



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

FACULTAD DE MEDICINA

SECRETARÍA DE SALUD

**INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES  
RESPIRATORIAS**

ISMAEL COSÍO VILLEGAS

ASOCIACIÓN DE BIOMARCADORES DE LESIÓN  
ENDOTELIAL CON LA GRAVEDAD Y MORTALIDAD EN  
PACIENTES CON COVID-19

**TESIS**

PARA OBTENER EL GRADO DE MÉDICO ESPECIALISTA

EN:

**NEUMOLOGÍA**

**PRESENTA**

DRA. EDITH AIMÉ ALARCÓN DIONET

**TUTORA**

DRA. IVETTE BUENDÍA ROLDÁN



CIUDAD DE MÉXICO, OCTUBRE 2021.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

**SECRETARÍA DE SALUD  
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA  
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS  
ISMAEL COSÍO VILLEGAS  
NEUMOLOGÍA**

---

**Dr. Juan Carlos Vázquez García**

Director de Enseñanza  
Profesor titular de la Especialidad de Neumología

---

**Dra. María del Carmen Cano Salas**

Subdirectora de Enseñanza

---

**Dra. Dayanna Lorelly Álvarez Monter**

Jefa del Departamento de Formación de Posgrado

---

**Dra. Ivette Buendía Roldán**

Asesora y tutora de tesis para obtener el título de Especialista en Neumología

## **AGRADECIMIENTOS:**

A Dios, por la vida y las bendiciones que ha puesto en mi camino.

A mis Padres, Edith y Santiago, por su apoyo incondicional y esfuerzo para brindarme educación, principios y valores que me han ayudado a cumplir mis metas.

A mi hija, Giselle, por ser el motor de mi vida y la razón para esforzarme y ser mejor médico y persona.

A mi esposo, Gerardo, por escuchar mis historias de la guardia, por entenderme, apoyarme y hacerme reír todos los días.

A mi hermana, Tania, por motivarme a dar lo mejor de mí y sentirse orgullosa de mis logros.

A mi tutora, Dra. Ivette, por su asesoría, confianza, paciencia y ser una gran maestra y amiga.

Al INER, a todo el personal administrativo, de enfermería, médicos adscritos, compañeros residentes y pacientes, por las lecciones y el aprendizaje obtenido.

# ÍNDICE

RESUMEN	5
INTRODUCCIÓN	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
JUSTIFICACIÓN	11
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	11
HIPÓTESIS	12
OBJETIVOS	12
METODOLOGÍA	12
Diseño de estudio	12
Definiciones	12
Operacionalización de variables	13
Universo de estudio	14
• Criterios de inclusión	15
• Criterios de exclusión	15
Tamaño de muestra	15
Unidad de análisis	15
Procedimiento	15
Análisis estadístico	16
RESULTADOS	17
DISCUSIÓN	27
CONCLUSIONES	29
BIBLIOGRAFÍA	29

## RESUMEN

**INTRODUCCION:** Se han propuesto varios mecanismos mediante los cuales el SARS-CoV-2 activa las vías de daño endotelial: la activación directa con la unión de receptores de membrana como la enzima convertidora de Angiotensina-2 (ECA-2), la activación indirecta de la cascada de citocinas proinflamatorias y acción directa del SARS-CoV-2 sobre las células endoteliales para la activación de las citocinas inflamatorias y protrombóticas.

**OBJETIVO:** Evaluar la correlación de biomarcadores plasmáticos de daño endotelial (Dímero D, P-Selectina, PSGL-1, PAI-1, tPA, Factor IX y sCDL-40) con gravedad y mortalidad en pacientes con COVID-19.

**METODOLOGÍA:** Se realizó un estudio observacional, transversal, descriptivo en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, durante el periodo de julio a diciembre de 2020. Se recolectaron muestras plasmáticas y se recabaron datos clínicos del expediente. La evaluación plasmática de los biomarcadores se realizó mediante citometría de flujo y se realizó el análisis estadístico entre las variables a estudiar.

**RESULTADOS:** Analizamos 130 muestras de pacientes con diagnóstico positivo para SARS-CoV-2 por PCR-RT, con edad promedio de 57 años, predominio del sexo masculino con 70%, mortalidad de 33% y uso de VMI de 71%. De los biomarcadores de daño endotelial encontramos diferencias significativas en el grupo de COVID-19 grave en Dímero D 622 (15-10779) pg/ml vs 354 (9-1584) pg/ml ( $p=0.013$ ), PSGL-1 6095 (2022-14091) pg/ml vs 5165 (3702-11193) pg/ml ( $p=0.014$ ), tPA 2417 (635-12914) pg/ml vs 1516 (613-4206) pg/ml ( $p=0.003$ ), PAI-1 81281 (62547-182852) pg/ml vs 75705 (65955-95946) pg/ml ( $p=0.016$ ) y Factor IX 17955 (7378-66959) pg/ml vs 15820 (10138-39862) pg/ml ( $p=0.023$ ). En la correlación de los días de ventilación mecánica con los biomarcadores de daño endotelial únicamente se encontró correlación positiva débil con tPA, Rho 0.2 ( $p=0.037$ ).

**CONCLUSIONES:** Los pacientes con COVID-19 grave presentan mayor daño endotelial medido mediante los biomarcadores plasmáticos Dímero D, PSGL-1, tPA, PAI-1 y Factor IX. El tPA tiene una correlación positiva débil con el número de días con requerimiento de VMI.

## INTRODUCCIÓN

La COVID-19 es una enfermedad pulmonar causada por la infección del virus SARS-CoV-2, descubierto en diciembre de 2019 en Wuhan, Hubei provincia de China, siendo declarada pandemia por la OMS en enero de 2020 y hasta principios de junio ha dejado 3,730,776 muertos y 173,378,250 infectados alrededor del mundo. <sup>(1)</sup> El cuadro clínico va desde síntomas leves caracterizados por fiebre y tos, hasta formas graves como el síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (SIRA), sepsis y falla orgánica múltiple. <sup>(2)</sup>

Desde su surgimiento hasta la actualidad se desconocen con certeza sus mecanismos fisiopatológicos, sin embargo, se continúan haciendo múltiples investigaciones para conocerlo. Del conocimiento que ha surgido hasta el momento se sabe que intervienen mecanismos propios del epitelio respiratorio causando una inflamación aguda del espacio alveolar que disminuye el intercambio gaseoso, así como trombosis microvascular y daño endotelial. <sup>(3,4)</sup> Se proponen varios mecanismos mediante los cuales el SARS-CoV-2 activa las vías de daño endotelial: la primera posibilidad es la activación directa con la unión de receptores de membrana como la enzima convertidora de Angiotensina-2 (ECA-2), la segunda propuesta es la activación indirecta de la cascada de citocinas proinflamatorias y la tercera posibilidad es la acción directa del SARS-CoV-2 sobre las células endoteliales para la activación de las citocinas inflamatorias y protrombóticas. <sup>(5)</sup>

La disfunción endotelial es caracterizada por un cambio en las funciones de las células endoteliales, incluyendo aumento de la permeabilidad capilar que condiciona fuga vascular y formación de edema, desregulación de la homeostasis entre agentes vasodilatadores y vasoconstrictores, promoción de un estado proinflamatorio, procoagulante y antifibrinolítico; con expresión de moléculas de adhesión, activación de receptores, así como liberación de especies reactivas de oxígeno. <sup>(6,7,8)</sup> El endotelio vascular pulmonar es un órgano especializado que tiene distintas funciones fisiológicas, inmunológicas y de síntesis. (Ver tabla 1)

<b>Tabla 1. Principales funciones del endotelio pulmonar</b>
Barrera y transporte
Síntesis de componen vasoactivos para mantener tono vascular
Defensa del huésped (producción de citocinas y quimiocinas)
Hemostasia y coagulación
Angiogénesis (producción de factores de crecimiento)
Expresión de receptores y señalización para la transducción de moléculas
Expresión de moléculas de adhesión
Producción de especies reactivas de oxígeno

El SIRA se caracteriza por daño al endotelio capilar y alveolar, iniciado por una disrupción de la barrera endotelial que se traduce en el movimiento de líquido y macromoléculas, como albúmina, fibrinógeno, citocinas proinflamatorias y factores de coagulación, al espacio intersticial y alveolar provocando edema pulmonar. La formación de membranas hialinas en las paredes alveolares promueve la migración de neutrófilos, macrófagos alveolares, monocitos, plaquetas y otras proteínas que incrementan la respuesta inflamatoria local con mayor formación de membranas hialinas y subsecuente fibrosis. Los cambios en la microvasculatura en donde juegan un papel central en la respuesta inflamatoria para eliminar agentes patógenos, se logra mediante una permeabilidad a citocinas proinflamatorias como la proteína inflamatoria de macrófagos 2 (MIP-2), interleucina-8 (IL-8), interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10) y factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), permitiendo que las células del sistema inmune innato y las moléculas efectores del sistema inmune humoral lleguen al sitio para frenar la infección. Este mecanismo de defensa se vuelve deletéreo y perpetúa aún más el daño provocando el SIRA.

