



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO**

**MARCADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES CON  
SARS-CoV-2 POSITIVOS**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL:  
TÍTULO DE ESPECIALISTA**

**EN:  
MEDICINA INTERNA**

**PRESENTA:  
OSCAR DE JESÚS GAMBOA HERNÁNDEZ**

**TUTOR-DIRECTOR DE TESIS:  
DRA. NAYELI GORETI NIETO VELÁZQUEZ**



**CIUDAD DE MÉXICO, 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.



## AUTORIZACIÓN DE TESIS

TÍTULO DE TESIS:

**MARCADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES CON SARS-COV -2 POSITIVOS**

Número de registro:

**HJM 243/21-R**

Oscar de Jesús Gamboa Hernández

1.- NOMBRE Y FIRMA DEL(LA) TESISISTA

Nayeli Goreti Nieto Velázquez

2.- NOMBRE Y FIRMA DIRECTOR/A (ASESOR CLÍNICO) DE TESIS

Nayeli Goreti Nieto Velázquez

3.- NOMBRE Y FIRMA DEL DIRECTOR/RA (ASESOR) METODOLÓGICO DE TESIS

Dra. Erika Gómez Zamora

4.- NOMBRE Y FIRMA SUBDIRECTOR/A DE ENSEÑANZA H.J.M.

Dr. Erik Efraín Sosa Durán

5.- NOMBRE Y FIRMA JEFE/A DEL SERVICIO DE POSGRADO



## DEDICATORIA

- A mis padres por el apoyo incondicional brindado desde el inicio de mis estudios, ellos han sido mi motor de superación y faro de múltiples enseñanzas.
- A mi abuelo por heredarme los valores, constancia y empeño a todo lo realizado.

## **AGRADECIMIENTOS**

- Al Hospital Juárez de México y a sus pacientes por la oportunidad de realizar este estudio, por dejarme formar parte de esta gran Institución de renombre internacional.
- A los profesores que me han guiado por estos 4 años, sus consejos fueron de gran ayuda.
- A la Dra. Nayelí Nieto por todo su apoyo y tiempo en el desarrollo de este protocolo.
- A Eugenia por ser parte de este camino de mejora constante, por sus consejos y apoyo.

# ÍNDICE

DEDICATORIA.....	5
AGRADECIMIENTOS .....	6
RESUMEN.....	9
MARCO TEÓRICO .....	10
PATOGENIA.....	11
RESPUESTA INFLAMATORIA .....	11
TROMBOSIS .....	12
SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA .....	13
MARCADORES DE INFLAMACION .....	14
<i>Proteína C reactiva (PCR).</i> - .....	14
MRP8/14.- .....	14
<i>IL-6.</i> - .....	15
<i>IL-4.</i> - .....	15
<i>IL-2.</i> - .....	16
<i>Fibrinógeno.</i> -.....	16
<i>NGAL.</i> - .....	16
<i>MMP-2:</i> .....	17
<i>Osteopontina (OPN).</i> - .....	17
<i>Factor de necrosis tumoral alpha (TNF-α).</i> - .....	17
<i>Procalcitonina.</i> -.....	17
JUSTIFICACIÓN .....	18
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	19
OBJETIVOS .....	19
METODOLOGÍA .....	19
<i>Diseño de la investigación</i> .....	19
EL ESTUDIO PROPUESTO ES PROSPECTIVO, OBSERVACIONAL, ANALÍTICO Y LONGITUDINAL. ....	19
<i>Definición de la población</i> .....	19
<i>Tamaño de la muestra</i> .....	20
<i>Criterios de inclusión</i> .....	20
<i>Criterios de no inclusión</i> .....	20
<i>Criterios de exclusión</i> .....	20
REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO. ....	20
PROBLEMAS TÉCNICOS EN EL PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA.....	20
PRUEBA RT-PCR NEGATIVA PARA SARS-COV-2. ....	20
DEFINICIÓN DE VARIABLES .....	20
<i>Marcadores en suero de Inflamación:</i> .....	21
<i>Co-variables:</i> .....	21
TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN .....	21
<i>Toma y procesamiento de las muestras.</i> .....	21
<i>Determinación de moléculas de inflamación</i> .....	22
<i>Determinación de citocinas en suero por citometría de flujo</i> .....	22
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS .....	23
RECURSOS.....	23



<b>ASPECTOS ÉTICOS.....</b>	<b>23</b>
<b>ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD .....</b>	<b>24</b>
<b>ARTÍCULO 17.-.....</b>	<b>25</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>26</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>39</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>40</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>46</b>

# MARCADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES CON SARS-COV -2 POSITIVOS

## RESUMEN

El SARS-CoV-2 es la quinta pandemia desde 1918, desde los primeros informes de una nueva enfermedad respiratoria viral que surgió en diciembre de 2019 en la provincia de Hubei, China, la enfermedad se ha extendido a proporciones pandémicas, infectando a decenas de millones de personas en todos los continentes poblados y responsable por más de dos millones de muertes. La característica más llamativa de la enfermedad es su heterogeneidad, que va desde la ausencia de síntomas hasta la enfermedad crítica. La edad avanzada, el sexo masculino y las comorbilidades (incluyendo hipertensión, diabetes, enfermedades cardiovasculares, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad renal crónica y enfermedad hepática crónica) se han asociados con peores desenlaces.

El mecanismo exacto de la lesión vascular en COVID-19 sigue bajo investigación y la presencia de inflamación vascular pueden actuar como marcadores de resultados adversos y/o un riesgo de mortalidad en pacientes con COVID-19.

Por lo tanto, nos enfocaremos en el estudio de marcadores inflamación vascular en pacientes con COVID-19. Para lo cual, durante 3 meses, se realizará una toma de 2 - 4 ml de sangre venosa periférica en tubos con Heparina, a los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión y se obtendrá el suero, las muestras se almacenarán a -70°C hasta su análisis.

## MARCO TEÓRICO

Los coronavirus están asociados a infecciones en animales y humanos y no fueron considerados patógenos hasta el brote del síndrome respiratorio agudo severo (SARS) en 2002 y 2012, en China. Años después en 2010 surgió en Oriente Medio un nuevo coronavirus (MERS-CoV), ambos con afinidad por tejido pulmonar a través de receptores ACE 2 y DPP4 respectivamente [1].

Los coronavirus son miembros de la familia *Coronaviridae* y orden *Nidovirales*. Esta subfamilia consta de 4 géneros, *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus*. Con base a sus relaciones filogenéticas y estructuras genómicas [2]. Los alfacoronavirus y betacoronavirus infectan sólo a mamíferos, mientras que gammacoronavirus y deltacoronavirus afectan aves y mamíferos. Los alfacoronavirus y betacoronavirus son conocidos por causar enfermedades respiratorias y gastrointestinales en humanos y animales. SARS-CoV y MERS-CoV causan un síndrome respiratorio severo en humanos. Las bases de datos registradas apuntan al origen animal de todos los coronavirus humanos, principalmente en murciélagos [3].

En Diciembre del 2019 apareció un nuevo coronavirus, convirtiéndose en la quinta pandemia después de la pandemia de gripe en 1918. El primer caso se reportó en Wuhan China, con un inicio de síntomas el 1 de Diciembre del 2019. Al principio, la enfermedad fue denominada Neumonía de Wuhan y posterior a la secuenciación del genoma completo se demostró una nueva cepa [4]. La Organización la nombró provisionalmente nuevo coronavirus 2019 (2019-nCoV) y en Enero del 2020, se nombró oficialmente enfermedad infecciosa por coronavirus 2019 (COVID-19), más tarde el Comité Internacional sobre Taxonomía de Virus oficialmente lo designó como SARS-CoV-2 basándose en la filogenia, taxonomía y la práctica establecida [5]. Desde su surgimiento en China el virus se esparció rápidamente por todos los continentes a lo largo del mundo y en Marzo del 2020 la OMS caracterizó a este fenómeno como pandemia [6].

SAR COV 2 es un betacoronavirus, con envoltura, de secuencia muy similar a SARS COV 1 con una similitud del 80%. La envoltura viral está recubierta por la glicoproteína spike (S), proteínas de la envoltura (E) y de la membrana (M). La entrada del virus a la célula huésped está mediada por la proteína S a través del receptor ACE2, que se une al dominio de peptidasa de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE 2) [7]. La ruta de transmisión es a través de gotas respiratorias infectadas, la infección se produce con el contacto directo o indirecto con la mucosa nasal, conjuntival u oral. Los receptores se encuentran principalmente en el epitelio del tracto respiratorio desde la orofaringe y vías respiratorias superiores. La transmisión es favorecida en espacios cerrados, pobremente ventilados y en multitudes [8].

## PATOGENIA

El SARS-CoV 2 se une al ECA y se inicia la replicación activa, con la liberación del virus en células pulmonares aparecen síntomas inespecíficos como mialgias, fiebre, cefalea y síntomas respiratorios. Este receptor se encuentra en el epitelio de otros órganos como el intestino, células endoteliales del riñón y vasos sanguíneos, lo que explica los síntomas gastrointestinales y las complicaciones cardiovasculares [9]. La principal patología por COVID 19 es la infección de las vías respiratorias por un síndrome respiratorio agudo severo resultante de exceso de inflamación, enfermedad respiratoria con tormenta de citocinas y síndrome de dificultad respiratoria aguda [7].

## RESPUESTA INFLAMATORIA

El endotelio vascular mantiene la homeostasis inmunológica, vías tromboticas y fibrinolíticas. Secundario a SARS-CoV-2 se genera la desregulación de estas vías, provocando una enfermedad grave con alteraciones clínicas caracterizadas por desequilibrio inmune, activación del SRAA y un estado protrombótico. La acumulación de evidencia, imágenes y observación clínicas han aclarado a COVID 19 como una enfermedad vascular [10]. SARS-CoV-2 utiliza ACE 2 para facilitar la entrada a células diana y facilitar la infección, mediada por serina proteasa de transmembrana 2 (TMPRAS2) y catepsina L que escinden la proteína S en la partícula viral para permitir el acoplamiento con ACE2 [11].

Las células endoteliales y pericitos cardíacos expresan ACE 2 convirtiéndolas en objetivo directo de la infección por SARS-COV 2. El lecho vascular pulmonar muestra graves alteraciones comparadas con pacientes infectados de influenza, presentando trombosis, microangiopatía generalizada, activación endotelial y angiogénesis extensa[12]. Estos hallazgos establecen el papel de SARS COV 2 en la lesión del sistema vascular con disfunción vascular importante [13], relacionado con la tormenta de citocinas, síndrome de activación de macrófagos, estado hiperinflamatorio con consiguiente disfunción endotelial [14]. La activación endotelial secundario a mediadores inflamatorios como IL1, IL6, PAMS, DAMS, promueve la inflamación localizada que inducen la expresión génica proinflamatoria promoviendo el reclutamiento de células inflamatorias a tejidos infectados, así mismo hay fuga vascular secundario a la permeabilidad endotelial, alterando la capacidad trombótica de la superficie. Esto junto con la activación de neutrófilos conduce a trampas extracelulares de neutrófilos contribuyendo a la respuesta a patógenos y trombosis [15].

