuerpo y es importante comerlos con moderación.

Alimentos de origen animal

Incluye al menos **1 porción** de alimentos de origen animal en las tres comidas principales del día. Son la fuente principal de **proteína**, ayudan al mantenimiento y formación de nuestros músculos.

Leguminosas

Incluye al menos **1 porción** al día de leguminosas, (frijol, haba, lenteja). Son fuente de proteína vegetal y combinadas con un cereal, forman proteína de calidad.

Alimentos libres de energía

ESPECIAS

Pimienta*, ajo*, anís, azafrán, **clavo de olor***, paprika, **cúrcuma***, comino, **curry***, **canela***, achiote, **hinojo***, cardamomo, **jengibre***, mostaza, pimentón, **nuez moscada***.

HIERBAS

Hierbabuena, menta, tomillo, hojas de laurel, mejorana, albahaca, menta, hierbas de olor, hierbas finas, manzanilla, **orégano***, **romero***.

CAFÉ Y TÉ

Preparado con agua natural y sin azúcar.

PARA PREPARAR BEBIDAS

Cacao*, vainilla en vaina, flor de jamaica, cocoa sin azúcar, limón, limón agrio.

ADEREZO

Vinagre balsámico, vinagre blanco, vinagre de jerez, vinagre de manzana, vinagre de vino.

OTROS

Cebollín, cebolla en polvo, cáscara de limón y naranja, ralladura de limón y lima, jugo de limón, perejil deshidratado, caldo, gelatina sin azúcar, grenetina.

Puedes añadir alguno de éstos alimentos para dar olor y sabor a tus platillos, una buena opción para reducir el consumo de sal en la dieta.

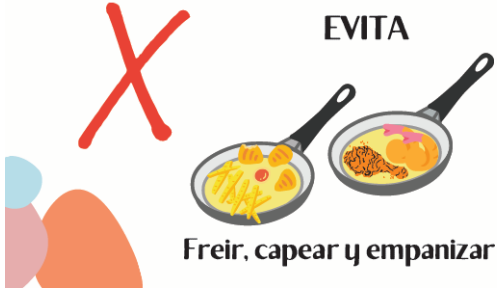
*Alimentos con propiedades anti-inflamatorias.

MÉTODOS DE Cocción

PREFIERE



EVITA



Medidas CASERAS

Verduras



Las menos abiertas y juntas, es una forma de medir la porción de verduras a consumir.

Fruitas



Las frutas pueden medirse con el puño cerrado de nuestra mano, que corresponde a una porción.

Cereales



Los cereales como arroz, y pasta pueden medirse con el puño cerrado de nuestra mano.

Carnes



Una porción de carne, pollo o pescado puede ser medida con la palma de nuestra mano (la parte sombreada).

Quesos



Los quesos pueden medirse contando la cantidad que corresponde a dos dedos (parte sombreada) de nuestra mano.

Grasas



La cantidad de aceites y grasas pueden ser medidas con la punta del dedo índice como cantidad mínima.

Nuevo ETIQUETADO Nutricional

<p>EXCESO CALORIAS</p> <p>100 g o ml de producto ≥ 275 kcal totales</p>	<p>100 g o ml de producto $\geq 10\%$ del total de la energía proveniente de azúcares libres.</p> <p>EXCESO AZÚCARES</p>	<p>EXCESO GRASAS SATURADAS</p> <p>100 g o ml de producto $\geq 10\%$ del total de la energía proveniente de grasa saturada.</p>
--	--	---

<p>100 g o ml de producto $> 1\%$ del total de la energía proveniente de grasas trans.</p> <p>EXCESO GRASAS TRANS</p>	<p>EXCESO SODIO</p> <table border="1"> <tr> <td>Sólidos</td> <td>Líquidos</td> </tr> <tr> <td>100 g de producto ≥ 1 mg de sodio por kcal o ≥ 300 mg</td> <td>100 ml de producto ≥ 45 mg de sodio</td> </tr> </table>	Sólidos	Líquidos	100 g de producto ≥ 1 mg de sodio por kcal o ≥ 300 mg	100 ml de producto ≥ 45 mg de sodio
Sólidos	Líquidos				
100 g de producto ≥ 1 mg de sodio por kcal o ≥ 300 mg	100 ml de producto ≥ 45 mg de sodio				

CONTIENE EDULCORANTES NO RECOMENDABLE EN NIÑOS	CONTIENE CAFEÍNA EVITAR EN NIÑOS
---	---

EVITA EL CONSUMO DE ALIMENTOS PROCESADOS QUE TENGAN UNO O MÁS SELLOS

Es importante identificar productos que contengan exceso de azúcares, sodio y grasas, esto nos ayudará a tomar decisiones más saludables al momento de elegir productos.



Grasas sin proteína

Consume aceites vegetales (oliva, canola, cártamo) y aguacate. Incluye **1 cucharadita** de alguno de éstos aceites para cocinar en cada una de las principales comidas.