Además de la inflamación local se liberan a la circulación altos niveles de citocinas anti y proinflamatorias, asociado al daño endotelial provocado por la activación de neutrófilos y expresión de moléculas de adhesión como E-selectina y P-selectina (que son los primeros en activar a los neutrófilos) facilitando su



adhesión y diapédesis a sitios de inflamación. Moléculas como la ICAM-1 (moléculas de adhesión intracelular-1) controlan la adhesión de los neutrófilos al endotelio y facilitar su migración mediante la adhesión a plaquetas mediante PECAM-1 (molécula de adhesión de células plaqueto-endotelial).

En adición a la inflamación, la coagulación y la fibrinólisis son también corresponsables de la respuesta del huésped a la infección. Las células endoteliales coordinan el cambio de un estado normal antitrombótico, antiinflamatorio y profibrinolítico a un estado activo de disfunción endotelial. <sup>(6,9)</sup> Normalmente las células endoteliales regulan la hemostasis produciendo sustancias protrombóticas como factor de Von Willebrand y P-selectina, así como moléculas que inhiben la coagulación como la trombomodulina y factores fibrinolíticos, entre los cuales el principal es el inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1 (PAI-1), del cual su desregulación conduce al cambio de un estado profibrinolítico a un antifibrinolítico. La proteína C es una citocina inflamatoria controladora de la coagulación ya que al activarse y convertirse en proteína C reactiva (PCR), inactiva los cofactores Va y VIIIa e incrementa la exposición del factor tisular sobre los monocitos y macrófagos alveolares. <sup>(2, 6)</sup>

La activación y transmigración de células polimorfonucleares es necesaria para la defensa del huésped. Los neutrófilos activados migran al tejido pulmonar a través del endotelio hacia donde se encuentra el patógeno o insulto. Las selectinas son los mediadores tempranos de la adhesión de las células polimorfonucleares activadas a las células endoteliales en estados de inflamación, se requieren principalmente de tres ligandos para facilitar la adhesión de los leucocitos al endotelio, entre ellos P-selectina expresado en las células endoteliales y las plaquetas, sus niveles séricos se han encontrado incrementados en pacientes con SIRA y se han usado para predecir el desarrollo de SIRA en pacientes críticamente enfermos. <sup>(6,9)</sup>

La P-selectina es una proteína integral de la membrana celular que media la adhesión de las plaquetas activadas y células endoteliales a neutrófilos y monocitos, gracias a la unión con la glicoproteína ligando de P-selectina (PSGL-1), P-selectina promueve la llegada de leucocitos y plaquetas al endotelio

inflamado; y su adhesión para causar mayor daño endotelial, <sup>(10)</sup> por lo que es usado como marcador de daño endotelial y de activación plaquetaria <sup>(4,10)</sup>, encontrándose incrementado en sujetos que requieren hospitalización <sup>(3,11)</sup> mostrando una sensibilidad de 97.5% y especificidad de 80% para el diagnóstico de COVID-19 <sup>(12)</sup>, así como mayor riesgo de mortalidad con un OR de 2.22 [1.29-4.19],  $p=0.007$  <sup>(13)</sup>, por lo que ha sido usado como predictor de severidad y mortalidad en pacientes con SIRA por SARS-CoV-2. <sup>(9,14)</sup>

La hiperactivación plaquetaria juega un papel modulador importante en la endotelopatía por COVID-19, se ha encontrado que presentan una agregación más rápida y mayor dispersión entre el fibrinógeno y el colágeno, contribuyendo a la microangiopatía trombótica. <sup>(4,15)</sup>

Entre otros marcadores de lesión endotelial, se han encontrado niveles incrementados en plasma del activador tisular del plasminógeno (t-PA) en pacientes con COVID-19. <sup>(8,11,16)</sup> Estudios muestran el relevante rol de PAI-1 en la fisiopatología del COVID-19 y su contribución a la deposición anormal de fibrina en el espacio alveolar. Además, se ha demostrado que elevadas concentraciones plasmáticas de PAI-1 pueden predecir progresión a SIRA y mortalidad. <sup>(2,17,18)</sup>

En sujetos que requieren estancia en UCI se han encontrado también incremento en los niveles de sCD40L, un marcador de activación plaquetaria y de células T, <sup>(11)</sup> y se ha asociado a mortalidad con un OR de 1.93 [1.1-3.43],  $p= 0.19$ ). <sup>(13)</sup>

Alteraciones en la coagulación, especialmente mayor concentración sérica de dímero D y de los productos de la degradación de la fibrina como fibrinógeno, está asociado a menor supervivencia en los pacientes con SIRA <sup>(4,16)</sup>, por lo que la terapia anticoagulante es esencial para prevenir las complicaciones protrombóticas sistémicas mediante el uso de heparina de bajo peso molecular. Sin embargo, hay muy poca o nula información con respecto a otros biomarcadores y el posible uso de otros blancos terapéuticos que disminuyan la mortalidad de estos pacientes. <sup>(14)</sup>

Enfermedades crónico-degenerativas como síndrome metabólico, obesidad, hipertensión arterial y diabetes se han asociado a una mayor afección por la COVID-19 así como peor pronóstico. Es bien conocido que estas patologías cursan con un estado proinflamatorio y disfunción endotelial, situación compartida con la patogénesis de la COVID-19, lo cual podría explicar el peor pronóstico en pacientes con dichas comorbilidades. En población mexicana se han descrito marcadores de daño endotelial asociado a mortalidad y formas severas tales como Dímero D, P-selectina y PAI-1. <sup>(17,18)</sup>

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El daño endotelial se ha propuesto como uno de los mecanismos fisiopatológicos que incrementa la mortalidad en pacientes con COVID-19.

Recientemente se ha investigado la utilidad de biomarcadores ya conocidos en la clínica: Dímero D y Fibrinógeno, para predecir distintos desenlaces en pacientes con COVID-19.

Sin embargo, existen otros biomarcadores como PAI-1, tPA, PAI-1 y Factor IX de daño endotelial que no se han asociado a la gravedad y/o mortalidad en estos pacientes.

## **JUSTIFICACIÓN**

Se han postulado múltiples mecanismos fisiopatológicos en COVID-19, entre ellos la liberación de citocinas proinflamatorias y de daño endotelial. Hasta el momento se conoce la asociación de mortalidad entre biomarcadores como P-selectina, Dímero D y fibrinógeno, sin embargo, se desconocen otros.

Es posible evaluar el daño endotelial mediante técnicas moleculares múltiples que permiten en un mismo análisis la cuantificación de diferentes proteínas en plasma y suero, lo cual reduce el tiempo de la prueba, así como la cantidad requerida de muestra.

En México solo se ha reportado un estudio donde se encontró la asociación de biomarcadores de inflamación y algunos de daño endotelial con la severidad y la mortalidad en pacientes con COVID-19.

El conocimiento de otros biomarcadores de daño endotelial como PAI-1, tPA, PAI-1 y Factor IX podrían ayudar a predecir el requerimiento de ventilación mecánica y mortalidad de los pacientes con COVID-19.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Existe correlación entre los niveles plasmáticos de biomarcadores de daño endotelial (Dímero D, P-Selectina, PSGL-1, PAI-1, tPa y Factor IX) con mayor gravedad y mortalidad en pacientes con COVID-19?