También hay activación del TLR, por el reconocimiento viral, con aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno [16]. Una respuesta inmune aumentada y un estado protrombótico secundario a mediadores innatos conducen a una cascada promueven disfunción y daño profundo micro y macrovascular de la células endotelial con otras funciones del endotelio. Las células endoteliales pulmonares tienen un papel importante en la vigilancia inmunológica, mantienen la integridad alveolar y aseguran el intercambio adecuado de oxígeno. La infección viral directa y la respuesta inflamatoria sistémica podrían conducir a disfunción grave de células endoteliales agravando la hipoxia, dificultad respiratoria [17].

## TROMBOSIS

El endotelio forma papel clave entre el mantenimiento de la homeostasis sistemas procoagulantes y fibrinolíticos en el sistema vascular. El endotelio forma una barrera ente el subendotelio y los factores procoagulantes. En estados de estrés las células

endoteliales expresan más inhibidor 1 del plasminógeno, factor tisular y liberan FVW, además reducen la actividad de la trombomodulina y activador tisular del plasminógeno favoreciendo la formación de trombos, así mismo los efectores inmunitarios pueden propagar la trombosis como la formación de NET. Estos cambios conducen a la disfunción endotelial, la activación de de la cascada de coagulación, supresión de mecanismo fibrinolíticos con un medio protrombótico resultante [18], que conducen a enfermedad trombótica tanto microvascular como macrovascular difusa en el paciente [19]. Pacientes con COVID 19 tienen un aumento de el fibrinógeno, productos de degradación de fibrina, dimero D, factor VW y estas elevaciones se relacionan con la gravedad de la enfermedad y el riesgo trombótico [20,21].

Hay evidencia de una alta incidencia de trombosis venosa profunda así como trombosis arterial pulmonar in situ por un estado procoagulante. Se ha encontrado embolia pulmonar en hospitalizados especialmente graves y aquellos que no reciben anticoagulación profiláctica [22], así como un aumento de la incidencia de accidentes cerebrovasculares, siendo un factor de riesgo cerebrovascular [23].

#### SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA

ACE 2 juega papel contraregulador del SRAA pues escinde la angiotensina II en angiotensina I y esta última en angiotensina. Producto de estas reacciones se generan péptidos con potentes propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y antifibróticas. SARS COV 2 limita la expresión de ACE2 al promover su escisión por la desintegración de proteinasa A especializada y metaloproteinasa 17 su desprendimiento de la superficie celular, lleva a un reducción del papel protector de esta última [24].

Este proceso provoca efectos deletereos sobre el sistema cardiovascular a través de receptores de angiotensina II tipo 1, activando vías vasoconstrictoras inflamatorias y fibróticas, mismas que entorpecen funciones endoteliales como reclutamiento de monocitos, formación de ROS, activación de vías proinflamatorias (NF-kB) así como

producción de los inhibidores del activador del plasminógeno en las células endoteliales [25].

Se encontró mayor activación de SRAA en pacientes con SARS COV 2, así mismo la alteración de la regulación de la Angiotensina II contribuye al estrés oxidativo en el endotelio, con aumento de las especies reactivas de oxígeno. [26].

## MARCADORES DE INFLAMACIÓN

Los marcadores sanguíneos pueden clasificarse en tres tipos diferentes: marcadores de riesgo, marcadores clínicos o diagnósticos y marcadores pronósticos. En el contexto de las enfermedades cardiovasculares, los marcadores sanguíneos analizados habitualmente informan, sobre todo, el estado inflamatorio de los vasos sanguíneos [27].

Entre los principales marcadores sanguíneos de inflamación vascular se encuentran los siguientes:

**Proteína C reactiva (PCR).**- Es una proteína inflamatoria de fase aguda homopentamérica, cuyos niveles aumentan en respuesta a una lesión, infección o inflamación. La PCR es el principal marcador inflamatorio de la respuesta de fase aguda y se sintetiza principalmente por biosíntesis hepática dependiente de IL-6. Activa la fase líquida y fase mediada por células del complemento y se une a la porción Fc de IgG que conduce a la liberación de citocinas proinflamatorias. Esta molécula no sólo es un marcador de inflamación sino que juega un papel activo en el proceso de inflamación pues inhibe la producción de óxido nítrico mediante la regulación a la baja de eNOs en células endoteliales provocando una función alterada de las mismas, suprimiendo la dilatación vascular [28].

**MRP8/14.**- Son dos proteínas de unión a calcio que pertenecen a la familia de proteínas S100. Las dos proteínas pueden formar complejos, particularmente un heterodímero que también se expresa en la superficie de los monocitos infiltrantes en inflamaciones agudas. La formación del heterodímero está notoriamente ausente en las lesiones inflamatorias crónicas, pero se ha reportado que los monocitos expresan MRP8 o MRP14 y no ambos como en la inflamación aguda. En todos los modelos de

inflamación probados hasta ahora, las células que llegaron primero a la lesión fueron positivas para MRP8 y MRP14. El MRP8/14, que es idéntico al antígeno de la fibrosis quística, también se encuentra en los fluidos corporales en condiciones inflamatorias y, por tanto, puede considerarse como un marcador de inflamación muy sensible. Los complejos MRP8/14 solubles pueden ejercer diferentes funciones, como: la inhibición de caseína cinasas, la unión a proteínas del citoesqueleto y efectos antimicrobianos. MRP8 y MRP14 representan así dos nuevos parámetros moleculares de los eventos tempranos de reacciones inflamatorias que revelan aspectos interesantes de las reacciones inflamatorias crónicas [29].

IL-6.- Es una citocina circulante secretada en gran parte por macrófagos y linfocitos activados. Las actividades biológicas de IL-6 se inician tras su unión a un complejo receptor de alta afinidad que consta de dos glicoproteínas de membrana. La IL-6 junto con otras proteínas inflamatorias son mediadores sistémicos de la respuesta aguda a la infección y la inflamación [28].

IL-4.- La interleucina-4 es una citocina tipo I pleiotrópica multifuncional secretada por células T auxiliares activadas, basófilos, eosinófilos y mastocitos. Funcionalmente, la IL-4 induce la diferenciación de células T vírgenes estimuladas por antígeno a un fenotipo Th2. También regula el cambio de clase de inmunoglobulina para que los linfocitos B expresen IgE, regula la apoptosis, la proliferación celular y la expresión de varios genes en diferentes tipos de células, como fibroblastos, macrófagos, células endoteliales y epiteliales.

La evidencia reciente sugiere un papel potencial para la IL-4 en la generación de un entorno proinflamatorio en las células endoteliales vasculares. Estas alteraciones incluyen un cambio del fenotipo anticoagulante a un estado procoagulante, aumento de la producción de sustancias vasoactivas, expresión de moléculas de adhesión celular, síntesis de mediadores inflamatorios que incluyen quimioatrayentes y disfunción de la barrera endotelial que causa fuga microvascular. La IL-4 tiene efectos proaterogénicos e induce la apoptosis de las células endoteliales, lo que provoca un aumento del recambio de células endoteliales [30,31].



IL-2.- La interleucina-2 es una citocina pleiotrópica de cuatro haces helicoidales tipo 1, es producida principalmente por los linfocitos T CD4, después de su activación por el antígeno que impulsa el crecimiento de las células T, aumenta la actividad citolítica de NK, induce la diferenciación de las células T reguladoras y media la muerte celular inducida por la activación. Así mismo provoca la activación de al menos tres vías principales de señalización: fosfoinositol 3-quinasa, MAP quinasa y JAK-STAT, juntas, estas tres vías de señalización median el crecimiento celular, la supervivencia, la muerte celular inducida por activación y diferenciación celular. La IL-2 también regula la respuesta inmunitaria, interviene en la respuesta inflamatoria estimulando la síntesis de interferón, induce la liberación de IL-1, TNF-alfa y TNF-Beta [32,33].

La gravedad de las enfermedad endotelial guarda relación con la afección vascular, por ello los marcadores de daño vascular destacan en el diagnóstico y pronóstico de estas enfermedades. Entre los principales marcadores sanguíneos de daño endotelial se encuentran los siguientes:

Fibrinógeno.- Es una molécula esencial para la formación del coágulo sanguíneo. La concentración de esta molécula es un reflejo de la capacidad de coagulación del organismo. Se considera un marcador de la fase aguda, es decir, sus niveles pueden aumentar de manera evidente ante cualquier situación que cause inflamación o lesión en los tejidos. Se ha relacionado el fibrinógeno y los productos de degradación en la regulación de la respuesta inflamatoria en varios tejidos y están asociados con su capacidad de unirse y activar una amplia gama de células inmunes a través de distintas interacciones ligando- receptor. El aumento de contenido del fibrinógeno en sangre se considera un indicador de un estado proinflamatorio y marcador de alto riesgo para desarrollar enfermedades vasculares inflamatorias [34].

NGAL.- La lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL) es una pequeña glucoproteína expresada en células endoteliales, hepáticas, músculo liso, cardiomiocitos, neuronas y células inmunes, Se ha demostrado que los niveles séricos o plasmáticos de NGAL se correlacionan con otros marcadores inflamatorios como TNF- $\alpha$ , PCR, IL-6 y número de leucocitos en la insuficiencia cardíaca y otras patologías inflamatorias. La expresión de NGAL puede ser inducida por varios

estímulos proinflamatorios como LPS, IL-1 $\beta$ , IL-6,IL-17, IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ , según el tipo de célula. Además la expresión de NGAL está regulada positivamente por la activación de la vía NF- $\kappa$ B, como IL8 e inducir la expresión de moléculas proinflamatorias como IL8, IL-6, IL1- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  y MCP-1, estos datos sugieren un círculo vicioso en el que NGAL se sobreexpresa en condiciones inflamatorias y pueden a su vez potenciar la inflamación al inducir la expresión de mediadores inflamatorios [35, 36].

MMP-2: Las metaloproteinasas son enzimas involucradas en la degradación de la membrana basilar que facilitan la migración de células. Son producidas en la mayoría de tejidos, conectivo, leucocitos, macrófagos, células endoteliales vasculares y células neoplásicas. Estas pueden ser utilizados como biomarcadores de gravedad en la inflamación y daño para el pronóstico. Se ha relacionado con la mortalidad de pacientes de la UCI [37, 38].