Grasas con proteína

Incluye al menos **1 porción** al día de semillas (**nueces, almendras, cacahuates, ajonjolí, chía, semilla de girasol, linaza molida**). Son buena fuente de grasas monoinsaturadas y poliinsaturadas, que son beneficiosas para nuestra salud cardiovascular.



Lácteos

Incluye al menos **1 porción** de productos lácteos descremados, (**leche light, yogurt natural sin azúcar**). Son ricos en **calcio** para el mantenimiento de nuestros huesos, y **proteína**.



PREFIERE



Consumir agua natural diariamente, al menos 1.5 litros.



Agua de fruta natural sin azúcar

EVITA

Refrescos



Jugos industrializados y agua fresca preparada con polvos de sabor.

Evite consumir bebidas endulzadas y azucaradas como éstas, contienen un exceso de calorías y azúcares, además de otros ingredientes perjudiciales para nuestro cuerpo.

ANEXO 2. Aprobación de comité de ética e investigación.



Comité de Investigación
19 CI 09 012 013
Comité de Ética en Investigación
CONBIOÉTICA-09CEI-003-20160427
Comité de Bioseguridad
17 CB 09 012 120

Ciudad de México a 09 de noviembre de 2020

INER/CJ/411/20
INER/CEI/466/20
INER/CB/PI/6820/2020

Dr. Arturo Orea Tejeda
Investigador Principal

Asunto: **DICTAMEN APROBACIÓN.**

Título del Proyecto: EFECTO DEL TRATAMIENTO NO FARMACOLÓGICO INTEGRAL (TRATAMIENTO NUTRICIONAL Y REHABILITACIÓN PULMONAR) SOBRE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL, COMPOSICIÓN CORPORAL Y FUNCIONALIDAD FÍSICA EN PACIENTES RECUPERADOS POR COVID-19.

Código asignado por el Comité: **C71-20**

Le informamos que su proyecto de referencia ha sido evaluado por el Comité y las opiniones acerca de los documentos presentados se encuentran a continuación:


	No. y/o Fecha Versión	Decisión
Protocolo	Versión 1, agosto 2020	APROBADO
Consentimiento Informado	Versión 1, agosto 2020	APROBADO

Este protocolo tiene vigencia de noviembre 2020 a octubre 2022.

En caso de requerir una ampliación, le rogamos tenga en cuenta que deberá enviar al Comité un reporte de progreso al menos 30 días antes de la fecha de término de su vigencia. El Comité dispone en su página electrónica de un formato estándar que podrá usarse al efecto. Lo anterior forma parte de las obligaciones del Investigador las cuales vienen descritas al reverso de esta hoja.

Atentamente


Dra. Blanca Margarita Bazán Perkins
Presidente del Comité de Investigación


Lic. Adriana Espinosa Jove
Presidente del Comité de Ética en Investigación


Dr. Edgar Enrique Sevilla Reyes
Presidente del Comité de Bioseguridad

Calzada de Tlalpan 4502, Colonia Sección XVI, C.P. 14080, Alcaldía Tlalpan, CDMX
Tel. (55) 5487 1700 www.iner.salud.gob.mx



2020
LEONA VICARIO
SECRETARÍA DE SALUD

BIBLIOGRAFÍA

1. Murillo-bonilla LM. SARS-CoV-2 Como Factor de Riesgo Vascular. *Rev Med Clínica*. 2020;4(2):2-5. doi:10.5281/zenodo.3872363
2. Zabetakis I, Lordan R, Norton C. COVID-19: The Inflammation Link and the Role of Nutrition in Potential Mitigation. *Nutrients*. 2020;2(1466):1-28. doi:10.3390/nu12051466
3. Reyes-reyes E. Inmunopatogenia en la evolución del paciente grave por la COVID-19. *Rev Electrónica Dr Zoilo E Mar Vidaurreta*. 2020;45(3):1-8.
4. Zheng, Ying- Ying, Yi- Tong Ma, Jin- Ying Zhang y XX. COVID-19 and the cardiovascular system. *Cardiology*. 2020;17. doi:10.1038/s41569-020-0360-5
5. Teijaro JR, Walsh KB, Cahalan S, et al. Endothelial cells are central orchestrators of cytokine amplification during influenza virus infection. *Cell*. 2011;146(6):980-991. doi:10.1016/j.cell.2011.08.015
6. Del S, Vianello A, Ragusa R, Caselli C, Basta G. COVID-19 and cardiovascular consequences: Is the endothelial dysfunction the hardest challenge? *Thromb Res*. 2020;196:143-151. doi:10.1016/j.thromres.2020.08.039
7. COVID-19 accelerates endothelial dysfunction and nitric oxide deficiency. *Microbes Infect*. 2020;22:149-150. doi:10.1016/j.micinf.2020.05.006
8. Gómez-tejeda JJ, Hernández-pérez C, Aguilera-velázquez Y. Cardiovascular system involvement in SARS-CoV-2 infection. *Univ Med Pinareña*. 2020;16(3):1-12.
9. Korakas E, Ikonomidis I, Kousathana F, et al. Obesity and COVID-19 : Immune and metabolic derangement as a possible link to adverse clinical outcomes. 2020.
10. Li X, Xu S, Yu M, et al. Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 inpatients in Wuhan. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;146(1):110-118. doi:10.1016/j.jaci.2020.04.006
11. Moreno-lópez LFL. Repercusión cardiovascular de la infección por el nuevo coronavirus. *CorSalud*. 2020;12(1):3-17.
12. Lai AL, Millet JK, Daniel S, Freed JH, Whittaker GR. COVID-19 cardiac injury: Implications for long-term surveillance and outcomes in survivors. *Heart Rhythm*. 2020:1-7. doi:10.1016/j.hrthm.2020.06.026
13. Bermejo-Martin JF, Almansa R, Torres A, González-Rivera M, Kelvin DJ. COVID-19 as a cardiovascular disease: the potential role of chronic endothelial dysfunction. *Cardiovasc Res*. 2020. doi:10.1093/cvr/cvaa140