## HIPÓTESIS

Los niveles plasmáticos de biomarcadores de daño endotelial (Dímero D, P-Selectina, PSGL-1, PAI-1, tPa y Factor IX) se correlacionan con la gravedad y mortalidad en pacientes con COVID-19

## OBJETIVOS

- General: Evaluar la correlación de biomarcadores plasmáticos de daño endotelial (Dímero D, P-Selectina, PSGL-1, PAI-1, tPa y Factor IX) con gravedad y mortalidad en pacientes con COVID-19
- Secundarios:
  - Identificar la correlación de las comorbilidades (Diabetes, Hipertensión arterial sistémica y Obesidad) con los biomarcadores plasmáticos de daño endotelial pacientes con COVID-19.
  - Correlacionar parámetros de laboratorio (Leucocitos, linfocitos, plaquetas, DHL) con biomarcadores plasmáticos de daño endotelial en pacientes con COVID-19.

## METODOLOGÍA

### Diseño de estudio

Observacional, transversal, descriptivo.

### Definiciones

**Paciente grave con COVID-19:** Paciente con SIRA por COVID-19 y uso de VMI.

**Paciente no grave con COVID-19:** Paciente con SIRA por COVID-19 con uso de oxígeno suplementario mediante otros dispositivos no VMI.

## Operacionalización de variables

Dimensiones	Indicadores	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable
Características demográficas	Género	Género biológico	Masculino Femenino	Categórica Nominal Dicotómica Independiente
	Edad	Años cumplidos		Cuantitativa Continua Independiente
	Enfermedades crónico-degenerativas	Presencia de otras comorbilidades	Diabetes Hipertensión arterial sistémica Obesidad	Categórica Nominal Dicotómica Independiente
	Consumo de tabaco	Consumo de >100 cigarros en su vida	Si No	Categórica Nominal Dicotómica Independiente
Características clínicas	Días de síntomas	Número de días desde el inicio de aparición de síntomas previos a hospitalización		Cuantitativa Discreta Independiente
	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> al ingreso	Relación entre la PaO <sub>2</sub> y la FiO <sub>2</sub> al ingreso de la hospitalización	Expresado en mmHg	Cuantitativa Continua Independiente
	SIRA	De acuerdo con los criterios de Berlín 2012.	Si No	Categórica Nominal Dicotómica Independiente
	Grado de SIRA	De acuerdo con los criterios de Berlín clasificación con respecto a la relación paO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	Leve Moderado Grave	Categórica Ordinal Independiente
	Días de VMI	Número de días que se requirió ventilación mecánica		Cuantitativa continua Independiente

		invasiva		
	Días de hospitalización	Número de días ingresado en hospitalización hasta su desenlace		Cuantitativa continua Independiente
Biomarcadores plasmáticos	P-selectina Dímero D PSGL-1 tPA PAI-1 Factor IX		Cantidad en plasma expresado en pg/ml	Cuantitativa continua Independiente
Laboratorio	Plaquetas Linfocitos Leucocitos DHL		Cantidad sérica	Cuantitativa continua Independiente
Desenlace	Mortalidad		Si No	Categoría Nominal Dicotómica Dependiente
	Gravedad	Requerimiento de ventilación mecánica invasiva	Si No	Categoría Nominal Dicotómica Dependiente

### Universo de estudio

El presente estudio se realizó con información obtenida de la base de datos del estudio "Participación de ACE2 en la modificación del patrón inflamatorio sistémico y de lesión endotelial como factor pronóstico en la infección por SARS-CoV-2 en sujetos con enfermedades respiratorias preexistentes" con aprobación del comité de bioética C53-20 por el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.

- **Criterios de inclusión**
  - Prueba PCR-RT positiva para SARS-CoV-2.
  - Mayores de 18 años.
  - Muestra plasmática.
- **Criterios de exclusión**
  - Datos incompletos en expediente.
  - Motivo de egreso: traslado o alta voluntaria.

### **Tamaño de muestra**

A conveniencia.

### **Unidad de análisis**

- Laboratorio traslacional en envejecimiento y fibrosis pulmonar
- Laboratorio de Investigación en HLA del INER.

### **Procedimiento**

1. Se recolectaron muestras sanguíneas sobrantes del laboratorio clínico del INER durante el periodo Julio a Diciembre de 2020.
2. Se recabaron datos del expediente clínico de los pacientes y se realizó la base de datos en Excel.
3. La evaluación plasmática de los biomarcadores se realizó mediante citometría de flujo utilizando el estándar de panel de trombosis humana LEGENDplex Kit <sup>TM</sup> de BioLegend® Cat. No. 740905 panel de trombosis 7-plex siguiendo las instrucciones sugeridas por el proveedor. Las muestras se leyeron en un equipo CytoFLEX, BECKMAN COULTER®. Brevemente, el plasma se incubó con perlas que se diferencian por tamaño e intensidades de fluorescencia interna. Cada conjunto de perlas se conjuga con un anticuerpo específico en su superficie y actúa como la



perla de captura para ese analito en particular, por lo que cada analito se unirá a su perla de captura específica. Después del lavado, se agrega un cóctel de anticuerpos de detección biotinilados, y cada anticuerpo de detección en el cóctel se unirá a su analito específico unido a las perlas de captura, formando un sándwich de anticuerpos de detección de perla de captura-analito. Posteriormente se agrega estreptavidinificoeritrina (SA-PE) y después de 30 minutos de incubación, se toman muestras en el equipo CytoFLEX para su análisis.

### **Análisis estadístico**

Se evaluó mediante estadística descriptiva, las variables categóricas se expresan en frecuencias y porcentajes. Las variables continuas se expresan utilizando valores de media, desviación estándar, mediana, mínimo y máximo. Para la comparación entre grupos las variables cuantitativas fueron sometidas a test de normalidad de Shapiro Wilk y de acuerdo con su distribución normal o anormal se compararon mediante la prueba T de Student y la prueba U de Mann-Whitney, respectivamente. Las variables categóricas se compararon mediante prueba exacta de Fisher. Las correlaciones de las variables cuantitativas se realizaron mediante coeficiente de Spearman. Se consideró estadísticamente significativo un valor de  $p < 0.05$ . Se realizó la base de datos en Excel® versión 2019 (Microsoft) y se analizó en el programa estadístico SPSS® versión 28.0 para Windows (IBM Corp. ©).

## RESULTADOS

Se analizaron 130 muestras de pacientes con diagnóstico positivo para SARS-CoV-2 por PCR-RT, los cuales fueron divididos en 2 grupos de acuerdo con los objetivos a observar: mortalidad y gravedad, ésta última previamente definida para este estudio, como la presencia de SIRA con requerimiento de ventilación mecánica invasiva (VMI). El total de sujetos de la cohorte tuvieron una edad promedio de 57 años, predominio del sexo masculino con 70%, con mortalidad de 33% y uso de VMI en 71%. El resto de las características clínicas y demográficas se muestran en la tabla 1.

<b>Tabla 1. Características clínicas y demográficas</b>	
	<b>n= 130</b>
<b>Edad (años)</b>	57 ± 13
<b>Género F/M</b>	39.2%/60.7%
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	30± 6
<b>Tabaquismo (%)</b>	31 (23%)
<b>Diabetes (%)</b>	36 (27%)
<b>Hipertensión (%)</b>	44 (33%)
<b>Días inicio de Síntomas</b>	10 ± 4
<b>PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ingreso (mmHg)</b>	175± 69
<b>Uso de VMI (%)</b>	93 (71%)
<b>Días de VMI</b>	13 ± 14
<b>Mortalidad (%)</b>	44 (33%)
<b>Días de hospitalización</b>	20 ± 14

IMC: Índice de Masa Corporal, VMI: Ventilación mecánica invasiva

En la comparación de los sujetos por gravedad, encontramos que la relación PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> de ingreso demostró significancia estadística siendo de 152 ± 63mmHg en los que requirieron VMI vs 225 ± 68mmHg (p=<0.001) en los que no requirieron, así como mayor mortalidad con 44% (p=<0.001) y mayores días de hospitalización (23±14 días vs 13±9 días, p= <0.001). (Ver tabla 2)