Osteopontina (OPN).- Es una proteína de matriz extracelular (ME) no colágena rica en ácido siálico fosforilado que funciona en una variedad de procesos biológicos, que incluyen inflamación, inmunidad, reparación de heridas, tumorigénesis, adhesión celular, migración celular, mineralización ósea y remodelación. Es un componente único de la ME que puede desempeñar un papel importante en el control del crecimiento vascular. La expresión disminuida de OPN se ha relacionado con una neovascularización deteriorada, mientras que se ha encontrado que la sobreexpresión de OPN aumenta durante la angiogénesis [39].

Factor de necrosis tumoral alpha (TNF- $\alpha$ ).- Es una citocina multipotente producida principalmente por macrófagos activados, se ha implicado en varios procesos biológicos que incluyen inflamación, inmunorregulación y angiogénesis. [43]. Actúa directamente sobre el endotelio vascular y se asocia a con daño del mismo así mismo se ha relacionado con el SDRA y falla de múltiples sistemas ya que este incrementa la permeabilidad vascular independiente de los efectos producidos por las células inflamatorias [40,41].

Procalcitonina.- Es una proteína que consta de 116 aminoácidos y es el péptido precursor de la calcitonina, se ha utilizado como marcador de infección grave así como

correlación negativa con el inicio del tratamiento antibiótico. Se produce de manera ubicua en respuesta a endotoxinas o mediadores liberados en respuesta a infecciones bacterianas como interleucina -1b, factor de necrosis tumoral alfa e IL-6 y se correlaciona fuertemente con la extensión y la gravedad de la infección principalmente bacterianas.

La procalcitonina afecta adversamente varios aspectos de la función de las células endoteliales. A partir de una concentración tan baja como 0,02 ng/mL y hasta 100 ng/mL, la procalcitonina deterioró la migración endotelial y la formación de nuevos vasos tanto in vitro como in vivo; informan que la procalcitonina aumenta la producción de óxido nítrico inducida por TNF $\alpha$  y lipopolisacárido en las células del músculo liso vascular, lo que podría contribuir a la vasoplejía. asociado con la condición séptica. [42,44].

## **JUSTIFICACIÓN**

El endotelio muestra una gama de funciones estrictamente reguladas que controlan la vasoconstricción, inflamación, estrés oxidativo, permeabilidad vascular y estructura. Si bien estas funciones participan en la regulación de la circulación y defensas del huésped, también pueden contribuir a la enfermedad cuando sus funciones homeostáticas y defensivas se sobrepasan y se vuelven contra el hospedero. El SARS-CoV-2, el agente etiológico de COVID-19, produce manifestaciones sistémicas a múltiples órganos incluidos los pulmones, cerebro, riñones y los vasos sanguíneos. Esto incluye el papel del endotelio vascular en el reclutamiento de leucocitos inflamatorios que contribuyen al daño tisular y liberación de citocinas, claves, en el síndrome de dificultad respiratoria aguda, coagulación intravascular diseminada y complicaciones cardiovasculares en COVID-19. El característico estado hiperinflamatorio y procoagulante de COVID-19 implica un papel crítico del endotelio, tanto como factor que contribuye a la inflamación y trombosis, como órgano diana, cuya disfunción puede contribuir a mal pronóstico, Los marcadores de inflamación vascular deben evaluarse por su valor en la

estratificación del riesgo en pacientes con COVID-19, además de las implicaciones clínicas y dianas terapéuticas en pacientes que sobreexpresan estos marcadores.

## **PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

¿La infección por SARS-CoV-2 induce la producción de marcadores inflamatorios en los pacientes?

¿Existe alguna relación entre los marcadores inflamatorios en pacientes SARS-CoV-2 positivos y el desenlace de la enfermedad?

## **OBJETIVOS**

Determinar la concentración de marcadores inflamatorios en suero de pacientes SARS-CoV-2 positivos.

Correlacionar la concentración de los marcadores inflamatorios de pacientes SARS-CoV-2 positivos marcadores de laboratorio clínico.

## **METODOLOGÍA**

Diseño de la investigación

El estudio propuesto es prospectivo, observacional, analítico y longitudinal.

Definición de la población

Pacientes con casos de infección por SARS-CoV-2 confirmados por RT-PCR que ingresen al tercer piso ala Norte del edificio de Hospitalización, con y sin antecedentes de enfermedades cardiovasculares, para el estudio de las concentraciones de marcadores de inflamación y daño cardiaco en sangre periférica.

### Tamaño de la muestra

Se realizará un muestreo no probabilístico, a conveniencia, en el que se incluirá a los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión, de nuevo ingreso en el tercer piso ala Norte del edificio de hospitalización del Hospital Juárez de México, en un lapso de 3 meses, a partir de la fecha de aceptación del protocolo.

### Criterios de inclusión

Pacientes de ambos géneros, mayores de 18 y menores de 60 años, con sintomatología respiratoria que ingresen al tercer piso ala Norte del edificio de Hospitalización.

Pacientes con o sin antecedentes de enfermedades cardiovasculares o comorbilidades asociadas (hipercolesterolemia, hipertensión, diabetes u obesidad).

Pacientes cuyos familiares acepten la participación del mismo en el estudio al firmar el Consentimiento Informado.

### Criterios de no inclusión

Pacientes con enfermedad neoplásica, enfermedad autoinmune o de carácter inflamatorio no relacionado a la inflamación vascular o enfermedades cardiacas.

### Criterios de exclusión

Revocación del consentimiento informado.

Problemas técnicos en el procesamiento de la muestra.

Prueba RT-PCR negativa para SARS-CoV-2.

### Definición de variables

Cualitativas

**Género:** masculino o femenino

**Factores de riesgo:** Tabaquismo, obesidad, diabetes mellitus, hipertensión e hipercolesterolemia.

Cuantitativas

**Edad:** años

**Peso:** kilogramos

**Talla:** metros

Marcadores en suero de Inflamación:

Proteína C Reactiva (PCR), MRP8/14, procalcitonina, ferritina, NGAL, MMP-2, OPN, IL-17, IL-6, IL-4, IL-2, IFNg, TNF- $\alpha$  e IL-10.

Co-variables: hipoxia severa, sepsis, inflamación sistémica, dímero-D, biometría hemática (número total de las poblaciones de leucocitos, linfocitos, monocitos, neutrófilos y plaquetas).

## **TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN**

Toma y procesamiento de las muestras.

Al ingreso de los pacientes con sintomatología respiratoria a Urgencias, previo al inicio del esquema de tratamiento, se les toma muestra sanguínea para realizar estudios de gabinete (BH, TGO, TGP, DHL, CK, CK-MB, DHL, FA, GGT, amilasa, lipasa, creatinina, BUN, urea, sodio, potasio, cloro, calcio, tiempos de coagulación)

Posteriormente, algunos pacientes son trasladados al tercer piso ala Norte del edificio de Hospitalización, donde se les realizan otros estudios de gabinete como: HDL, LDL, TGO, procalcitonina, dímero-D, fibrinogeno, VSG, ferritina, PCR, y en caso de sospecha de IAM o trombosis pulmonar, troponinas. Así como la prueba diagnóstica para COVID-19 por RT-PCR.

El personal médico capacitado (residentes de Medicina Interna) verificará si los pacientes cumplen con los criterios de inclusión y solicitará el consentimiento informado a los familiares. De ser otorgado, se aprovechará la punción o la toma de muestra por cateter para los estudios de gabinete y se realizará una toma extra de 2 - 4 ml de sangre venosa periférica en tubos con Heparina.

Las muestras se centrifugarán a 600g por 5 minutos a 10° C para obtener el suero, que se separará en dos alícuotas que se almacenarán a -70°C para posteriormente cuantificar marcadores de inflamación y daño cardiaco.

#### Determinación de moléculas de inflamación

Para la cuantificación de las moléculas de inflamación (MRP8/14, mioglobina, NGAL, MMP-2, OPN) en suero se usará un sistema de perlas de captura LEGENDplex (BioLegend) para lo cual ocuparemos el Kit Human Vascular Inflammation Panel 1, tomando en cuenta las recomendaciones del fabricante. El contenido de cada tubo será suspendido en solución de lavado para la adquisición en el citómetro de flujo FACSAria III, posteriormente los datos serán analizados usando BioLegend's LEGENDplex™ Data Analysis Software.

#### Determinación de citocinas en suero por citometría de flujo

Para la cuantificación de interleucinas inflamatorias en suero se utilizará el sistema Cytometric Bead Array (CBA) de BD Biosciences para interleucinas TH1, Th2 y Th17 (IL-17, IFNg, TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-6, IL-4, IL-2), bajo las indicaciones descritas por el fabricante. Para esto, se colocará en un tubo para citometría un volumen de la suspensión con las perlas de detección de interleucinas y el reactivo de detección (que contiene ficoeritrina) más un volumen de la muestra o del estándar. Se mezclará e incubará durante 3 horas en oscuridad a temperatura ambiente; después de este tiempo se procederá al lavado y el contenido de cada tubo será resuspendido en solución de lavado para la adquisición en el citómetro de flujo FACSAria III y su posterior análisis mediante el software FCapArray.

## **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

La información será integrada en una base de datos electrónica diseñada específicamente para este estudio. Se aplicará la prueba estadística de Wilcoxon para determinar las diferencias entre las concentraciones de marcadores en suero, y pruebas de correlación de Pearson para asociar 2 variables. Así como la obtención de frecuencias y una correlación lineal múltiple entre las variables. Se considerarán con significancia estadística los valores de  $p \leq 0.05$ , con intervalo de confianza del 95%.

## **RECURSOS**

El Hospital Juárez de México es un Hospital COVID, por lo que contamos con áreas de hospitalización donde se ingresa a los pacientes con sintomatología respiratoria que se complican. A los cuales por protocolo se les realiza la prueba diagnóstica por RT-PCR. La manipulación de la muestra de sangre, la separación por centrifugación y el almacenamiento se realizará dentro de las instalaciones del Hospital, donde se espera contar con un área designada para este fin. Además, la investigadora principal cuenta con el equipo e infraestructura necesaria para la realización del proyecto, lo anterior, proporcionado por la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN; Institución a la que se encuentra comisionada oficialmente.

## **ASPECTOS ÉTICOS**

El presente trabajo requiere de la toma de una muestra de 2 – 4mL sangre periférica. La muestra de sangre se empleará únicamente para los propósitos de investigación descritos en este protocolo; toda la información sobre los pacientes será manejada de manera confidencial y los resultados obtenidos no afectarán de ninguna manera el tratamiento del paciente, que será responsabilidad del personal médico tratante. Antes de realizar la toma de muestra, si el paciente decide participar en el estudio, firmará una carta de consentimiento informado. En el caso de que el paciente no tenga la capacidad de firma al momento de ingreso, los familiares pueden firmar la carta de consentimiento informado.