14. Lazaridis C, Vlachogiannis NI, Bakogiannis C, et al. Involvement of cardiovascular system as the critical point in coronavirus disease 2019 COVID-19 prognosis and recovery. *Hell J Cardiol.* 2020;1-15. doi:doi.org/10.1016/j.hjc.2020.05.004
15. Nalbandian A, Sehgal K, Gupta A, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med.* 2021;27(April):601-615. doi:doi.org/10.1038/s41591-021-01283-z
16. Palmer K, Monaco A, Kivipelto M, et al. The potential long-term impact of the COVID-19 outbreak on patients with non-communicable diseases in Europe: consequences for healthy ageing. *Aging Clin Exp Res.* 2020;32(7):1189-1194. doi:10.1007/s40520-020-01601-4
17. Yang W, Sirajuddin A, Zhang X, et al. The role of imaging in 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19). *Eur Radiol.* 2020;30(9):4874-4882. doi:10.1007/s00330-020-06827-4
18. Huang C, Huang L, Wang Y, et al. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet.* 2021;397(10270):220-232. doi:10.1016/S0140-6736(20)32656-8
19. Potus Francois, Mai Vicky, Lebret Marius, Malenfant Simon, Breton-Gagnon Emilie, C. Lajoie Annie, Boucherat Olivier, Bonnet Sébastien PS. Novel insights on the pulmonary vascular consequences of COVID-19. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol.* 2020;319(2):277-288. doi:10.1152/ajplung.00195.2020
20. Bseikri M, McCann JC, Lal A, et al. A novel nutritional intervention improves lung function in overweight/obese adolescents with poorly controlled asthma: The Supplemental Nutrition in Asthma Control (SNAC) pilot study. *FASEB J.* 2018;32(12):6643-6654. doi:10.1096/fj.201700338
21. Gustafson D, Raju S, Wu R, et al. The Endothelium As a Linchpin of Coronavirus Disease 2019 Pathogenesis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020;40:1-12. doi:10.1161/ATVBAHA.120.314558
22. Jamwal S, Gautam A, Elsworth J, Kumar M, Chawla R. An updated insight into the molecular pathogenesis , secondary complications and potential therapeutics of COVID-19 pandemic. *Life Sci.* 2020;257. doi:10.1016/j.lfs.2020.118105
23. Wu Y, Xu X, Chen Z, Duan J, Hashimoto K, Yang L. Nervous system involvement after infection with COVID-19 and other coronaviruses. *Brain Behav Immun.* 2020;87:18-22. doi:10.1016/j.bbi.2020.03.031
24. Wu Q, Zhou L, Sun X, et al. Altered Lipid Metabolism in Recovered SARS Patients Twelve Years after Infection. *Sci Rep.* 2017;7(1):1-12. doi:10.1038/s41598-017-09536-z