<b>Tabla 2. Características demográficas, clínicas y de biomarcadores endoteliales por gravedad</b>			
	<b>No VMI n=37</b>	<b>VMI n=93</b>	<b>p</b>
<b>Edad (años)</b>	54 ± 13	58 ± 13	0.079
<b>Género F/M</b>	44%/56%	37%/63%	0.558
<b>IMC (Kg/m2)</b>	31± 7	30 ± 6	0.516
<b>Tabaquismo (%)</b>	29%	21%	0.364
<b>Diabetes (%)</b>	16%	32%	0.083
<b>Hipertensión (%)</b>	27%	36%	0.412
<b>Obesidad (%)</b>	51%	45%	0.700
<b>Días inicio de Síntomas</b>	9 ± 4	10 ± 5	0.509
<b>PaO2/FiO2 ingreso (mmHg)</b>	225 ± 68	152 ± 63	<0.001*
<b>Días de hospitalización</b>	13 ± 9	23 ± 14	<0.001*
<b>Parámetros de laboratorio</b>			
<b>Leucocitos (10<sup>3</sup>/mm3)</b>	6.6 (4.7-14.3)	10.5 (4.4-29.8)	<0.001*
<b>Linfocitos (10<sup>3</sup>/mm3)</b>	0.8 (0.3-4.9)	0.7 (0.1-3.4)	0.428
<b>Plaquetas (10<sup>3</sup>/mm3)</b>	304 ± 117	282 ± 123	0.231
<b>DHL (U/L)</b>	296 (166-653)	371 (202-1038)	0.005*
<b>Biomarcadores endoteliales</b>			
<b>P-Selectina (pg/ml)</b>	501 (76-4926)	415 (42-12047)	0.237
<b>Dímero-D (pg/ml)</b>	354 (9-1584)	622 (15-10779)	0.013*
<b>PSGL-1 (pg/ml)</b>	5165 (3702-11193)	6095 (2022-14091)	0.014*
<b>tPA (pg/ml)</b>	1516 (613-4206)	2417 (635-12914)	0.003*
<b>PAI-1 (pg/ml)</b>	75705 (65955-95946)	81281 (62547-182852)	0.016*
<b>Factor IX (pg/ml)</b>	15820 (10138-39862)	17955 (7378-66959)	0.023*

\*p<0.05. IMC: Índice de Masa Corporal, DHL: Deshidrogenasa Láctica, PSGL-1: Ligando de P-selectina tipo 1, tPA: activador de plasminógeno tisular, PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1.

En el desenlace de mortalidad, se realizó la comparación entre vivos y muertos, encontrando diferencias significativas en la edad, siendo mayor, 63±14 años en el grupo de pacientes fallecidos vs 54 ±13 años en el grupo de vivos (p=<0.001),

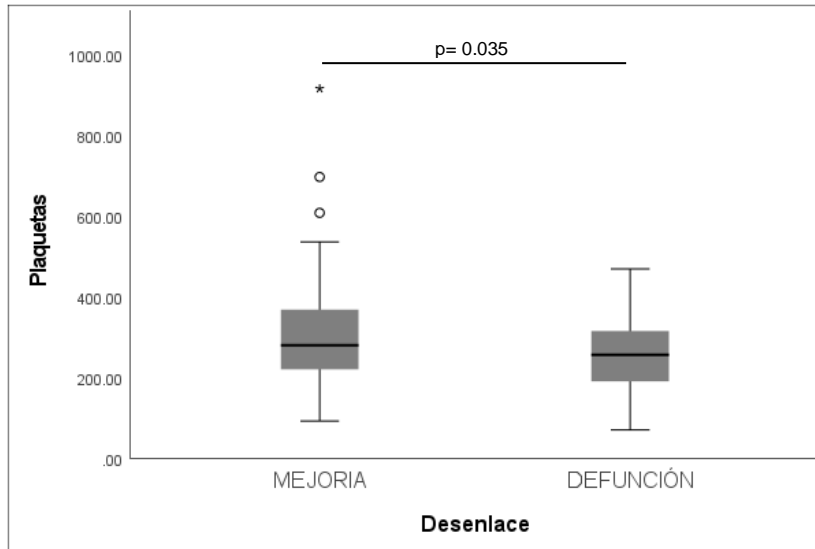
así como la presencia de hipertensión arterial sistémica (50% vs 25%,  $p=0.007$ ), uso de VMI (93% vs 40%,  $p<0.001$ ), los días de requerimiento de VMI ( $20\pm 14$  días vs  $10\pm 12$  días,  $p= <0.001$ ) y la relación PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> de ingreso ( $178 \pm 70$  mmHg vs  $144 \pm 65$  mmHg,  $p= 0.007$ ). (Ver tabla 3)

<b>Tabla 3. Características demográficas, clínicas y de biomarcadores endoteliales por desenlace</b>			
	<b>Vivos n=86</b>	<b>Muertos n=44</b>	<b>p</b>
<b>Edad (años)</b>	54 ± 13	63 ± 14	<0.001*
<b>Género F/M</b>	40%/60%	36%/64%	0.706
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	31 ± 6	30 ± 7	0.415
<b>Tabaquismo (%)</b>	25%	20%	0.664
<b>Diabetes (%)</b>	22%	38%	0.062
<b>Hipertensión (%)</b>	25%	50%	0.007*
<b>Obesidad (%)</b>	46%	47%	0.852
<b>Días inicio de Síntomas</b>	9 ± 4	10 ± 5	0.996
<b>PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ingreso (mmHg)</b>	178 ± 70	144 ± 65	0.007*
<b>Uso de VMI (%)</b>	40%	93%	<0.001*
<b>Días de VMI</b>	10 ± 12	20 ± 14	<0.001*
<b>Días de hospitalización</b>	21 ± 14	20 ± 13	0.906
<b>Parámetros de laboratorio</b>			
<b>Leucocitos (10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	9.3 (4.4-29.8)	10.9 (4.4-27.8)	0.037
<b>Linfocitos (10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	0.8 (0.2-4.9)	0.5 (0.1-3.4)	0.428
<b>Plaquetas (10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	306 ± 131	255 ± 93	0.035*
<b>DHL (U/L)</b>	381 (166-1038)	405 (232-930)	0.105
<b>Biomarcadores endoteliales</b>			
<b>P-Selectina (pg/ml)</b>	517 (76-12047)	355 (42-3679)	0.108
<b>Dímero-D (pg/ml)</b>	479 (9-5532)	657 (62-10779)	0.085
<b>PSGL-1 (pg/ml)</b>	5858 (2022-14091)	6134 (4053-11492)	0.221
<b>tPA (pg/ml)</b>	1933 (613-12188)	2492 (657-12914)	0.074
<b>PAI-1 (pg/ml)</b>	77978 (65436-182852)	81191 (62547-169818)	0.222
<b>Factor IX (pg/ml)</b>	16889 (10138-66959)	18650 (7378-51528)	0.079

\* $p<0.05$ . IMC: Índice de Masa Corporal, DHL: Deshidrogenasa Láctica, PSGL-1: Ligando de P-selectina tipo 1, tPA: activador de plasminógeno tisular, PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1.

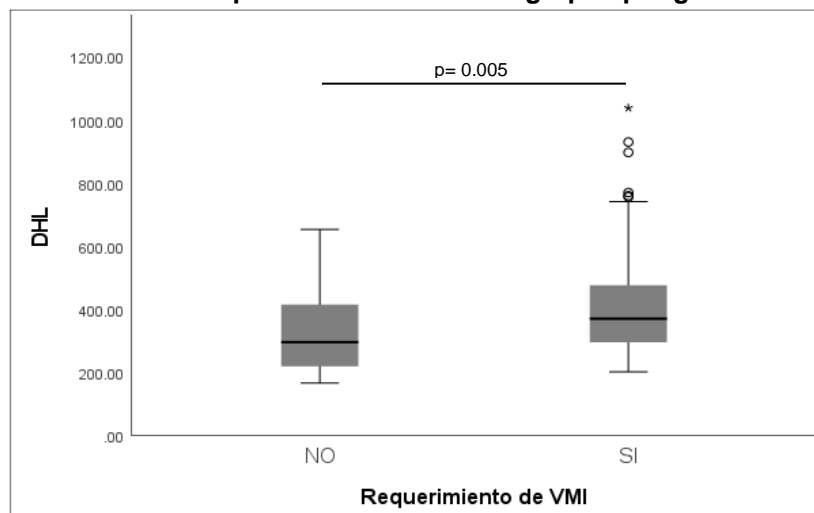
De los parámetros de laboratorio clínico observamos en las tablas 2 y 3 las diferencias entre los grupos, encontrando diferencias significativas entre el desenlace de vivos y muertos en la cifra de plaquetas con  $306 \pm 131$  ( $10^3/\text{mm}^3$ ) vs  $255 \pm 93$  ( $10^3/\text{mm}^3$ ) ( $p= 0.035$ ). (Ver gráfico 1)