## **ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD**

Las muestras se procesarán dentro del Hospital, tomando en cuenta las medidas de seguridad necesarias para disminuir el riesgo de contagio. Una vez separando el suero, será almacenándolo a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta la determinación de las proteínas solubles. Por lo que se utilizarán las medidas de manejo de los residuos peligrosos biológico infecciosos (RPBI) en unidades de salud.

El objetivo primordial de esta norma (NOM-087-ECOL-SSA1-2002) es proteger al personal de salud de los riesgos relacionados con el manejo de estos residuos, así como proteger el medio ambiente y a la población que pudiera estar en contacto con estos residuos dentro y fuera de las instituciones de atención médica.

La determinación de las proteínas solubles se realizará en placa, por lo que se determinarán hasta que se termine el periodo de toma de muestra. La manipulación de las muestras se realizará en el Hospital, mientras que la adquisición de las mismas se llevará a cabo en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. Cabe mencionar que una vez completada la metodología, las placas de 96 pozos solamente contendrán las perlas de captura y los analitos solubles por lo que su transportación es segura.

### Riesgos

Este estudio se encuentra clasificado como de riesgo mínimo debido a que las muestras de sangre venosa serán tomadas por el personal capacitado. Los riesgos/molestias de la toma de sangre para las muestras del laboratorio son mínimos y no graves. Algunas personas experimentan mareo, pequeños sangrados o molestias menores en el lugar de la punción con la aguja para sacar la sangre como moretones o dolor. Siempre se utilizará material nuevo, estéril y desechable para la toma de muestras de sangre.

El diseño del estudio lo coloca en la fracción II del artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud.

ARTÍCULO 17.- *Se considera como riesgo de la Investigación a la probabilidad de que el sujeto de investigación sufra algún daño como consecuencia inmediata o tardía del estudio.*

*II. Investigación con riesgo mínimo: Estudios prospectivos que emplean el riesgo de datos a través de procedimientos comunes en exámenes físicos o psicológicos de diagnósticos o tratamiento rutinarios, entre los que se consideran: pesar al sujeto, pruebas de agudeza auditiva; electrocardiograma, termografía, colección de excretas y secreciones externas, obtención de placenta durante el parto, colección de líquido amniótico al romperse las membranas, obtención de saliva, dientes deciduales y dientes permanentes extraídos por indicación terapéutica, placa dental y cálculos removidos por procedimiento profilácticos no invasores, corte de pelo y uñas sin causar desfiguración, extracción de sangre por punción venosa en adultos en buen estado de salud, con frecuencia máxima de dos veces a la semana y volumen máximo de 450 mL. en dos meses, excepto durante el embarazo, ejercicio moderado en voluntarios sanos, pruebas psicológicas a individuos o grupos en los que no se manipulará la conducta del sujeto, investigación con medicamentos de uso común, amplio margen terapéutico, autorizados para su venta, empleando las indicaciones, dosis y vías de administración establecidas y que no sean los medicamentos de investigación que se definen en el artículo 65 de este Reglamento, entre otros*

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se incluyeron en el análisis un total de 24 pacientes con diagnóstico de COVID-19 confirmado por RT-PCR. Se dividió a la población en 2 grupos, el primer grupo fue de pacientes internados en la UCI sobrevivientes a la infección por SARS CoV-2, el segundo grupo fue de pacientes internados en la UCI no sobrevivientes a la infección por SARS CoV-2. Del total de pacientes incluidos en el proyecto, el 20.9% correspondió al sexo femenino y 79.1% fueron del sexo masculino.

Ambos grupos fueron homogéneos y no se encontraron diferencias estadísticamente significativa en las variables de edad ( $p = 0.5058$ ), género, IMC ( $p = 0.5423$ ) y comorbilidades entre ambos grupos teniendo una  $p > 0.05$  para dichas variables (Tabla 1).

TABLA 1.			
	Vivos	Muertos	Valor de p
N	12	12	
Género (M/F)	9 M / 3 F	10 M / 2 F	
Edad (años) (M $\pm$ SD)	54 $\pm$ 7	57 $\pm$ 11	0.5058
Peso (Kg) (M $\pm$ SD)	75 $\pm$ 16	78 $\pm$ 12	0.5245
Talla (m) (M $\pm$ SD)	1.62 $\pm$ 0.07	1.62 $\pm$ 0.07	0.9769
IMC (Kg/m <sup>2</sup> ) (M $\pm$ SD)	28 $\pm$ 6	30 $\pm$ 4	0.5423

**Tabla 1.** Datos demográficos de la población de estudio. La población de estudio se dividió en dos grupos, el primero es el grupo de pacientes internados en la UCI que sobrevivieron a la infección por SARS-CoV-2 (Vivos) y el segundo es el grupo de pacientes internados en la UCI que no sobrevivieron a la infección por SARS-CoV-2 (Muertos). Se realizó la prueba estadística T de Student para los parámetros aplicables. Ningún valor de p mostró una diferencia estadísticamente significativa. M $\pm$ SD (media  $\pm$  desviación estándar).

En nuestro estudio se encontró una mayor mortalidad en hombres, lo cual concuerda con diversos meta-análisis, entre los que destaca los hallazgos encontrados por Zheng et. al [45], donde se encontró que las mujeres son menos susceptibles a las infecciones virales que los hombres, posiblemente debido a la protección del cromosoma X y las hormonas sexuales, que juegan un papel importante en el desarrollo innato e inmunidad adaptativa [46]. Por otro lado, Takashi et.al. reportan una inmunidad innata mejorada en mujeres en comparación con los hombres y una activación deficiente de las células T en los hombres en comparación con las mujeres [47].

En relación al conteo de célula inmunitarias representados en la Tabla 2, se encontró que hubo diferencias estadísticamente significativas en el conteo absoluto de Monocitos ( $p = 0.0001$ ), Neutrófilos ( $p = 0.0082$ ) y Plaquetas ( $p = 0.0035$ ), sin embargo no hubo diferencias estadísticamente significativas con respecto al conteo de Linfocitos ( $p = 0.1464$ ) ni la cuenta absoluta de Leucocitos ( $p = 0.2910$ ) en las 2 poblaciones estudiadas.

<b>TABLA 2.</b>			
	Vivos (M ± SD)	Muertos (M ± SD)	Valor de p
<b>Leucocitos (Cta. Abs.)</b>	8619 ± 2909	10361 ± 4760	0.2910
<b>Linfocitos (Cta. Abs.)</b>	1055 ± 360.1	832.7 ± 364.6	0.1464
<b>Monocitos (Cta. Abs.)</b>	573.3 ± 295.7	53.25 ± 35.15	<b>0.0001</b>
<b>Neutrofilos (Cta. Abs.)</b>	6733 ± 2768	3184 ± 3203	<b>0.0082</b>
<b>Plaquetas (Cta. Abs.)</b>	362250 ± 149961	172308 ± 134128	<b>0.0035</b>

**Tabla 2.** Cuenta absoluta de células inmunitarias. Se muestran los valores de media y desviación estándar (M±SD) de la cuenta absoluta de leucocitos, linfocitos, monocitos, neutrófilos y de plaquetas de ambos grupos (Vivos y Muertos). Se realizó la prueba estadística T de Student para cada población celular. Los valores de p con diferencia estadísticamente significativa, se resaltan.

Estos resultados difieren de lo reportado en la literatura, puesto que la mayoría de autores reportan la presencia de neutrofilia en pacientes infectados por SARS CoV-2 [48,49], así mismo la presencia de esta se relacionó directamente con la presencia de síntomas respiratorios graves y desenlaces fatales en pacientes con COVID-19. Un metaanálisis realizado por Lippi *et al.*, señaló que entre el 35% y el 75% de los pacientes desarrollaron linfopenia y esta fue una característica frecuente en los pacientes que fallecieron por la enfermedad. Lippi G y Plebani M reportaron que la presencia de linfopenia es un hallazgo frecuente en los pacientes infectados por SARS COV 2, derivada de una respuesta inmune deficiente contra el virus [50].

No obstante según lo reportado por Yang *et al.* [51], en 52 pacientes adultos en estado crítico, se produjo linfopenia en el 85% de los pacientes y no se observaron diferencias significativas entre los supervivientes y los no supervivientes. De igual forma Yan *et al.*, encontró que la linfopenia, no fue estadísticamente significativa entre ambos grupos y que el recuento de linfocitos no siempre está por debajo de  $0,8 \times 10^9/L$  [52].

Con respecto la cuenta plaquetaria nuestros hallazgos fueron similares a los reportado en la literatura, un meta-análisis de 7,613 pacientes con COVID-19 reveló que los pacientes con enfermedad grave tenían un recuento de plaquetas más bajo que aquellos con enfermedad no grave [53]. Además, los no supervivientes tenían un recuento de plaquetas mucho más bajo que los supervivientes. Liu *et al.* [54] encontró que la trombocitopenia al ingreso en pacientes con COVID-19 se asoció con un aumento de 4.24 veces el riesgo de mortalidad hospitalaria.

También los macrófagos y monocitos tienen un papel fundamental en los procesos infeccioso, forman parte de la primera línea de respuestas inmunológicas a las infecciones virales, en nuestro estudio evidenciamos una disminución estadísticamente significativa de la cuenta de monocitos en los pacientes que no

sobrevivieron. Paliogiannis *et al.* [55], también encontró que el recuento de monocitos en sangre en pacientes con COVID-19 disminuyó significativamente en los pacientes con peores desenlaces. Zhou *et al.* [56] revelaron que el fenotipo de monocitos circulantes en casos en estadio severo consiste principalmente en CD14+ y subpoblación de monocitos inflamatorios CD16+ que ejerce actividad inflamatoria especialmente a través de la producción de IL-6 en pacientes con COVID-19 admitidos en la unidad de cuidados intensivos.

Los datos obtenidos en nuestro estudio de las concentraciones de moléculas solubles de inflamación vascular (procalcitonina, ferritina, Dímero D, Proteína C Reactiva (PCR) y Velocidad de Sedimentación Globular (VSG)) en ambos grupos, fueron obtenidos del Laboratorio Clínico (Tabla 3). Hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos en relación a la PCR (267.6 mg/L ± 85.07 vs 156.7 mg/L ± 58.33, **p=0.0012**) y Procalcitonina (7.818 ng/dL ± 6.775 vs 0.2458 ng/dL ± 0.1716, **p=0.008**), no se encontró diferencia en los niveles de Ferritina (p =0.3276), Dímero D (p =0.0719) y VSG (p =0.5204) entre las dos poblaciones estudiadas.