25. López-Ponce de León JD, Cárdenas-Marín PA, Giraldo-González GC, Herrera-Escandón Á. COVID-19 coronavirus: More than just a lung disease: what it is and what we know about the link with the cardiovascular system. *Rev Colomb Cardiol.* 2020;27(3):142-152. doi:10.1016/j.rccar.2020.04.006
26. De Lorenzo A, Escobar S, Tibiriçá E. Systemic endothelial dysfunction: a common pathway for COVID-19, cardiovascular and metabolic diseases. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2020. doi:10.1016/j.numecd.2020.05.007
27. Ali AM, Kunugi H. Skeletal muscle damage in covid-19: A call for action. *Med.* 2021;57(4):1-8. doi:10.3390/medicina57040372
28. De Lorenzo R, Conte C, Lanzani C, et al. Residual clinical damage after COVID-19: A retrospective and prospective observational cohort study. *PLoS One.* 2020;15(10 October):1-16. doi:10.1371/journal.pone.0239570
29. S. Hui David, Wong Ka T., W Ko. Fanny, S. Tam Lai, P. Chan Doris, Woo Jean JYJ. The 1-Year Impact of Severe Acute Respiratory Syndrome on Pulmonary Function, Exercise Capacity, and Quality of Life in a Cohort of Survivors. *Chest.* 2005;128(4):2247-2261.
30. Amarasekera AT, Chang D, Schwarz P, Tan TC. Does vascular endothelial dysfunction play a role in physical frailty and sarcopenia? A systematic review. *Age Ageing.* 2021;50(3):725-732. doi:10.1093/ageing/afaa237
31. Welch C, Greig C, Masud T, Wilson D, Jackson TA. COVID-19 and acute sarcopenia. *Aging Dis.* 2020;11(6):1345-1351. doi:10.14336/AD.2020.1014
32. Wang P, Li Y, Wang Q. Sarcopenia: An underlying treatment target during the COVID-19 pandemic. *Nutr J.* 2021;84(January):2-4. doi:10.1016/j.nut.2020.111104
33. Nelke C, Dziewas R, Minnerup J, Meuth SG, Ruck T. Skeletal muscle as potential central link between sarcopenia and immune senescence. *EBioMedicine.* 2019;49:381-388. doi:10.1016/j.ebiom.2019.10.034
34. Saini J, McPhee JS, Al-Dabbagh S, Stewart CE, Al-Shanti N. Regenerative function of immune system: Modulation of muscle stem cells. *Ageing Res Rev.* 2016;27:67-76. doi:10.1016/j.arr.2016.03.006
35. Kirwan R, McCullough D, Butler T, Perez de Heredia F, Davies IG, Stewart C. Sarcopenia during COVID-19 lockdown restrictions: long-term health effects of short-term muscle loss. *GeroScience.* 2020;42(6):1547-1578. doi:10.1007/s11357-020-00272-3
36. Engin AB, Engin A. Endothelial dysfunction in obesity. *Obes Lipotoxicity.* 2017;960.

doi:10.1007/978-3-319-48382-5

37. Vilahur G, Ben-Aicha S, Badimon L. New insights into the role of adipose tissue in thrombosis. *Cardiovasc Res.* 2017;113(9):1046-1054. doi:10.1093/cvr/cvx086
38. Picchi A, Gao X, Belmadani S, et al. Tumor necrosis factor- α induces endothelial dysfunction in the prediabetic metabolic syndrome. *Circ Res.* 2006;99(1):69-77. doi:10.1161/01.RES.0000229685.37402.80
39. Rossi AP, Gottin L, Donadello K, et al. Intermuscular Adipose Tissue as a Risk Factor for Mortality and Muscle Injury in Critically Ill Patients Affected by COVID-19. *Front Physiol.* 2021;12(May):1-6. doi:10.3389/fphys.2021.651167
40. Pasquarelli-do-Nascimento G, Braz-de-Melo HA, Faria SS, Santos I de O, Kobinger GP, Magalhães KG. Hypercoagulopathy and Adipose Tissue Exacerbated Inflammation May Explain Higher Mortality in COVID-19 Patients With Obesity. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020;11(December 2019):1-16. doi:10.3389/fendo.2020.00530
41. Aroor AR, DeMarco VG, Jia G, et al. The Role of Tissue Renin-Angiotensin-Aldosterone System in the Development of Endothelial Dysfunction and Arterial Stiffness. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2013;4(October):1-7. doi:10.3389/fendo.2013.00161
42. Dhar D, Mohanty A. Gut microbiota and COVID-19-possible link and implications. *Virus Res.* 2020;285:2-5. doi:doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198018
43. Negi S, Das DK, Pahari S, Nadeem S, Agrewala JN. Potential role of gut microbiota in induction and regulation of innate immune memory. *Front Immunol.* 2019;10(OCT):1-12. doi:10.3389/fimmu.2019.02441
44. Negi S, Pahari S, Bashir H, Agrewala JN. Gut microbiota regulates mircle mediated activation of lung dendritic cells to protect against mycobacterium tuberculosis. *Front Immunol.* 2019;10(MAY):1-14. doi:10.3389/fimmu.2019.01142
45. Yeoh YK, Zuo T, Lui GCY, et al. Gut microbiota composition reflects disease severity and dysfunctional immune responses in patients with COVID-19. *Gut.* 2021;70(4):698-706. doi:10.1136/gutjnl-2020-323020
46. Kaźmierczak-Siedlecka K, Vitale E, Makarewicz W. COVID-19 – Gastrointestinal and gut microbiota-related aspects. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2020;24(20):10853-10859. doi:10.26355/eurrev_202010_23448
47. Gu S, Chen Y, Wu Z, et al. Alterations of the Gut Microbiota in Patients with COVID-19 or H1N1 Influenza Silan. *Journals Gerontol Ser A Biol Sci Med Sci.* 2020;0813(April):1-11.

