



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO  
FACULTAD DE QUÍMICA  
ESPECIALIZACIÓN EN BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**CORRELACIÓN DE LAS VARIANTES GENÉTICAS RS6025 (FVL),  
RS1799963(PTR), RS2230037 (G6PD) Y RS800292 (CFH) CON EL TIEMPO  
PARCIAL DE TROMBOPLASTINA, TIEMPO DE PROTROMBINA Y  
DESHIDROGENASA LÁCTICA EN PACIENTES CON COVID-19 DEL  
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO**

**TESINA EXPERIMENTAL**

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

**EN:  
BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**PRESENTA:  
HABACUC GRANJA PACHECO**

**TUTOR-DIRECTOR DE TESIS:  
DRA. KATY ALEJANDRA SÁNCHEZ POZOS**

**CD. MX. FACULTAD DE QUÍMICA 2023**





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## **Agradecimientos**

Esta tesina se realizó en el Laboratorio de Diabetes de la Facultad de Química de la UNAM y en la División de Investigación del Hospital Juárez de México.

A la Dra. Katy Sánchez Pozos por su apoyo y ayuda para llevar a cabo este trabajo.

Al excelente equipo de la división de investigación del Hospital Juárez de México: QFBT. Katia Avilés, M. en C. Joel Jaimes Santoyo, L.N. Alicia Mejía Blanquel, Dra. en C. Guadalupe Ortiz López.

A la Facultad de Química-UNAM. Posgrado en Especialización en Bioquímica Clínica

## Índice general

Carta de revisión / aprobación de tesina por la tutora. . **¡Error! Marcador no definido.**

1. Resumen .....	5
2. Introducción.....	7
2.1 Justificación .....	8
3. Marco teórico.....	9
3.1 Curso de la enfermedad COVID-19 .....	9
3.2 Parámetros bioquímicos estudiados en los pacientes con COVID-19 .....	10
3.3 Tiempo de protrombina .....	11
3.4 Tiempo de tromboplastina parcial activado .....	12
3.5 Deshidrogenasa Láctica.....	14
3.6 Variantes genéticas.....	15
4. Planteamiento del problema.....	20
5. Pregunta de investigación .....	21
6. Hipótesis.....	21
7. Objetivo general .....	21
8. Definición operativa de variables.....	23
9. Materiales y métodos .....	25
9.1 Diseño de estudio y tipo de investigación .....	25
9.2 Calculo del tamaño de muestra:.....	25
9.3 Delimitación temporal.....	26
9.4 Población: .....	26
9.5 Criterios de selección .....	26
9.5.1 Criterios de inclusión.....	26
9.5.2 Criterios de eliminación.....	26
9.5.3 Criterios de exclusión:.....	26
9.6 Datos demográficos y determinaciones bioquímicas .....	27
9.7 Extracción de ADN.....	27
9.8 Genotipificación.....	29
10. Análisis estadístico e interpretación de datos.....	30
11. Aspectos éticos .....	30

12. Aspectos de bioseguridad .....	30
13. Resultados .....	31
13.1 Análisis de correlación. ....	35
14. Discusión de resultados .....	37
15. Conclusión.....	41
16. Perspectivas.....	41
17. Referencias .....	42
18. Anexos .....	49
Anexo 1. Consentimiento informado .....	49
Anexo 2. Aprobación del comité de ética.....	54

### Índice de tablas e imágenes

	Página
Tabla 1. Variantes genéticas y su relación con complicaciones en COVID-19.....	20
Tabla 2. Operacionalización de variables.....	23
Tabla 3. Variantes genéticas estudiadas.....	29
Tabla 4. Características de la población de pacientes con COVID-19 del Hospital Juárez de México.....	32
Tabla 5. Características de la población de pacientes vivos y fallecidos con COVID-19 del Hospital Juárez de México.....	32
Tabla 6. Frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes estudiadas.....	34
Tabla 7. Comparación de las frecuencias alélicas entre los pacientes del Hospital Juárez de México y las poblaciones del mundo reportadas en gnomAD .....	35
Tabla 8. Correlación entre la variante genética rs800292 (CFH) y los parámetros bioquímicos de pacientes con COVID-19 del Hospital Juárez de México.....	36
Tabla 9. Correlación entre la variante genética rs800292 (CFH) y los parámetros bioquímicos de pacientes vivos y fallecidos afectados con COVID-19 del Hospital Juárez de México.....	36
Imagen 1 Electroforesis tipo.....	31
Imagen 2 Ejemplo de la distribución alélica.....	32