**Gráfico 1. Comparación en plaquetas por desenlace**



En el grupo de pacientes graves, de los parámetros de laboratorio clínico encontramos diferencias significativas en la DHL con 371 (202-1038) pg/ml vs 296 (166-653) pg/ml (0.005). (Ver gráfico 2)

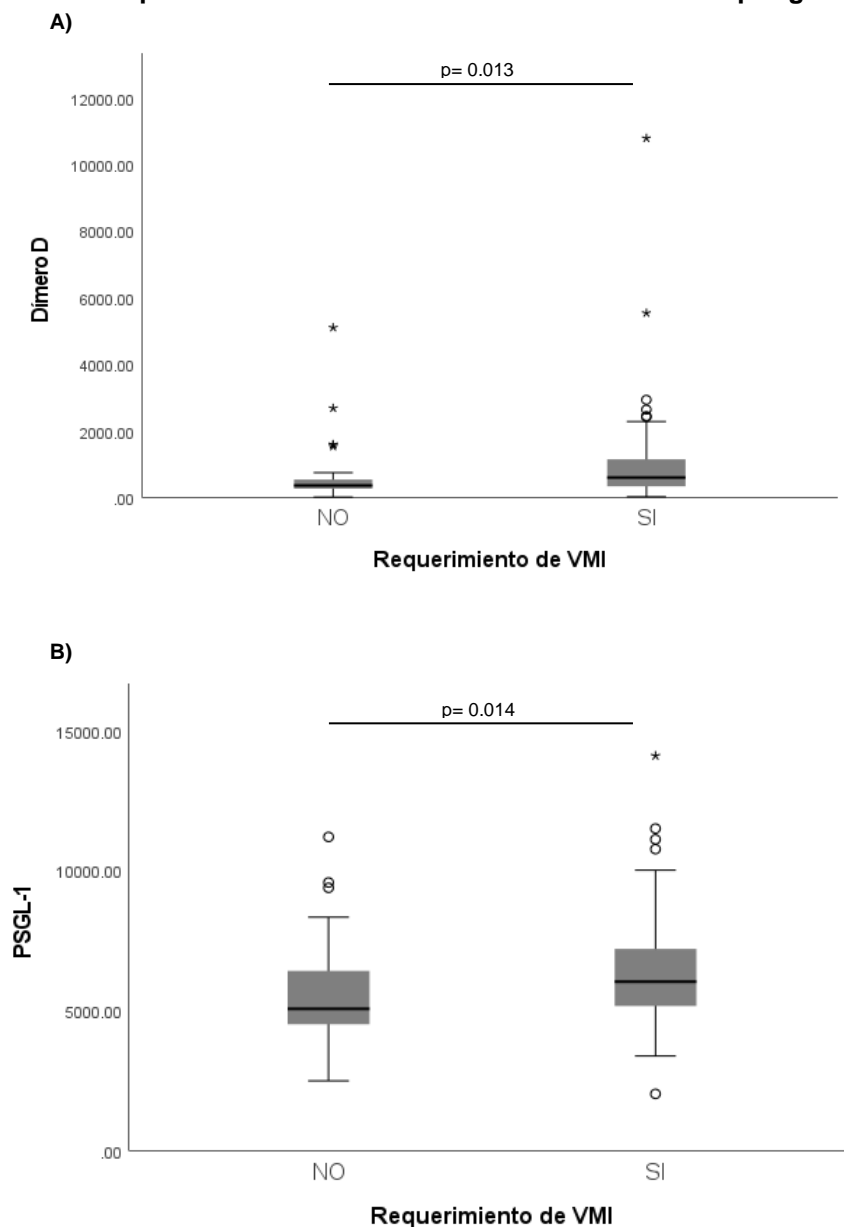
**Gráfico 2. Comparación de DHL entre grupos por gravedad**



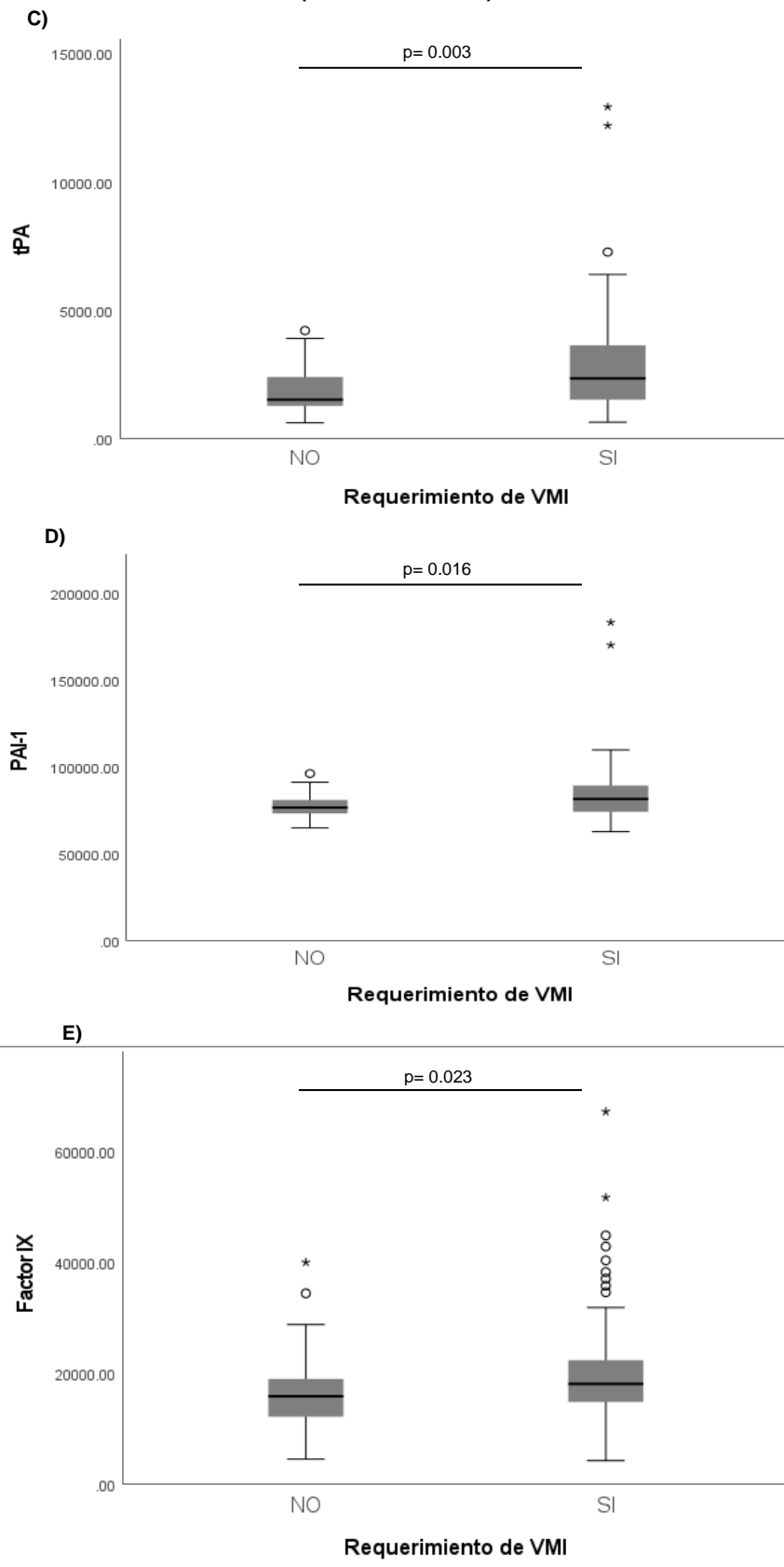
DHL: Deshidrogenasa Láctica, VMI: Ventilación mecánica invasiva

Entre los biomarcadores de daño endotelial presentaron diferencias significativas el grupo de pacientes graves en Dímero D 622 (15-10779) pg/ml vs 354 (9-1584) pg/ml ( $p=0.013$ ), PSGL-1 6095 (2022-14091) pg/ml vs 5165 (3702-11193) pg/ml ( $p= 0.014$ ), tPA 2417 (635-12914) pg/ml vs 1516 (613-4206) pg/ml ( $p0.003$ ), PAI-1 81281 (62547-182852) pg/ml vs 75705 (65955-95946) pg/ml ( $p= 0.016$ ) y Factor IX 17955 (7378-66959) pg/ml vs 15820 (10138-39862) pg/ml ( $p= 0.023$ ). (Ver Gráfico 3)

**Gráfico 3. Comparación de biomarcadores de daño endotelial por gravedad**



**Gráfico 3. Comparación de biomarcadores de daño endotelial por gravedad (...continuación)**



PSGL-1: Ligando de P-Selectina-1, PAI-1: Inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1, tPA: Activador de plasminógeno tisular, VMI: Ventilación mecánica invasiva.