<b>TABLA 3.</b>			
	Vivos (M ± SD)	Muertos (M ± SD)	Valor de p
<b>Procalcitonina (ng/dL)</b>	0.2458 ± 0.1716	7.818 ± 6.775	<b>0.0008</b>
<b>Ferritina (ng/L)</b>	754 ± 493.2	956.4 ± 497.2	0.3276
<b>Dímero D (ng/mL)</b>	1937 ± 1375	5171 ± 5765	0.0719
<b>PCR (mg/L)</b>	156.7 ± 58.33	267.6 ± 85.07	<b>0.0012</b>
<b>VSG (mm/h)</b>	44.33 ± 6.415	42.5 ± 7.305	0.5204

**Tabla 3.** Concentración de moléculas solubles en suero determinadas en Laboratorio Clínico. Se muestran los valores de media y desviación estándar (M±SD) de la concentración de procalcitonina, ferritina, dímero D, proteína C reactiva (PCR) y velocidad de sedimentación (VSG) de ambos grupos (Vivos y Muertos). Se realizó la prueba estadística T de Student para cada molécula. Los valores de p con diferencia estadísticamente significativa, se resaltan.

Lo anterior es relevante porque las moléculas que se miden en el laboratorio clínico determinan el estado inflamatorio del paciente. La elevación de procalcitonina fue estadísticamente significativa en los pacientes que obtuvieron desenlaces fatales, estos hallazgos son comparables con el meta-análisis de Malik *et al.* [57], quien encontró riesgo casi seis veces mayor de resultados desfavorables en pacientes con COVID-19 con procalcitonina elevada. De la misma forma el valor clínico de esta molécula fue analizada en el estudio TRIAGE, realizados en hospitales de tercer nivel de Suiza, Francia y EUA, donde se correlacionó la elevación de PCT, independientemente del diagnóstico e infección subyacente como un fuerte predictor de infección subyacente, mortalidad a 30 días, mortalidad global así como admisión a la unidad de cuidados intensivos, a la vez que mejoró precisión pronóstica de la puntuación de evaluación qSOFA [58]. En el estudio MOSES basado en el SU y la UCI de 858 pacientes mostró que, cuando la procalcitonina no disminuye, la mortalidad a los 28 días se duplicó [59].

La proteína C reactiva se encontró aumentada en los pacientes que fallecieron, similar al meta-análisis de Huang *et al.* [60], donde analizó 13 estudios mostró que una PCR sérica elevada se asoció con un resultados desfavorables. El análisis de subgrupos mostró que una PCR elevada se asoció con un mayor riesgo de COVID-19 grave, necesidad de cuidados, pero no mortalidad. En el meta-análisis realizado por Liu *et al.* [61], encontró que los pacientes con PCR > 41.8 mg/L tenían más probabilidades de desarrollar una enfermedad grave.

En nuestro estudio también encontramos una correlación positiva entre éstos dos marcadores de inflamación ( $r$  de Pearson = 0.4369,  $R$  cuadrada = 0.1909) con una significancia estadística de  $p = 0.0328$ . Por lo tanto, conforme aumentan los niveles de procalcitonina también aumentan los niveles de PCR y ambos se valores se correlacionan con el desenlace de los pacientes con COVID-19.

Posteriormente se determinó la concentración de moléculas de inflamación vascular solubles en suero mediante el sistema Cytometric Bead Array (CBA) de BD Biosciences (Tabla 4, Figura 1). Donde se encontró diferencia estadísticamente significativa en ambos grupos estudiados en las concentraciones de las moléculas

IL-6 (17785 pg/mL  $\pm$  5379 vs 10338 pg/mL  $\pm$  4635, **p= 0.0015**), IL-10 ( 709.3 pg/mL  $\pm$  274 vs 419.2 pg/mL  $\pm$  154.7, **p=0.0020**) así como IL-17 (275.1 pg/mL  $\pm$  12.7 vs 293.1  $\pm$  26.1, **p= 0.0463**); no obstante no hubo diferencia en las concentraciones de las moléculas IL-2, IL-4, interferón *gamma* (IFNg) y en el factor de necrosis tumoral *alpha* (TNF-a).

<b>TABLA 4.</b>			
	Vivos (M $\pm$ SD)	Muertos (M $\pm$ SD)	Valor de p
<b>IL-2 (pg/mL)</b>	501.4 $\pm$ 18.7	503.4 $\pm$ 11.2	0.3551
<b>IL-4 (pg/mL)</b>	305.2 $\pm$ 4.3	304.2 $\pm$ 16.9	0.7070
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	10338 $\pm$ 4635	17785 $\pm$ 5379	<b>0.0015</b>
<b>IL-10 (pg/mL)</b>	419.2 $\pm$ 154.7	709.3 $\pm$ 274	<b>0.0020</b>
<b>IL-17 (pg/mL)</b>	293.1 $\pm$ 26.1	275.1 $\pm$ 12.7	<b>0.0463</b>
<b>IFNg (pg/mL)</b>	58.51 $\pm$ 61.2	52.18 $\pm$ 28.4	0.5250
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/mL)</b>	233.9 $\pm$ 85.99	450.7 $\pm$ 452.5	0.2366

**Tabla 4.** Concentración de citocinas solubles en suero determinadas con el sistema de Cytometric Bead Array (CBA) de BD Biosciences. Se muestran los valores de media y desviación estándar (M $\pm$ SD) de la concentración de interleucina 2 (IL-2), interleucina 4 (IL-4), interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10), interleucina 17 (IL-17), interferón *gamma* (IFNg) y del factor de necrosis tumoral *alpha* (TNF-a) de ambos grupos (Vivos y Muertos). Se realizó la prueba estadística T de Student para cada molécula. Los valores de p con diferencia estadísticamente significativa, se resaltan.

Recientemente han surgido varias hipótesis en la fisiopatología de la infección grave por SARS-CoV-2. La fase viral se caracteriza por la replicación viral resultando en daño tisular directo mediado por virus. La extensión de este daño determina la patogenia de la fase secundaria, que se caracteriza por el reclutamiento de células inmunitarias efectoras que provocan una respuesta inflamatoria local y sistémica que puede persistir incluso después de la eliminación del virus. El sistema inmune del huésped desregulado en la respuesta a patógenos infecciosos extraños es parte



integral del desarrollo de la disfunción de órganos diana y un importante contribuyente a la morbilidad y mortalidad.

La hiper-activación del sistema inmunitario humoral con una respuesta prominente de IL-6 puede sugerir que parte de la patogenia de la enfermedad complicada implica una respuesta inflamatoria desregulada y excesiva del huésped [62,63]. IL-6 induce un estado pro-inflamatorio con múltiples funciones biológicas y desempeña un papel importante en la inflamación vascular, siendo el principal desencadenante de la tormenta de citocinas en la COVID-19 [64]. En nuestros pacientes, encontramos una elevación de IL-6 con diferencia estadísticamente significativa en el grupo de pacientes que no sobrevivieron en concordancia con lo reportado en la literatura, como en el meta-análisis realizado por Coomes *et al.* [65], quien reportó que los niveles séricos de IL-6 están significativamente elevados en el contexto de enfermedad grave de covid-19. Tales niveles elevados están significativamente asociados con resultados clínicos adversos, incluida la admisión en la UCI, ARDS y muerte. Los niveles séricos de IL-6 casi tres veces más altos que aquellos con enfermedad no complicada.

Los datos encontrados de la concentración de IL-6 se correlacionaron positivamente con los datos de obtenidos de PCR ( $r$  de Pearson = 0.5387,  $R$  cuadrada = 0.2902), con una significancia estadística de  $p = 0.0066$ . Del mismo modo ocurrió cuando se correlacionó la concentración de IL-6 y procalcitonina ( $r$  de Pearson = 0.4664,  $R$  cuadrada = 0.2175,  $p = 0.0216$ ). Liu *et al.* [66], también encontró una correlación significativa entre la severidad por SARS COV-2, la IL-6 y la procalcitonina. Ya que nuestra unidad no realiza de forma rutinaria la medición de IL-6, la determinación de PCR y procalcitonina deberían solicitarse al ingreso del paciente para evaluar la severidad de la enfermedad.

Por otro lado, se ha reportado una elevación de la IL-10 en los pacientes con peores desenlaces. Akbari *et al.* [67] encontró que marcadores inflamatorios como IL-10, SAA y el recuento de linfocitos, fueron factores de riesgo independientes para la muerte intrahospitalaria, indicando que tanto una tormenta de citocinas como la

linfopenia están asociadas con una supervivencia hospitalaria deficiente en pacientes con COVID-19. En nuestro estudio encontramos que los pacientes infectados con SARS-CoV-2 que no sobrevivieron presentaron niveles elevados de IL-10 en comparación con los pacientes sobrevivientes a la infección, y que esta diferencia entre los grupos fue estadísticamente significativa. Es por ello que Han *et. al.* propuso la utilización de IL-10 e IL-6 como parte de la evaluación temprana de pacientes con enfermedades más graves, especialmente bajo la gran carga de atención médica en cada hospital afectado [68].

IL-10 se expresa en muchas células del sistema inmunitario adaptativo, incluidas las células Th1, Th2 y Th17 [69], la producción de esta parece estar asociada con muchas células inmunes, evidenciando su papel crucial como regulador de la retroalimentación de diversas respuestas. A pesar de que IL-10 es una molécula anti-inflamatoria y reguladora de la respuesta aguda, creemos que su elevación durante el proceso infeccioso agudo se debe al aumento intenso de diversas señales inflamatorias como la producción de IL-6, en un intento de la respuesta inmune por regresar a la homeostasis.

IL-10 no es una molécula usualmente medible en el Laboratorio Clínico ya que se necesitan reactivos específicos, equipos especializados y tiene un costo elevado. No obstante esta molécula aporta bastante información del estado inflamatorio intenso en los pacientes con SARS-CoV-2 que presentaron peores desenlaces. Estos datos también fueron reportados por el meta-análisis de Ji *et al.*, quien evaluó 56 estudios encontrando asociado entre la elevación de estos marcadores y el riesgo de mortalidad [70].