48. Wang J, Li F, Wei H, Lian ZX, Sun R, Tian Z. Respiratory influenza virus infection induces intestinal immune injury via microbiota-mediated Th17 cell-dependent inflammation. *J Exp Med*. 2014;211(12):2397-2410. doi:10.1084/jem.20140625
49. Lange K, Buerger M, Stallmach A, Bruns T. Effects of Antibiotics on Gut Microbiota. *Dig Dis*. 2016;34(3):260-268. doi:10.1159/000443360
50. Tian Y, Sun KY, Meng TQ, et al. Gut Microbiota May Not Be Fully Restored in Recovered COVID-19 Patients After 3-Month Recovery. *Front Nutr*. 2021;8(May):1-9. doi:10.3389/fnut.2021.638825
51. Carvajal Carvajal C. El Endotelio: Estructura, Función Y Disfunción Endotelial. *Med Leg Costa Rica*. 2017;34(2):90-100. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152017000200090&lng=en&tlng=es.
52. Libby P, Lüscher T. COVID-19 is, in the end, an endothelial disease. *Eur Heart J*. 2020;41(32):3038-3044. doi:10.1093/eurheartj/ehaa623
53. Laforge M, Elbim C, Frère C, et al. Tissue damage from neutrophil-induced oxidative stress in COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(9):515-516. doi:10.1038/s41577-020-0407-1
54. George Goshua, Alexander B Pine, Matthew L Meizlish, C-Hong Chang, Hanming Zhang, Parveen Bahel, Audrey Baluha, Noffar Bar, Robert D Bona, Adrienne J Burns, Charles S Dela Cruz, Anne Dumont, Stephanie Halene, John Hwa, Jonathan Koff, Hope Menninger, Natali AL. Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: evidence from a single-centre, cross-sectional study. *The Lancet Haematol*. 2020;7:575-582. doi:10.1016/S2352-3026(20)30216-7
55. Coelho SC, Berillo O, Caillon A, et al. Three-Month Endothelial Human Endothelin-1 Overexpression Causes Blood Pressure Elevation and Vascular and Kidney Injury. *Hypertension*. 2018;71(1):208-216. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.09925
56. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988;332(6163):411-415. doi:10.1038/332411a0
57. Valtazares Lipp, Matilde, Rodríguez Crespo, Hilda, Ortega Martínez, Jorge, Sotres-Vega Avelina BLME. Sistema Endotelina. *Rev Instituto Nac Enfermedades Respir Mex*. 2005;18(4):308-320.
58. Dupuis, Jocelyn, Duncan J. Stewart, Peter Cernacek GG. Human Pulmonary Circulation Is an Important Site for Both Clearance and production of Endothelin-1. *Circulation*. 1996;94:1578-1584. doi:10.1161/01.CIR.94.7.1578

59. Sunches SS, Aybar MJ, Velarde MS, Prado MM, Carrizo T. Relationship between Plasma Endothelin-1 and Glycemic Control in Type 2 Diabetes Mellitus. *Horm Metab Res.* 2001;33:748-751.
60. Dzikowska-diduch O, Domienik-kałowicz J, Demkow U, Pruszczyk P, Kostrubiec M. E-selectin and sICAM-1, biomarkers of endothelial function, predict recurrence of venous thromboembolism. *Thromb Res.* 2017;1-34. doi:10.1016/j.thromres.2017.07.027
61. Jean-Paul Albertini, Paul Valensi, Boris Lormeau, Marie-Helene Aourousseau, Francoise Ferriere, Jean-Raymond Attali LG. Elevated Concentrations of Soluble E-selectin and vascular Cell Adhesion Molecule-1 in NIDDM. *Diabetes Care.* 1998;21(6):1008-1013.
62. Panés J. Moléculas de adhesión: su papel en la fisiopatología y tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal. *Gastroenterol Hepatol.* 1999;22:514-524.
63. Taysy AES. Levels of soluble E-selectin in patients with active Behçet's disease. *Clin Rheumatol.* 2005;24:55-59. doi:10.1007/s10067-004-0982-8
64. Zanni V, Markella, Stanley L, Takara, Makimura, Hideo, Chen Y, Cindy GSK. Effects of TNF-alpha antagonism on E-selectin in obese subjects with metabolic dysregulation. *Clin Endocrinol.* 2010;73(1):48-54. doi:10.1111/j.1365-2265.2009.03741.x.
65. Spadaro S, Fogagnolo A, Campo G, et al. Markers of endothelial and epithelial pulmonary injury in mechanically ventilated COVID-19 ICU patients. *Crit Care.* 2021;25(1):1-9. doi:10.1186/s13054-021-03499-4
66. Término MESH P. Intercellular Adhesion Molecule-1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68018799>.
67. Término MESH P. Vascular Adhesion Molecule-1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=VCAM+1>.
68. Gustafson D, Raju S, Wu R, et al. Overcoming barriers: The endothelium as a linchpin of coronavirus disease 2019 pathogenesis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020;40(8):1818-1829. doi:10.1161/ATVBAHA.120.314558
69. Dyugovskaya L, Lavie P, Lavie L. Increased adhesion molecules expression and production of reactive oxygen species in leukocytes of sleep apnea patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165(7):934-939. doi:10.1164/ajrccm.165.7.2104126
70. Tong M, Jiang Y, Xia D, et al. Elevated expression of serum endothelial cell adhesion molecules in COVID-19 patients. *J Infect Dis.* 2020;222(6):894-898. doi:10.1093/infdis/jiaa349
71. Caligiuri G. CD31 as a therapeutic target in atherosclerosis. *Circ Res.* 2020;126(9):1178-1189.