En los pacientes con COVID-19 grave se realizó la comparación, de acuerdo con su desenlace, entre vivos y muertos, en los biomarcadores de lesión endotelial y de laboratorio clínico, encontramos únicamente diferencias significativas en linfocitos con 0.7 (0.2-4.9) ( $10^3/\text{mm}^3$ ) vs 0.5 (0.1-3.4) ( $10^3/\text{mm}^3$ ) ( $p=0.006$ ) y plaquetas con  $304 \pm 106$  ( $10^3/\text{mm}^3$ ) vs  $234 \pm 86$  ( $10^3/\text{mm}^3$ ) ( $p= 0.025$ ). En los biomarcadores endoteliales, así como previamente habíamos descrito en el desenlace de toda la población de estudio, no presentaron diferencias significativas. (Ver tabla 4)

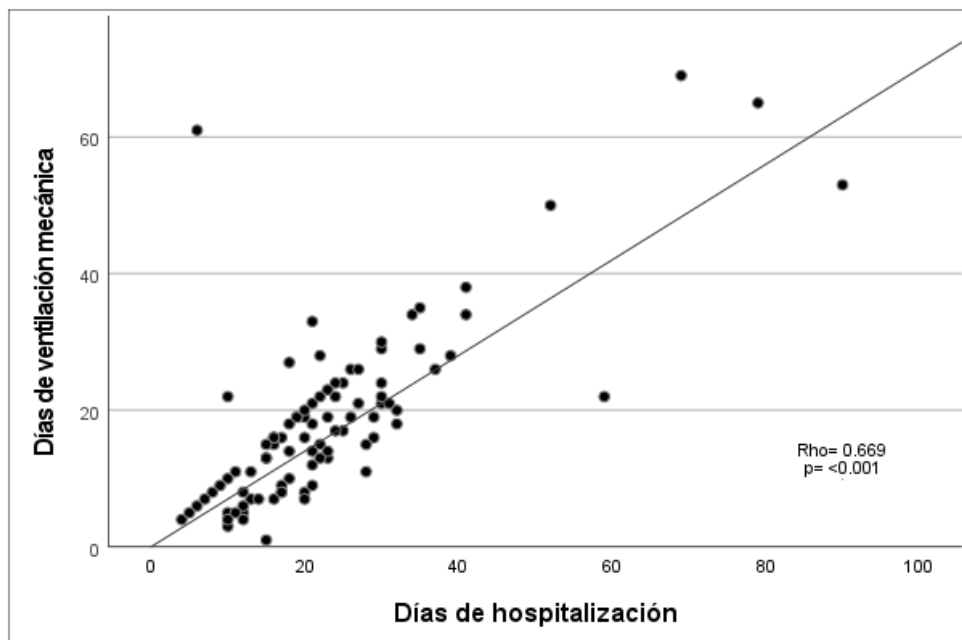
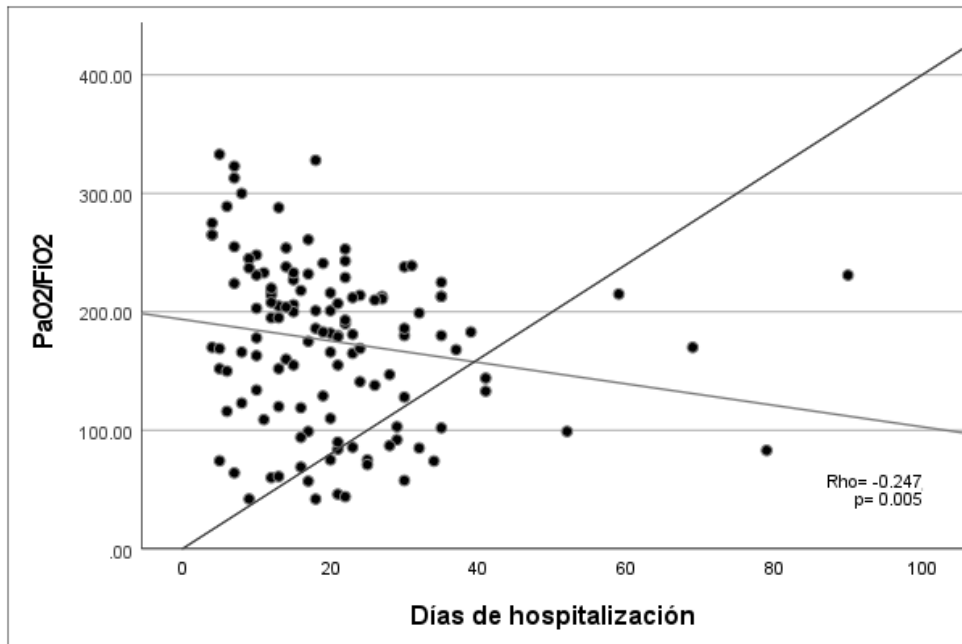
<b>Tabla 4: Comparación de parámetros de laboratorio y biomarcadores endoteliales en pacientes graves</b>			
	<b>Vivos n= 52</b>	<b>Muertos n= 41</b>	<b>p</b>
<b>Parámetros de laboratorio</b>			
<b>Leucocitos (<math>10^3/\text{mm}^3</math>)</b>	10.5 (4.4-29.8)	10.6 (4.4-27.80)	0.834
<b>Linfocitos (<math>10^3/\text{mm}^3</math>)</b>	0.7 (0.2-4.9)	0.5 (0.1-3.4)	0.006*
<b>Plaquetas (<math>10^3/\text{mm}^3</math>)</b>	$304 \pm 106$	$234 \pm 86$	0.025*
<b>DHL (U/L)</b>	365 (202-1038)	388 (232-930)	0.627
<b>Biomarcadores endoteliales</b>			
<b>P-Selectina (pg/ml)</b>	535 (80-12047)	339 (42-3679)	0.405
<b>Dímero-D (pg/ml)</b>	608 (15-5532)	658 (62-10779)	0.596
<b>PSGL-1 (pg/ml)</b>	6095 (2022-14091)	6039 (4053-11492)	0.596
<b>tPA (pg/ml)</b>	2385 (635-12188)	2448 (657-12914)	0.645
<b>PAI-1 (pg/ml)</b>	81728 (65436-182852)	81100 (62547-169818)	0.975
<b>Factor IX (pg/ml)</b>	17748 (10525-66959)	18343 (7378-51528)	0.331

\* $p<0.05$ . DHL: Deshidrogenasa Láctica, PSGL-1: Ligando de P-selectina tipo 1, tPA: activador de plasminógeno tisular, PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1.