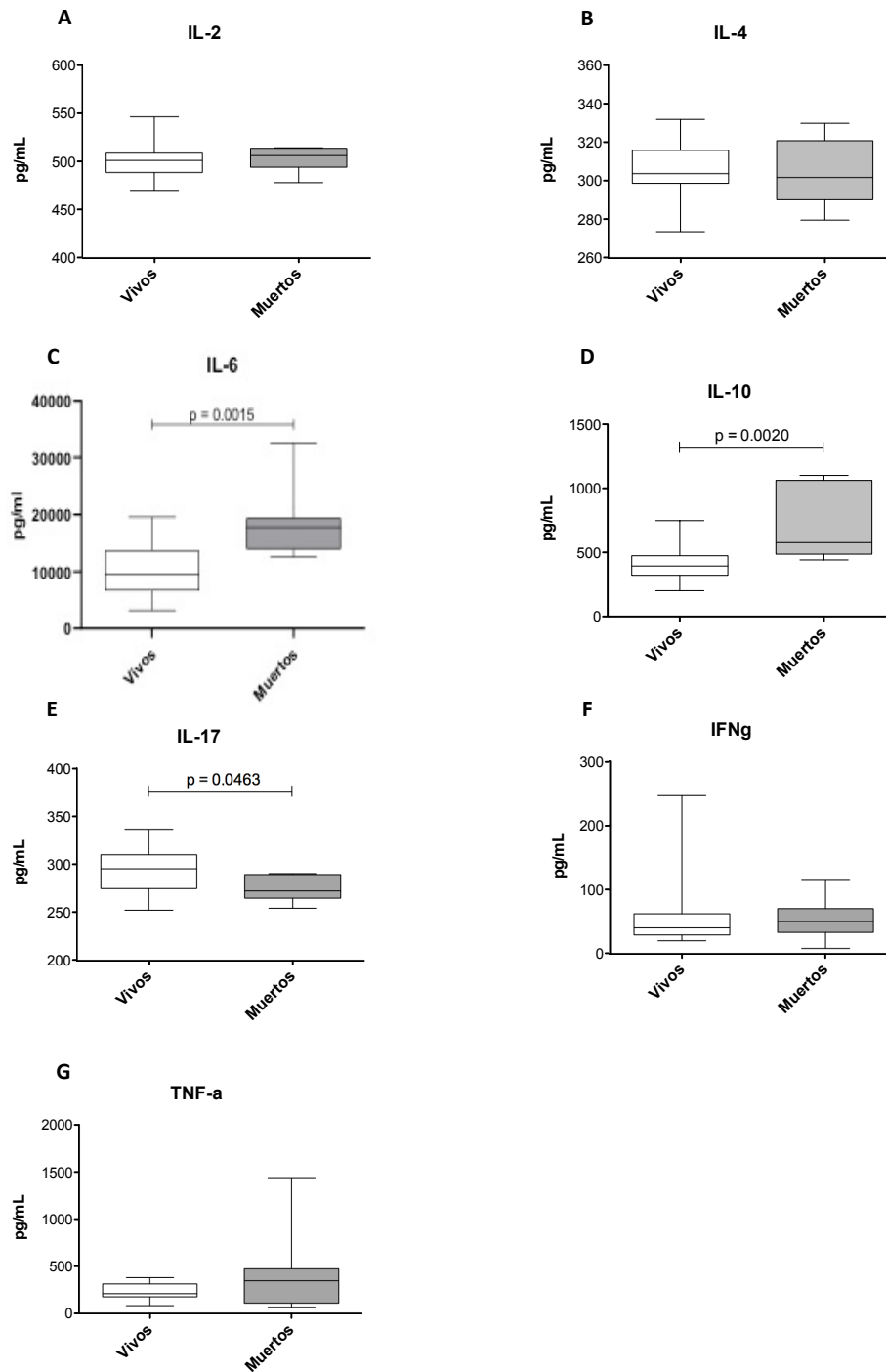
En este estudio obtuvimos una correlación positiva entre la elevación de IL-10 y la procalcitonina ( $r$  de Pearson = 0.5983,  $R$  cuadrada = 0.3579), de con un valor de  $p = 0.002$ , estadísticamente significativo. Ya que ambas moléculas están asociadas a peores desenlaces con significancia estadística, en caso de no contar con el panel de interleucinas podría utilizarse PCT como marcador de gravedad.

En la literatura hay evidencia heterogénea del aumento de IL-17, nosotros encontramos disminución estadísticamente significativa de IL-17 en el grupo de no sobrevivientes. Algo similar reportó Ghazavi *et al.* [71], donde en pacientes con COVID-19 la IL-17 aumentó significativamente en los casos leves en comparación con el grupo grave y el grupo de control, no obstante, no encontró diferencia estadísticamente significativa entre los grupos por severidad (grave y leve). Sin embargo Liu Y *et al.* [72], encontró correlación positiva entre el aumento de esta interleucina y escalas de severidad de daño pulmonar (puntuación de Murray).

Las células Th17 son la principal fuente de interleucina 17. IL-17 emite señales predominantemente en células no hematopoyéticas para inducir defensas inmunitarias agudas similares a las innatas. Una función distintiva de la IL-17 es la inducción de quimiocinas, incluidas CXCL1, CXCL2 y CXCL8 [73].

Esta última es un potente quimioatrayente de neutrófilos. Por lo tanto, la IL-17 desempeña un papel importante en la regulación de las respuestas de los neutrófilos, así mismo la estimulación de las células endoteliales con IL-17 induce respuestas clásicas de citocinas pro-inflamatorias que incluyen IL-6, IL-8 y GM-CSF [73], esto puede explicar el reclutamiento que existe a nivel del endotelio vascular y pulmonar.

Llama la atención la disminución de las concentraciones de IL-17 que se presentó en los pacientes que obtuvieron peores resultados, esta disminución pudiera corresponder a polimorfismos, que le confieren un peor desenlace, sin embargo no se descarta la idea que el nivel bajos de IL-17 pueden estar presentes en la fase aguda de la infección, pero pueden encontrarse aumentados en estadios más avanzados de la misma.

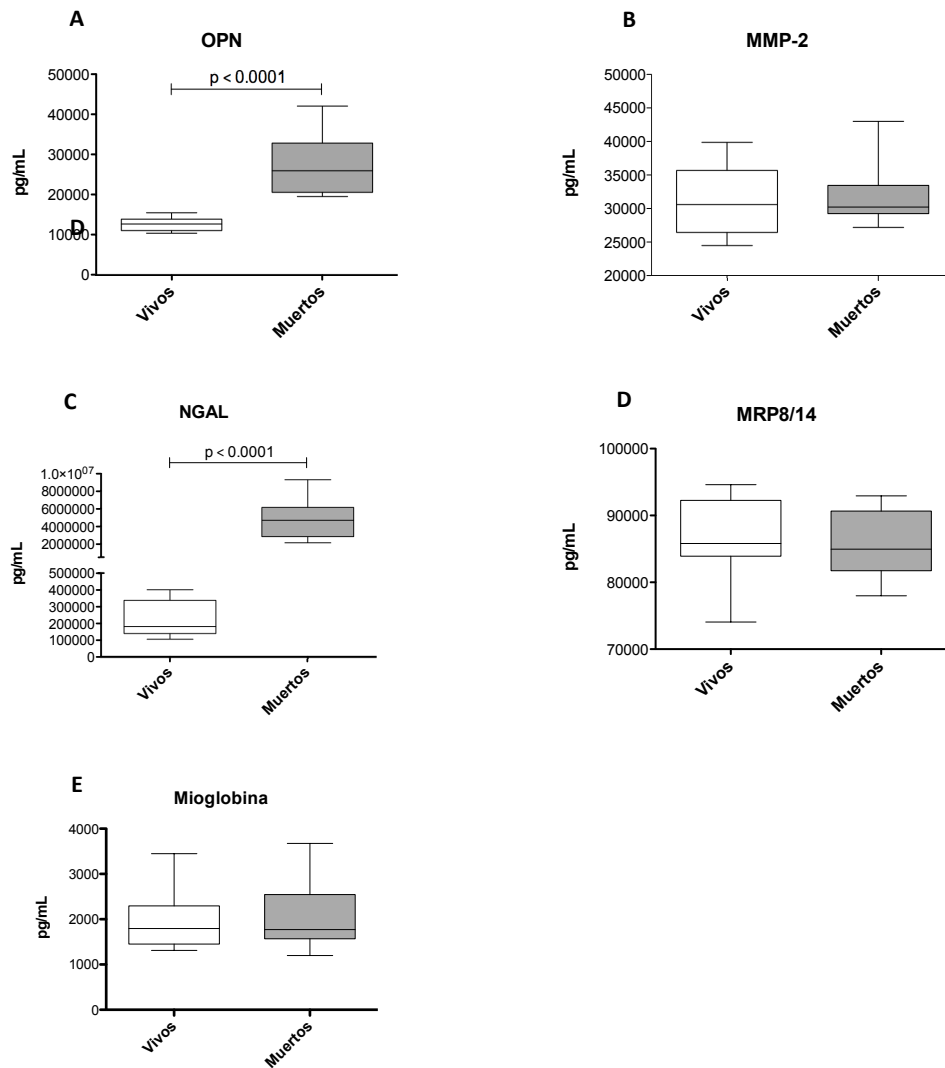


**Figura 1.** Concentración de citocinas solubles en suero determinadas con el sistema de Cytometric Bead Array (CBA) de BD Biosciences. Concentración de (A) interleucina 2 (IL-2), (B) interleucina 4 (IL-4), (C) interleucina 6 (IL-6), (D) interleucina 10 (IL-10), (E) interleucina 17 (IL-17), (F) interferón *gamma* (IFNg) y del (G) factor de necrosis tumoral *alpha* (TNF-a) de ambos grupos (Vivos y Muertos). Los datos fueron analizados con la prueba estadística T de Student. Las diferencias estadísticamente significativas se marcan con el valor de p.

Finalmente se midió la concentración de moléculas de inflamación vascular solubles en suero determinadas con el sistema de perlas de captura LEGENDplex (BioLegend), en donde se encontró una diferencia estadísticamente significativa para osteopontina ( $27250 \text{ pg/mL} \pm 7136$  vs  $12677 \text{ pg/mL} \pm 1640$ ,  $p = <0.0001$ ) así como para la lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos ( $4752000 \text{ pg/mL} \pm 2044000$  vs  $227087 \text{ pg/mL} \pm 105675$ ,  $p = <0.0001$ ); no se encontró diferencia significativa en las concentraciones de las moléculas MMP-2, MRP8/24 y Mioglobina (Tabla 5, Figura 2).