doi:10.1161/CIRCRESAHA.120.315935

72. Habas K, Shang L. Alterations in intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) in human endothelial cells. *Tissue Cell*. 2018;54(June):139-143. doi:10.1016/j.tice.2018.09.002
73. Smith-Norowitz, Tamar A, Loeffler, Jeffrey, Norowitz, Yitzchok M KS. Intracellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) levels in convalescent COVID-19 serum: a Case report. *Ann Clin Lab Sci*. 2021;51(5):730-734. doi:https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34686518/
74. Grobler C, Maphumulo SC, Grobbelaar LM, et al. Covid-19: The rollercoaster of fibrin(ogen), d-dimer, von willebrand factor, p-selectin and their interactions with endothelial cells, platelets and erythrocytes. *Int J Mol Sci*. 2020;21(14):1-25. doi:10.3390/ijms21145168
75. Soejima K, Nakagaki T. Interplay between ADAMTS13 and von Willebrand factor in inherited and acquired thrombotic microangiopathies. *Semin Hematol*. 2005;42(1):56-62. doi:10.1053/j.seminhematol.2004.09.008
76. Mendolicchio GL, Ruggeri ZM. New perspectives on von Willebrand factor functions in hemostasis and thrombosis. *Semin Hematol*. 2005;42(1):5-14. doi:10.1053/j.seminhematol.2004.09.006
77. Borchiellini A, Fijnvandraat K, Ten Cate JW, et al. Quantitative analysis of von Willebrand factor propeptide release in vivo: Effect of experimental endotoxemia and administration of 1-deamino-8-D-arginine vasopressin in humans. *Blood*. 1996;88(8):2951-2958. doi:10.1182/blood.v88.8.2951.bloodjournal8882951
78. Constans J, Conri C. Circulating markers of endothelial function in cardiovascular disease. *Clin Chim Acta*. 2006;368(1-2):33-47. doi:10.1016/j.cca.2005.12.030
79. Roldán Schilling V, Marín Ortuño F, Pineda Rocamora J, et al. Marcadores de hipercoagulabilidad y daño endotelial en pacientes con disfunción sistólica de origen isquémico. *Rev Española Cardiol*. 2001;54(10):1155-1160. doi:10.1016/s0300-8932(01)76473-1
80. Amit Kumar Mandal , Paulami Dam , Octavio L. Franco , Hanen Sellami , Sukhendu Mandal , Gulden Can Sezgin , Kinkar Biswas , Partha Sarathi Nandi IO. Endothelial cells orchestrate COVID-19 coagulopathy. *Lancet Haemat*. 2020:19-21. doi:10.1016/ S2352-3026(20)30215-5
81. Allerton TD, Proctor DN, Stephens JM, Dugas TR, Spielmann G, Irving BA. L- Citrulline Supplementation: Impact on Cardiometabolic Health. *Nutrients*. 2018;10(921):1-24. doi:10.3390/nu10070921