Se realizaron correlaciones entre las diferentes variables encontrando una correlación negativa baja entre los días de hospitalización y la relación  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  con un Rho -0.247 ( $p=0.005$ ); y una correlación positiva moderada con los días de requerimiento de ventilación mecánica invasiva con Rho de 0.669 ( $p= <0.001$ ). (Ver Gráfico 4)



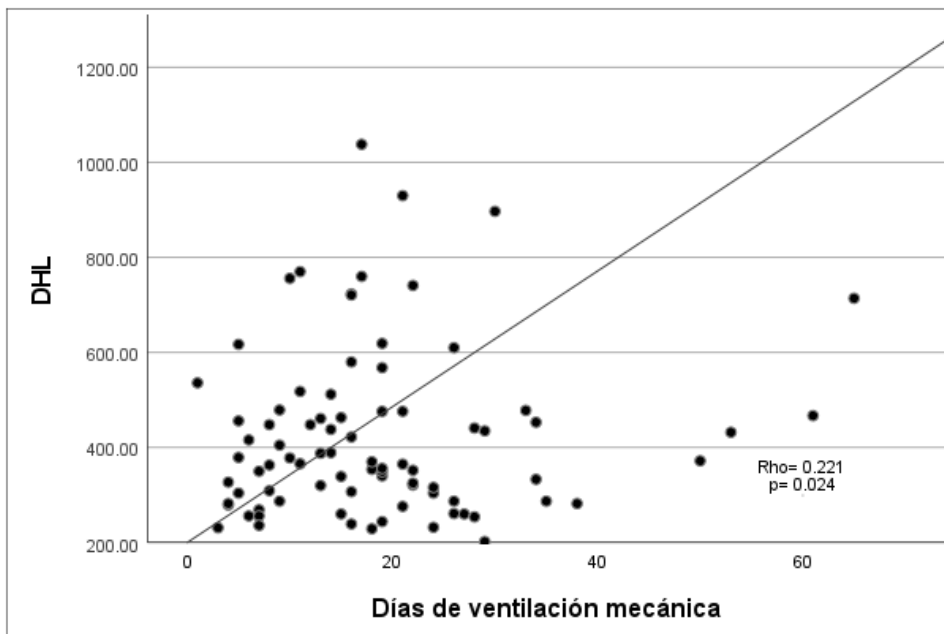
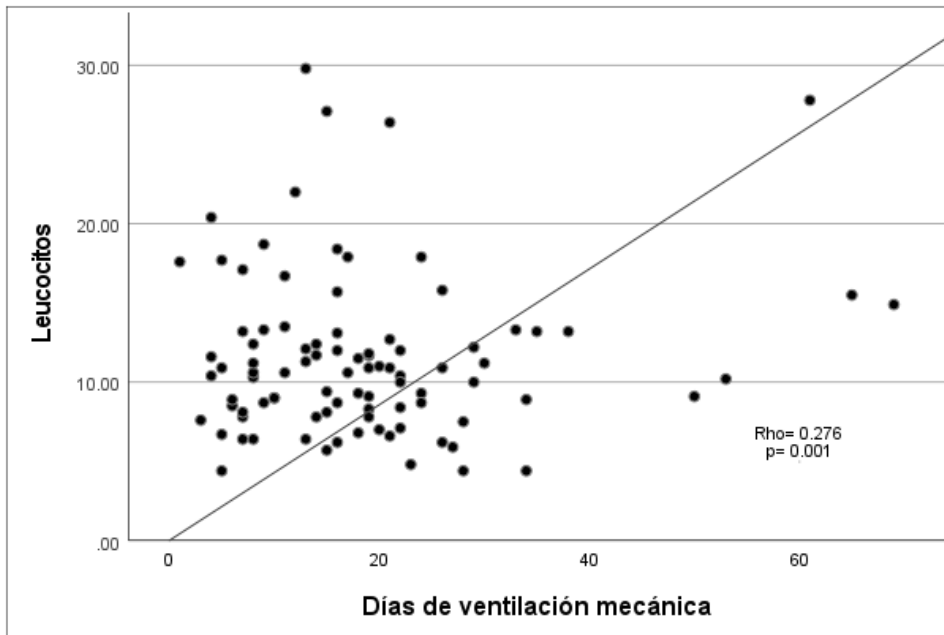
Gráfico 4. Correlación de Días de hospitalización con PaO2/FiO2 y Días de VMI



VMI: Ventilación mecánica invasiva

De las correlaciones entre los parámetros de laboratorio clínico, encontramos una correlación positiva baja entre los días de requerimiento de ventilación mecánica y la cifra de leucocitos con Rho de 0.276 ( $p= 0.001$ ) y con la DHL, Rho de 0.221 ( $p= 0.024$ ). (Ver Gráfico 5)

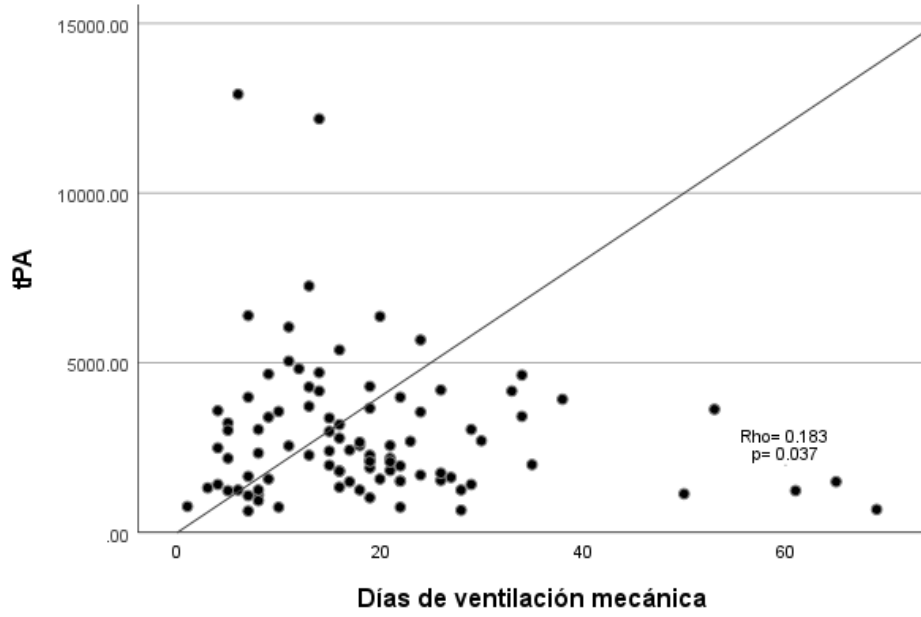
**Gráfico 5. Correlación entre Días de VMI y parámetros de laboratorio**



DHL: Deshidrogenasa Láctica, VMI: Ventilación mecánica invasiva.

En la correlación de los días de ventilación mecánica con los biomarcadores de daño endotelial únicamente se encontró correlación positiva débil con tPA, Rho de 0.183 ( $p= 0.037$ ).

**Gráfico 6. Correlación entre tPA y Días de VMI**



tPA: Activador del plasminógeno tisular, VMI: Ventilación mecánica invasiva.

## DISCUSIÓN

En la pandemia actual por COVID-19, la búsqueda de respuestas sobre los mecanismos fisiopatológicos del SARS-CoV-2, entre ellos la interacción del virus con el endotelio vascular, han propiciado el inicio de nuevas líneas de investigación que puedan ayudar a la supervivencia de los pacientes.

En el presente estudio se analizó la asociación de marcadores de daño endotelial con la mortalidad y la gravedad, definida como pacientes con SIRA con uso de VMI, distinto a lo reportado en la literatura que uno de los desenlaces es la estancia en la unidad de cuidados intensivos (UCI), para nuestro Instituto no es posible realizar dicha agrupación, ya que al ser un centro de referencia de la COVID-19, todas las áreas hospitalarias se han convertido en una UCI.

Se han descrito biomarcadores de daño endotelial asociados a peor pronóstico y mayor mortalidad en pacientes con SIRA por COVID-19, como el Dímero D, ferritina, fibrinógeno y PCR. <sup>(4,16)</sup> En el presente estudio encontramos que pacientes con requerimiento de VMI tienen mayor concentración sérica de Dímero D y contrario a los hallazgos de Tang et al no encontramos diferencias entre los grupos de vivos y muertos. <sup>(16)</sup>

La P-Selectina es un marcador de daño endotelial y de activación plaquetaria; en nuestro grupo de estudio, así como Agrati et al <sup>(3)</sup> no encontramos diferencias en los niveles séricos entre los pacientes que requirieron o no VMI. En los grupos de vivos y muertos, contrario a lo demostrado previamente por Vassiliou et al y Spadaro et al, no hubo diferencias entre ellos. <sup>(9,14)</sup>

Del resto de los biomarcadores de lesión endotelial analizados, no encontramos diferencias entre vivos y muertos, sin embargo, en el grupo de comparación de los pacientes con uso o no de VMI encontramos diferencias en todos ellos, hallazgos que coinciden con Goshua et al que encontraron mayor concentración sérica de PAI-1 en pacientes con días de estancia en UCI. <sup>(11)</sup> En PAI-1 y tPA, Cugno et al también observaron diferencias entre subgrupos de severidad, siendo mayores los niveles en las formas graves. <sup>(8)</sup>

De las correlaciones realizadas encontramos que tPA presenta una correlación positiva débil con el número de días con VMI. Esto pudiera estar explicado porque como se ha revisado previamente el daño al endotelio vascular se encuentra estrechamente relacionado con el daño al epitelio alveolar, lo que podría traducirse en mayor gravedad de SIRA y número de días con VMI.