<b>TABLA 5.</b>			
	Vivos (M ± SD)	Muertos (M ± SD)	Valor de p
<b>OPN (pg/mL)</b>	12677 ± 1640	27250 ± 7136	< 0.0001
<b>MMP-2 (pg/mL)</b>	31097 ± 5057	32132 ± 4778	0.5067
<b>NGAL (pg/mL)</b>	227087 ± 105675	4752000 ± 2044000	< 0.0001
<b>MRP8/24 (pg/mL)</b>	86104 ± 6190	85890 ± 4854	0.6650
<b>Mioglobina (pg/mL)</b>	1956 ± 621.3	2061 ± 742.7	0.7075

**Tabla 5.** Concentración de moléculas de inflamación vascular solubles en suero determinadas con el sistema de perlas de captura LEGENDplex (BioLegend). Se muestran los valores de media y desviación estándar (M±SD) de la concentración de osteopontina (OPN), de la metaloproteínasa MMP-2, de la lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL), de las proteínas de unión a calcio MRP8/14 y de mioglobina de ambos grupos (Vivos y Muertos). Se realizó la prueba estadística T de Student para cada molécula. Los valores de p con diferencia estadísticamente significativa, se resaltan.



**Figura 2.** Concentración de moléculas de inflamación vascular solubles en suero determinadas con el sistema de perlas de captura LEGENDplex (BioLegend). Concentración de (A) osteopontina (OPN), de la (B) metaloproteínasa MMP-2, de la (C) lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL), de las (D) proteínas de unión a calcio MRP8/14 y de (E) mioglobina de ambos grupos (Vivos y Muertos). Los datos fueron analizados con la prueba estadística T de Student. Las diferencias estadísticamente significativas se marcan con el valor de p, en los casos en los que no aparece el valor de p es porque la prueba estadística no arrojó diferencias significativas.

El aumento evidenciado de NGAL también se ha reportado en otros estudios, He L *et al.* demostró que la lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL) fue fuerte predictor de mortalidad por todas las causas en su ensayo clínico. NGAL

puede estar involucrado en los procesos inflamatorios y podría ser responsable por las complicaciones letales de la infección por SARS-CoV-2 [74]. Creemos que la medición de NGAL es importante ya que puede ser utilizada como marcador pronóstico y de mortalidad en pacientes gravemente enfermos, así también lo reportó Duda *et al.* [75] quien encontró una correlación estadísticamente significativa entre la concentración de NGAL y la mortalidad en la UCI, con una correlación más clara en el cuarto día de hospitalización. Así mismo además de su papel en la mortalidad global, es relevante mencionar la correlación de la elevación de esta molécula y la necesidad de terapia de reemplazo renal en pacientes con lesión renal aguda (LRA), misma que hasta el momento en nuestra unidad hospitalaria no se realiza.

NGAL mostró una correlación positiva con procalcitonina ( $r$  Pearson = 0.5347,  $R$  cuadrada = 0.2859) y con PCR ( $r$  Pearson = 0.5522,  $R$  cuadrada = 0.3049), con un valor de  $p$  estadísticamente significativo de  $p = 0.0071$  y  $P = 0.0051$  respectivamente. El aumento significativo en dichas moléculas concuerda con el daño endotelial generalizado y la inflamación persistente, sin embargo se debe tomar en cuenta el aumento de la procalcitonina en contexto de la LRA por disminución del aclaramiento renal de esta molécula.

La osteopontina (OPN) también se encontró elevada significativamente en los pacientes que no sobrevivieron. La OPN se ha clasificado como citocina Th-1, por lo tanto, se cree que exacerba la inflamación en varias enfermedades inflamatorias agudas y crónicas, incluidas las inflamación vascular en pacientes enfermos por SARS-CoV-2. Varim *et al.* [76] describieron niveles elevados de OPN en pacientes con COVID-19 y sugirieron una relación entre los niveles séricos de OPN y la gravedad de la enfermedad. Han *et al.*, encontró una fuerte correlación de los niveles de OPN con diferentes marcadores de inflamación sistémica y propuso a la misma como un nuevo biomarcador predictivo y pronóstico que permite la identificación de pacientes con COVID-19 en riesgo de experimentar un curso más grave de la enfermedad [77].

También encontramos una correlación positiva entre NGAL y OPN ( $r$  Pearson = 0.5969, R cuadrada = 0.3563) con un valor significativo de  $p = 0.0021$ , creemos que la determinación de estas molécula en los pacientes COVID-19. NGAL posee un valor pronóstico bien establecido en la LRA, de la misma forma la LRA en pacientes con COVID-19 es un predictor independiente de mal pronóstico y tasas elevadas de mortalidad [78].

En este estudio todas las determinaciones se realizaron al ingreso de los pacientes a la UCI por lo que los datos obtenidos nos indican su condición inicial, ninguna muestra fue tomada durante la evolución de la infección y es por ello que se propone para nuestro grupo de estudio que todas las moléculas que presentan diferencias estadísticamente significativas tienen valor pronóstico de mortalidad en pacientes con infección por SARS-CoV-2, debido a que se expresaron de forma diferencial entre los grupos. Entre los estudios de gabinete, no se cuanta con pruebas para IL-6, IL10, IL-17, OPN y NGAL, es por ellos que las correlaciones de estas moléculas con las concentraciones de procalcitonina y/o PCR es determinante, ya que al encontrar estas últimas fuera de rango, o elevadas es un indicador del estado crítico del paciente y debe ser considerado como determinante para dar un tratamiento más agresivo o complementario.

## **CONCLUSIONES**

- La infección por SARS-CoV-2 induce la producción de moléculas inflamatorias como procalcitonina, PCR, IL-6, OPN y NGAL en los pacientes.
- Existe correlación entre la concentración de las moléculas procalcitonina, PCR, IL-6, IL-10, IL-17, OPN y NGAL en pacientes SARS-CoV-2 positivos y el desenlace de la enfermedad.
- Las concentraciones de PCR y procalcitonina a su vez se correlacionaron entre sí y con la concentración de las moléculas IL-6, IL-10, OPN y NGAL en pacientes SARS-CoV-2 positivos.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Zhong, N., et al., *Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February*. Lancet, 2003. **362**(9393), 1353–1358
- 2) Liu Y., et al., *COVID-19: The first documented coronavirus pandemic in history*. Biomed J., 2020. **43**(4):328-333
- 3) Cui J, et al., *Origin and evolution of pathogenic coronaviruses*. Nat Rev Microbiol. 2019. **17**(3):181-192.
- 4) Wu, F., et al., *A new coronavirus associated with human respiratory disease in China*. Nature, **579**(7798), p. 265–269.
- 5) Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2*. Nature microbiology, 2020. **5**(4), p. 536–544.
- 6) Liu Y., et al., *COVID-19: The first documented coronavirus pandemic in history*. Biomed J., 2020. **43**(4):328-333
- 7) Cevik, M., et al., *Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2*. BMJ, 2020. **371**, p.3862-3865.
- 8) Hui K., et al. *Tropism, replication competence, and innate immune responses of the coronavirus SARS-CoV-2 in human respiratory tract and conjunctiva: an analysis in ex-vivo and in-vitro cultures*. Lancet Respir Med, 2020. **8**(2), p. 687-95
- 9) Monteil, V., et al., *Inhibition of SARS-CoV-2 Infections in Engineered Human Tissues Using Clinical-Grade Soluble Human ACE2*. Cell, **181**(4), 905–913.
- 10) Siddiqi H., et al., *COVID-19 - A vascular disease*. Trends Cardiovasc Med, 2021. **31**(1):1-5.
- 11) Liu T., et al., *Cathepsin L-selective inhibitors: A potentially promising treatment for COVID-19 patients*. Pharmacol Ther, 2020. **213**: p. 107587.
- 12) Ackermann M., et al., *Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19*. N Engl J Med. 2020. **383**(2):120-128.
- 13) Libby P., *COVID-19 is, in the end, an endothelial disease*. Eur Heart J, 2020. **41**(32):3038-3044.
- 14) Giamarellos-Bourboulis E., et al., *Complex Immune Dysregulation in COVID-19 Patients with Severe Respiratory Failure*. Cell Host Microbe, 2020. **27**(6):992-1000.
- 15) Gómez-Moreno D., et al., *Neutrophils as effectors of vascular inflammation*. Eur J Clin Invest. 2018. **48** (2) 1948-2000.

- 16) To, E., et al., *Endosomal NOX2 oxidase exacerbates virus pathogenicity and is a target for antiviral therapy*. Nature communications, 2017. **8**(1), p. 69.
- 17) Pons, S., Fodil, S., Azoulay, E., & Zafrani, L., *The vascular endothelium: the cornerstone of organ dysfunction in severe SARS-CoV-2 infection*. Critical care. 2020. **24**(1), p. 353.
- 18) Wang, M., et al., *Thrombotic Regulation From the Endothelial Cell Perspectives*. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2018, **38**(6), p. e90–e95.
- 19) Wang, M., et al., *Thrombotic Regulation From the Endothelial Cell Perspectives*. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2018, **38**(6), p. e90–e95.
- 20) Colling, M. E., & Kanthi, Y. *COVID-19-associated coagulopathy: An exploration of mechanisms*. Vascular medicine, 2020. **25**(5), 471–478
- 21) Colling M., *COVID-19-associated coagulopathy: an exploration of mechanisms*. Vasc Med, 2020; **25**(5), 471–478.
- 22) Lax, S., et al., *Pulmonary Arterial Thrombosis in COVID-19 With Fatal Outcome : Results From a Prospective, Single-Center, Clinicopathologic Case Series*. Annals of internal medicine, 2020. **173**(5), p. 350–361.
- 23) Oxley, T., et al., *Large-Vessel Stroke as a Presenting Feature of Covid-19 in the Young*. The New England journal of medicine, **382**(20), p. 60.
- 24) Brasier, A., et.al. *Vascular inflammation and the renin-angiotensin system*. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, **22**(8), p. 1257–1266.
- 25) Kuba, K., et al., *A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury*. Nature medicine, **11**(8), p. 875–879.
- 26) Liu, Y., et al., *Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury*. Science China. Life sciences, **63**(3), p. 364–374.
- 27) Abers, M. *An immune-based biomarker signature is associated with mortality in COVID-19 patients*. JCI insight, **6**(1), e144455.
- 28) Li, H., et al., *Inflammatory biomarkers of coronary heart disease*. Front Biosci (Schol Ed), 2018. **10**: p. 185-196.
- 29) Sorg, C., *The calcium binding proteins MRP8 and MRP14 in acute and chronic inflammation*. Behring Inst Mitt, 1992(91): p. 126-37. 2.
- 30) Galley, H. F., & Webster, N. R. *Physiology of the endothelium*. British journal of anaesthesia, 2004. **93**(1), 105–113.