82. Morita M, Sakurada M, Watanabe F, et al. Effects of Oral L-Citrulline Supplementation on Lipoprotein Oxidation and Endothelial Dysfunction in Humans with Vasospastic Angina. *Immunol Endocr Metab Agents Med Chem.* 2013;13(3):214-220. doi:10.2174/18715222113139990008
83. De Siqueira LT, Bandeira Ferraz AA, Marins Campos J, Machado Ferraz E, Galvão Neto M, Zundel N. Utilización de la citrulina plasmática como marcador de la función intestinal: aplicaciones en trasplante de intestino y otras enfermedades digestivas. *Rev Colomb Cirugía.* 2009;24(4):258-268.
84. Ware LB, Magarik JA, Wickersham N, et al. Low plasma citrulline levels are associated with acute respiratory distress syndrome in patients with severe sepsis. *Crit Care.* 2013;17(1):1-8. doi:10.1186/cc11934
85. Rougé C, Des Robert C, Robins A, et al. Manipulation of citrulline availability in humans. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol.* 2007;293(5):1061-1067. doi:10.1152/ajpgi.00289.2007
86. Mahboobi S, Tsang C, Rezaei S, Jafarnejad S. Effect of l-citrulline supplementation on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Hum Hypertens.* 2018;33(1):10-21. doi:10.1038/s41371-018-0108-4
87. Förstermann U, Li H. Therapeutic effect of enhancing endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression and preventing eNOS uncoupling. *Br J Pharmacol.* 2011;164:213-223. doi:10.1111/j.1476-5381.2010.01196.x
88. Barkhidarian B, Hashemi SI, Shirin S, Nematy M. Effects of Arginine and Citrulline supplementation on inflammatory markers in critically ill patients. *J Nutr Sci Diet.* 2016;2(2):34-39. www.jnsd.tums.ac.ir.
89. Faassen EE Van, Lamers WH, Wijnands KAP, et al. Citrulline a More Suitable Substrate than Arginine to Restore NO Production and the Microcirculation during Endotoxemia. *PLoS One.* 2012;7(5):1-11. doi:10.1371/journal.pone.0037439
90. Ochiai M, Hayashi T, Morita M, et al. Short-term effects of L-citrulline supplementation on arterial stiffness in middle-aged men. *Int J Cardiol.* 2012;155(2):257-261. doi:10.1016/j.ijcard.2010.10.004
91. Correspondance. Patients with COVID-19 present with low plasma citrulline concentrations that associate with systemic inflammation and gastrointestinal symptoms. *Dig Liver Dis.* 2020;52:1104-1105. doi:10.1016/j.dld.2020.06.042
92. Orea-Tejeda Arturo, Orozco-Gutiérrez, Juan José, Castillo-Martínez, Lilia, Keirns Davies Candace, Montano-Hernandez Patricia, Vázquez-Díaz, Oscar, Valdespino-Trejo Adrián,

- Infante, Oscar M-MR. The effect of L-arginine and citrulline on endothelial function in patients in heart failure with preserved ejection fraction. *Cardiology*. 2010;17(5):464-470. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20865676/>.
93. Balderas-munoz K, Castillo-martínez L, Orea-tejeda A, Infante-vázquez O, Utrera-lagunas M, Martínez-memije R. Improvement of ventricular function in systolic heart failure patients with oral L-citrulline supplementation. *Cardiology*. 2012;19(6):612-617. doi:10.5603/CJ.2012.0113
 94. Safi M, Mahjoub MP, Nateghi S, Khareshi ISA, Ali M. The Assessment of short-term effect of L-Citrulline on endothelial function via FMD to NMD ratio in known CAD patients: A randomized , cross-over clinical trial (Clinical trial number : NCT02638727). *ROM J INTERN MED*. 2017;55(1):23-27. doi:10.1515/rjim-2016-0045
 95. Española RA. Definición de edad. <https://dle.rae.es/srv/fetch?id=EN8xfff>. Published 2019.
 96. Española RA. Definición de sexo. <https://dle.rae.es/?id=XIApmpe>. Published 2019.
 97. TG L. Advances in body composition assessment. Current insues in exercise science series. *Heyward VH, Stolarczyk LM*. 1996;3:2-20.
 98. Española RA. Definición de talla. <https://dle.rae.es/?id=YzzJBPM%7CZ00HtVa%7CZ00rdTM>. Published 2019.
 99. Frontera WR, Ochala J. Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function. *Behav Genet*. 2015;45(2):183-195. doi:10.1007/s00223-014-9915-y
 100. Sergi G, De Rui M, Stubbs B, Veronese N, Manzato E. Measurement of lean body mass using bioelectrical impedance analysis: a consideration of the pros and cons. *Aging Clin Exp Res*. 2017;29(4):591-597. doi:10.1007/s40520-016-0622-6
 101. Janssen Ian, Heymsfield Steven B., Baumgartner Richard N. RR. Estimation of skeletal muscle mass by bioelectrical impedance analysis. *J Appl Physiol*. 2000;89:465-471. www.physiology.org/journal/jappl.
 102. Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, et al. Bioelectrical impedance analysis - Part I: Review of principles and methods. *Clin Nutr*. 2004;23(5):1226-1243. doi:10.1016/j.clnu.2004.06.004
 103. Clark, Brian C, Manini Todd M . What is dynapenia? *Nutrition*. 2012;28(5):495-503. doi:10.1016/j.nut.2011.12.002
 104. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, et al. Sarcopenia: Revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing*. 2019;48(1):16-31. doi:10.1093/ageing/afy169
 105. Casas R, Sacanella E, Urpí-Sardà M, et al. The effects of the Mediterranean diet on biomarkers of vascular wall inflammation and plaque vulnerability in subjects with high risk for