En los pacientes con SIRA por COVID-19, es bien conocido y lo observamos en nuestros resultados que, el requerimiento de VMI conlleva a un mayor número de días en hospitalización, así como aparición de complicaciones y mortalidad. Como hemos revisado previamente el daño al epitelio alveolar y al endotelio vascular juegan un papel importante en la fisiopatología del SIRA por COVID-19, por lo que el uso de marcadores de daño endotelial como dímero D, PSGL-1, tPA, PAI-1 y Factor IX nos podrían ayudar a predecir el uso de VMI en estos pacientes.

## **CONCLUSIONES**

Los pacientes con COVID-19 grave presentan mayor daño endotelial medido mediante los biomarcadores plasmáticos Dímero D, PSGL-1, tPA, PAI-1 y Factor IX.

El tPA tiene una correlación positiva débil con el número de días con requerimiento de VMI.

1. Dong E, Du H, Gardner L. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *Lancet Inf Dis.* 20(5):533-534. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30120-1 <https://coronavirus.jhu.edu/map.html> [Consultado el 01.06.21]
2. Whyte, C. S., Morrow, G. B., Mitchell, J. L., Chowdary, P., & Mutch, N. J. (2020). Fibrinolytic abnormalities in acute respiratory distress syndrome (ARDS) and versatility of thrombolytic drugs to treat COVID-19. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*, 18(7), 1548–1555. <https://doi.org/10.1111/jth.14872>
3. Agrati, C., Bordoni, V., Sacchi, A., Petrosillo, N., Nicastri, E., Del Nonno, F., D'Offizi, G., Palmieri, F., Marchioni, L., Capobianchi, M. R., Antinori, A., Ippolito, G., & Bibas, M. (2021). Elevated P-Selectin in Severe Covid-19: Considerations for Therapeutic Options. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*, 13(1), e2021016. <https://doi.org/10.4084/MJHID.2021.016>
4. Grobler, C., Maphumulo, S. C., Grobbelaar, L. M., Bredenkamp, J. C., Laubscher, G. J., Lourens, P. J., Steenkamp, J., Kell, D. B., & Pretorius, E. (2020). Covid-19: The Rollercoaster of Fibrin(Ogen), D-Dimer, Von Willebrand Factor, P-Selectin and Their Interactions with Endothelial Cells, Platelets and Erythrocytes. *International journal of molecular sciences*, 21(14), 5168. <https://doi.org/10.3390/ijms21145168>
5. Lowenstein, C. J., & Solomon, S. D. (2020). Severe COVID-19 Is a Microvascular Disease. *Circulation*, 142(17), 1609–1611. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.050354>
6. Vassiliou, A. G., Kotanidou, A., Dimopoulou, I., & Orfanos, S. E. (2020). Endothelial Damage in Acute Respiratory Distress Syndrome. *International journal of molecular sciences*, 21(22), 8793. <https://doi.org/10.3390/ijms21228793>
7. Guervilly, C., Burtey, S., Sabatier, F., Cauchois, R., Lano, G., Abdili, E., Daviet, F., Arnaud, L., Brunet, P., Hraiech, S., Jourde-Chiche, N., Koubi, M., Lacroix, R., Pietri, L., Berda, Y., Robert, T., Degioanni, C., Velier, M., Papazian, L., Kaplanski, G., ... Dignat-George, F. (2020). Circulating Endothelial Cells as a Marker of Endothelial Injury in Severe COVID -19. *The Journal of*

- infectious diseases, 222(11), 1789–1793.  
<https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa528>
8. Cugno, M., Meroni, P. L., Gualtierotti, R., Griffini, S., Grovetti, E., Torri, A., Lonati, P., Grossi, C., Borghi, M. O., Novembrino, C., Boscolo, M., Uceda Renteria, S. C., Valenti, L., Lamorte, G., Manunta, M., Prati, D., Pesenti, A., Blasi, F., Costantino, G., Gori, A., ... Peyvandi, F. (2021). Complement activation and endothelial perturbation parallel COVID-19 severity and activity. *Journal of autoimmunity*, 116, 102560. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102560>
  9. Vassiliou, A. G., Keskinidou, C., Jahaj, E., Gallos, P., Dimopoulou, I., Kotanidou, A., & Orfanos, S. E. (2021). ICU Admission Levels of Endothelial Biomarkers as Predictors of Mortality in Critically Ill COVID-19 Patients. *Cells*, 10(1), 186. <https://doi.org/10.3390/cells10010186>
  10. Neri, T., Nieri, D., & Celi, A. (2020). P-selectin blockade in COVID-19-related ARDS. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, 318(6), L1237–L1238. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00202.2020>
  11. Goshua, G., Pine, A. B., Meizlish, M. L., Chang, C. H., Zhang, H., Bahel, P., Baluha, A., Bar, N., Bona, R. D., Burns, A. J., Dela Cruz, C. S., Dumont, A., Halene, S., Hwa, J., Koff, J., Menninger, H., Neparidze, N., Price, C., Siner, J. M., Tormey, C., ... Lee, A. I. (2020). Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: evidence from a single-centre, cross-sectional study. *The Lancet. Haematology*, 7(8), e575–e582. [https://doi.org/10.1016/S2352-3026\(20\)30216-7](https://doi.org/10.1016/S2352-3026(20)30216-7)
  12. Karsli, E., Sabirli, R., Altintas, E., Canacik, O., Sabirli, G. T., Kaymaz, B., Kurt, Ö., & Koseler, A. (2021). Soluble P-selectin as a potential diagnostic and prognostic biomarker for COVID-19 disease: A case-control study. *Life sciences*, 277, 119634. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119634>
  13. Barrett, T. J., Lee, A. H., Xia, Y., Lin, L. H., Black, M., Cotzia, P., Hochman, J., & Berger, J. S. (2020). Platelet and Vascular Biomarkers Associate With Thrombosis and Death in Coronavirus Disease. *Circulation research*, 127(7), 945–947. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.317803>



14. Spadaro, S., Fogagnolo, A., Campo, G., Zucchetti, O., Verri, M., Ottaviani, I., Tunstall, T., Grasso, S., Scaramuzzo, V., Murgolo, F., Marangoni, E., Vieceli Dalla Sega, F., Fortini, F., Pavasini, R., Rizzo, P., Ferrari, R., Papi, A., Volta, C. A., & Contoli, M. (2021). Markers of endothelial and epithelial pulmonary injury in mechanically ventilated COVID-19 ICU patients. *Critical care (London, England)*, 25(1), 74. <https://doi.org/10.1186/s13054-021-03499-4>
15. Venter, C., Bezuidenhout, J. A., Laubscher, G. J., Lourens, P. J., Steenkamp, J., Kell, D. B., & Pretorius, E. (2020). Erythrocyte, Platelet, Serum Ferritin, and P-Selectin Pathophysiology Implicated in Severe Hypercoagulation and Vascular Complications in COVID-19. *International journal of molecular sciences*, 21(21), 8234. <https://doi.org/10.3390/ijms21218234>
16. Tang, N., Li, D., Wang, X., & Sun, Z. (2020). Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*, 18(4), 844–847. <https://doi.org/10.1111/jth.14768>
- 17.1. Amraei, R., & Rahimi, N. (2020). COVID-19, Renin-Angiotensin System and Endothelial Dysfunction. *Cells*, 9(7), 1652. <https://doi.org/10.3390/cells9071652>
18. Lopez-Castaneda, S., García-Larragoiti, N., Cano-Mendez, A., Blancas-Ayala, K., Damian-Vázquez, G., Perez-Medina, A. I., Chora-Hernández, L. D., Areal-Martínez, C., & Viveros-Sandoval, M. E. (2021). Inflammatory and Prothrombotic Biomarkers Associated With the Severity of COVID-19 Infection. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis: official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 27, 1076029621999099.