- 31) Skaria, T., et al., IL-4 Causes Hyperpermeability of Vascular Endothelial Cells through Wnt5A Signaling. *PloS one*, 2016. 11(5), e0156002.
- 32) Kim, H., Both integrated and differential regulation of components of the IL-2/IL-2 receptor system. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006, 17:349-366.
- 33) Liao, W., Lin, J. X., & Leonard, W. J., IL-2 family cytokines: new insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T helper cell differentiation. *Current opinion in immunology*, 2011. 23(5), 598–604.
- 34) Davalos, D., & Akassoglou, K., Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease. *Seminars in immunopathology*, 2012. 34(1), p. 43–62.
- 35) Buonafine, M., et al., *More than a simple biomarker: the role of NGAL in cardiovascular and renal diseases*. *Clinical science*, 2018. 132(9), p. 909–923
- 36) Abers, M., et al., *An immune-based biomarker signature is associated with mortality in COVID-19 patients*. *JCI insight*, 2021. 6(1), p. e144455.
- 37) D Avila-Mesquita, C., et al., *MMP-2 and MMP-9 levels in plasma are altered and associated with mortality in COVID-19 patients*. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 2021. 142, 112067.
- 38) Duda, I., et al., *Plasma Matrix Metalloproteinase-9 and Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase-1 as Prognostic Biomarkers in Critically Ill Patients*. *Open medicine*, 2020, 15(2), p. 50–56.
- 39) Gurses, K.M., et al., *The association between serum angiogenin and osteopontin levels and coronary collateral circulation in patients with chronic total occlusion*. *Anatol J Cardiol*, 2019. 22(2): p. 77-84.
- 40) Sharma, H.S. and D.K. Das, *Role of cytokines in myocardial ischemia and reperfusion*. *Mediators Inflamm*, 1997. 6(3): p. 175-83.
- 41) Royall, J., et al., *Tumor necrosis factor and interleukin 1 alpha increase vascular endothelial permeability*. *The American journal of physiology*, 1999. 257(6), p. L399–L410.
- 42) Hamade, B., & Huang, D. T., *Procalcitonin: Where Are We Now?*. *Critical care clinics*, 2020. 36(1), p. 23–40.
- 43) Schuetz, P., Albrich, W., & Mueller, B., *Procalcitonin for diagnosis of infection and guide to antibiotic decisions: past, present and future*. *BMC medicine*, 2011. 9, 107.

- 44) Wagner, N., et al., *Procalcitonin Impairs Endothelial Cell Function and Viability*. Anesthesia and analgesia, 2017. **124**(3), p. 836–845.
- 45) Zheng, Z., et al., *Risk factors of critical & mortal COVID-19 cases: A systematic literature review and meta-analysis*. The Journal of infection, 2020, **81**(2), e16–e25.
- 46) Gal-Oz, S., et al., *ImmGen report: sexual dimorphism in the immune system transcriptome*. Nature communications, 2019, **10**(1), p. 4295.
- 47) Takahashi, T., et al., *Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes*. Nature, 2020. (588), p. 315–320.
- 48) Wang, J., et al. *Cytokine storm and leukocyte changes in mild versus severe SARS-CoV-2 infection: Review of 3939 COVID-19 patients in China and emerging pathogenesis and therapy concepts*. J. Leukoc. Biol. 2020, 108, p. 17–41.
- 49) Guan, J., et al., *Continuous tracking of COVID-19 patients' immune status*. Int. Immunopharmacol. 2020, 89.
- 50) Lippi, G. and Plebani, M. *The critical role of laboratory medicine during coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other viral outbreaks*. Clin Chem Lab Med. 2020, **25**;58(7), p.1063-1069.
- 51) Yang X, Yu Y, Xu J, et al., *Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study*. Lancet Respir Med, 2020. **8**(5) p. 475-81.
- 52) Yan, S. and Wu, G. *Is lymphopenia different between SARS and COVID-19 patients?* FASEB J, 2021. **35**(2), e21245.
- 53) Jiang, SQ., et al., *The association between severe COVID-19 and low platelet count: evidence from 31 observational studies involving 7613 participants*. Br J Haematol, 2020. **190**(1), e29–33.
- 54) Liu, Y., Sun W, Guo Y, Chen L, Zhang L, Zhao S, et al. *Association between platelet parameters and mortality in coronavirus disease 2019: retrospective cohort study*. Platelets, 2020. **31**(4), 490–6.
- 55) Paliogiannis, P., et al., *Laboratory test alterations in patients with COVID-19 and non COVID-19 interstitial pneumonia: a preliminary report*. The Journal of Infection in Developing Countries, 2020. **14**(07), p. 685–690.
- 56) Zhou, Y., et al., *Pathogenic T-cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storms in severe COVID-19 patients*. Natl Sci Rev, 2020. **7**(6), p. 998-1002.

- 57) Malik, P., Patel, U., Mehta, D., Patel, N., Kelkar, R., Akrmah, M., Gabrilove, J. L., & Sacks, H. (2021). *Biomarkers and outcomes of COVID-19 hospitalisations: systematic review and meta-analysis*. *BMJ evidence-based medicine*, 26(3), 107–108.
- 58) Sager, R., et al., *Are admission procalcitonin levels universal mortality predictors across different medical emergency patient populations? Results from the multi-national, prospective, observational TRIAGE study*. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 2017. 55(12), p. 1873–1880.
- 59) Schuetz, P. et al. *Serial Procalcitonin Predicts Mortality in Severe Sepsis Patients: Results From the Multicenter Procalcitonin Monitoring SEpsis (MOSES) Study*. *Critical care medicine*, 2017. 45(5), p. 781–789.
- 60) Huang, I., et al., *C-reactive protein, procalcitonin, D-dimer, and ferritin in severe coronavirus disease-2019: a meta-analysis*. *Therapeutic advances in respiratory disease*, 2020. 14, 1753466620937175.
- 61) Liu, F., et al, *Prognostic value of interleukin-6, C-reactive protein, and procalcitonin in patients with COVID-19*. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 2020. 127, 104370.
- 62) Perico, L, et al., *Immunity, endothelial injury and complement-induced coagulopathy in COVID-19*. *Nature reviews. Nephrology*, 20220. 17(1), p. 46–64.
- 63) Koji, T. and Michael, K., *IL-6 and related cytokines as the critical lynchpins between inflammation and cancer*. *Semin. Immunol*, 2014. 26, p. 54–74.
- 64) Li, G., et al., *Coronavirus infections and immune responses*. *Journal of medical virology*, 2020. 92(4), p. 424–432.
- 65) Coomes, E. A., & Haghbayan, H. *Interleukin-6 in Covid-19: A systematic review and meta-analysis*. *Reviews in medical virology*, 2020. 30(6), 1–9.
- 66) Liu, F., et al., *Prognostic value of interleukin-6, C-reactive protein, and procalcitonin in patients with COVID-19*. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 2020. 127, 104370.

- 67) Akbari, H., *The role of cytokine profile and lymphocyte subsets in the severity of coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis*. Life sciences, 2020. 258, 118167.
- 68) Han, H., et al., *Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors*. Emerging microbes & infections, 2020, **9**(1), p. 1123–1130.
- 69) Saraiva, M. and O'Garra, A., *The regulation of IL-10 production by immune cells*. Nat Rev Immunol. 2010. **10**(3), 170-81.
- 70) Ji, P., et al., *Association of elevated inflammatory markers and severe COVID-19: A meta-analysis*. Medicine, 2020. **20;99**(47):e23315.
- 71) Ghazavi, A., et al., *Cytokine profile and disease severity in patients with COVID-19*. Cytokine, 2021. 137, 155323.
- 72) Liu, Y. et al., *Elevated plasma levels of selective cytokines in COVID-19 patients reflect viral load and lung injury*. Natl Sci Rev, 2020. **7**(6), p. 1003-1011.
- 73) McGeachy MJ, Cua DJ, Gaffen SL. The IL-17 Family of Cytokines in Health and Disease. Immunity. 2019 Apr 16;50(4):892-906.
- 74) He, L., et al., *Incorporation of Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin and Computed Tomography Quantification to Predict Acute Kidney Injury and In-Hospital Death in COVID-19 Patients*. Kidney diseases, 2021. **7**(2), 120–130.
- 75) Duda, I., et al., *Plasma Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Is Useful for Predicting Mortality in Critically Ill Patients*. Journal of clinical medicine, **10**(12), 2576.
- 76) Varim, C., et al., *Relationship between serum osteopontin levels and the severity of COVID-19 infection*. Wien Klin Wochenschr, 2021. **133**(7-8), p. 298-302.
- 77) Han, H., et al., *Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors*. Emerging microbes & infections, 2020. **9**(1), p. 1123–1130.
- 78) Ali, H., et al., *Survival rate in acute kidney injury superimposed COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis*. Ren. Fail, 2020. **42**(1):393–397.

# ANEXOS



**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



HOSPITAL JUÁREZ  
DE MÉXICO

**Dirección de Investigación y Enseñanza  
SURPROTEM/POSGRADO**

## Lista de Cotejo de Validación de Tesis de Especialidades Médicas

<b>Fecha</b>	12	Julio	2022
	día	mes	año

INFORMACIÓN GENERAL (Para ser llenada por el área de Posgrado)				
<b>No. de Registro del área de protocolos</b>	Si	x	No	Número de Registro
HJM243/21-I				
<b>Título del Proyecto</b> MARCADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES CON SARS COV2 POSITIVO				
<b>Nombre Residente</b>	OSCAR DE JESUS GAMBOA HERNANDEZ			
<b>Director de tesis</b>	NAYELI GORETI NIETO VELAZQUEZ			
<b>Director metodológico</b>				
<b>Ciclo escolar que pertenece</b>	2021-2022	<b>ESPECIALIDAD</b>	MEDICINA INTERNA	
INFORMACIÓN SOBRE PROTOCOLO/TESIS (Para ser validado por la División de Investigación/SURPROTEM)				
<b>VERIFICACIÓN DE ORIGINALIDAD</b>	<b>HERRAMIENTA</b>	<b>PLAGSCAN</b>	<b>PORCENTAJE</b>	5%
<b>COINCIDE TÍTULO DE PROYECTO CON TESIS</b>	SI	X	NO	
<b>COINCIDEN OBJETIVOS PLANTEADOS CON LOS REALIZADOS</b>	SI	X	NO	
<b>RESPONDE PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</b>	SI	X	NO	
<b>RESULTADOS DE ACUERDO A ANÁLISIS PLANTEADO</b>	SI	X	NO	
<b>CONCLUSIONES RESPONDEN PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</b>	SI	X	NO	
<b>PRETENDE PUBLICAR SUS RESULTADOS</b>	SI	X	NO	
VALIDACIÓN (Para ser llenada por el área de Posgrado)				
<b>Si</b>	X	<b>Comentarios</b>		
<b>No</b>				

VoBo. SURPROTEM/DIRECCIÓN  
DE INVESTIGACIÓN