- cardiovascular disease. A randomized trial. *PLoS One*. 2014;9(6). doi:10.1371/journal.pone.0100084
106. Haffke M, Freitag H, Rudolf G, et al. Endothelial dysfunction and altered endothelial biomarkers in patients with post-COVID-19 syndrome and chronic fatigue syndrome (ME/CFS). *J Transl Med*. 2022;20(1):1-11. doi:10.1186/s12967-022-03346-2
 107. Ilha AOG, Nunes VS, Afonso MS, et al. Phytosterols supplementation reduces endothelin-1 plasma concentration in moderately hypercholesterolemic individuals independently of their cholesterol-lowering properties. *Nutrients*. 2020;12(5):1-10. doi:10.3390/nu12051507
 108. Kasmay Ö, Ergen N, Bilsel S, et al. Diet-supported aerobic exercise reduces blood endothelin-1 and nitric oxide levels in individuals with impaired glucose tolerance. *J Clin Lipidol*. 2010;4(5):427-434. doi:10.1016/j.jacl.2010.08.001
 109. Hallajzadeh J, Milajerdi A, Kolahehdooz F, Amirani E, Mirzaei H, Asemi Z. The effects of curcumin supplementation on endothelial function: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Phyther Res*. 2019;33(11):2989-2995. doi:10.1002/ptr.6477
 110. Dumont Y, D'Amours M, Lebel M, Larivière R. Supplementation with a low dose of L-arginine reduces blood pressure and endothelin-1 production in hypertensive uraemic rats. *Nephrol Dial Transplant*. 2001;16(4):746-754. doi:10.1093/ndt/16.4.746
 111. Shanely RA, Zwetsloot JJ, Jurrissen TJ, et al. Daily watermelon consumption decreases plasma sVCAM-1 levels in overweight and obese postmenopausal women. *Nutr Res*. 2020;76:9-19. doi:10.1016/j.nutres.2020.02.005
 112. Schwingshackl L, Hoffmann G. Mediterranean dietary pattern, inflammation and endothelial function: A systematic review and meta-analysis of intervention trials. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014;24(9):929-939. doi:10.1016/j.numecd.2014.03.003
 113. Schwingshackl L, Christoph M, Hoffmann G. Effects of olive oil on markers of inflammation and endothelial function—A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2015;7(9):7651-7675. doi:10.3390/nu7095356
 114. Norman K, Stobéaus N, Gonzalez MC, Schulzke J-D PM. Hand grip strength: outcome predictor and marker of nutritional status. *Clin Nutr*. 2011;30(2):135-142.
 115. Leong DP, Teo KK, Rangarajan S, et al. Prognostic value of grip strength: findings from the Prospective Urban Rural Epidemiology (PURE) study. *Lancet*. 2015;6736(14):1-8. doi:10.1016/S0140-6736(14)62000-6
 116. Pérez-Guisado J, Jakeman PM. Citrulline malate enhances athletic anaerobic performance

- and relieves muscle soreness. *J Strength Cond Res.* 2010;24(5):1215-1222. doi:10.1519/JSC.0b013e3181cb28e0
117. Hickner RC, Tanner CJ, Evans CA, et al. L-citrulline reduces time to exhaustion and insulin response to a graded exercise test. *Med Sci Sports Exerc.* 2006;38(4):660-666. doi:10.1249/01.mss.0000210197.02576.da
118. Breuillard C, Cynober L, Moinard C. Citrulline and nitrogen homeostasis: An overview. *Amino Acids.* 2015;47(4):685-691. doi:10.1007/s00726-015-1932-2
119. Bailey SJ, Blackwell JR, Lord T, Vanhatalo A, Winyard PG, Jones AM. L-Citrulline supplementation improves O₂ uptake kinetics and high-intensity exercise performance in humans. *J Appl Physiol.* 2015;119(4):385-395. doi:10.1152/jappphysiol.00192.2014
120. Figueroa A, Jaime SJ, Morita M, Gonzales JU, Moinard C. L-Citrulline supports vascular and muscular benefits of exercise training in older adults. *Exerc Sport Sci Rev.* 2020;48(3):133-139. doi:10.1249/JES.0000000000000223
121. Osowska S, Duchemann T, Walrand S, et al. Citrulline modulates muscle protein metabolism in old malnourished rats. *Am J Physiol - Endocrinol Metab.* 2006;291(3):582-586. doi:10.1152/ajpendo.00398.2005
122. Aguiar AF, Casonatto J. Effects of Citrulline Malate Supplementation on Muscle Strength in Resistance-Trained Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Diet Suppl.* 2021;0(0):1-19. doi:10.1080/19390211.2021.1939473
123. Hafliðadóttir SH, Juhl CB, Nielsen SM, et al. Placebo response and effect in randomized clinical trials: meta-research with focus on contextual effects. *Trials.* 2021;22(1):1-15. doi:10.1186/s13063-021-05454-8
124. Tong M, Yan X, Jiang Y, et al. Endothelial Biomarkers in Patients Recovered from COVID-19 One Year after Hospital Discharge: A Cross-Sectional Study. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2022;14(1):4-11. doi:10.4084/MJHID.2022.033