## Abreviaturas

ACE2	Enzima convertidora de angiotensina humana 2
APC	Proteína C activada
CFH	Factor del Complemento Hemolítico
CID	Coagulación intravascular diseminada
DHL	Deshidrogenasa láctica
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
ETEVE	Enfermedad trombótica venosa
ETV	Evento trombótico venoso
FVL	Factor V Leiden
G6PD	Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa
INR	Razón Internacional Normalizado
PCR	Proteína C reactiva
PTR	Protrombina
SDRA	Síndrome de dificultad respiratoria aguda
SNP	Polimorfismos de un solo nucleótido
TP	Tiempo de protrombina
TTP	Tiempo parcial de tromboplastina
UI/ mL	Unidades internacionales por mililitro

## 1. Resumen

**Antecedentes:** A finales de diciembre de 2019, se reportó en China un brote de neumonía de etiología desconocida. El agente etiológico identificado fue el virus SARS-CoV-2 y la enfermedad causada se denominó COVID-19, la cual se convirtió en una pandemia mundial. La manifestación clínica más grave generada por el virus SARS-CoV-2 es la neumonía originando fiebre, tos, disnea y opacidades pulmonares. Los pacientes en estado grave o crítico por esta enfermedad padecen un estado de hipercoagulabilidad caracterizado por angiopatía trombótica macrovascular y microvascular. Existen variantes genéticas que se han relacionado con el desarrollo de eventos trombóticos en COVID-19 en poblaciones Caucásicas.

**Objetivo:** Evaluar la correlación de las variantes genéticas rs6025 (FVL), rs1799963 (PTR), rs2230037 (G6PD) y rs800292 (CFH) con el tiempo de tromboplastina (TP), tiempo parcial de tromboplastina (TTP) y deshidrogenasa láctica (DHL), en los pacientes con COVID-19 leve a grave del Hospital Juárez de México.

**Metodología:** se reclutaron 193 pacientes del Hospital Juárez de México que cursaron con COVID-19 de leve a grave. Las pruebas de laboratorio: TP, TTP se tomaron en tubos con citrato al 3.8% y para DHL en un tubo sin aditivos, se procesaron de acuerdo con los protocolos establecidos en el laboratorio central del Hospital Juárez de México. Adicionalmente se les tomó una muestra de sangre periférica en tubos con EDTA para extraer el ADN que se utilizó para la genotipificación de las variantes genéticas por medio de PCR en tiempo real y sondas TaqMan. Las frecuencias alélicas entre poblaciones se compararon mediante chi cuadrada. El equilibrio de Hardy Weinberg

se determinó por chi cuadrada. Para el análisis de correlación se utilizaron ANCOVAs ajustadas por sexo y edad.

**Resultados:** el 96.9% de los pacientes (187) presentaron TP elevado. De manera interesante los pacientes fallecidos presentaron niveles de deshidrogenasa láctica significativamente más altos comparados con los que no fallecieron. La frecuencia de las variantes genéticas fue 0.3% para rs6025 (FVL), 0.5% para rs1799963 (PTR), 39.4% para la variante rs800292 (CFH) y 22.5% para rs2230037 (G6PD). Debido a la baja frecuencia de rs6025 y rs1799963, y a que rs2230037 no cumplió con el Equilibrio de Hardy-Weinberg, estas variantes no fueron consideradas en el análisis de correlación. La variante rs800292 (CFH) presentó una frecuencia diferente a la población Europea y Africana. Cuando se estratificó por vivos y fallecidos, se observó que los portadores de la variante rs800292 (CFH) en el grupo de fallecidos presentaron un valor de TP significativamente más alto comparado con aquellos que no portaban la variante.

**Conclusión:** Por lo tanto, la variante genética rs800292 se encuentra correlacionada con valores de TP significativamente más altos en los pacientes con COVID-19 grave fallecidos. Estos resultados sugieren que esta variante contribuye al estado de hipercoagulabilidad que desarrollan los pacientes con COVID-19 grave del Hospital Juárez de México.



## **2. Introducción**

### **SARS-CoV-2**

A finales de diciembre de 2019, se reportó en China un brote de neumonía de etiología desconocida. El diagnóstico y análisis epidemiológico vinculó su aparición con el mercado de mariscos y animales en Wuhan, China. El agente etiológico causante de la neumonía de origen desconocido fue el SARS-CoV-2; la enfermedad causada por dicho virus fue denominada COVID-19, la cual se ha extendido drásticamente en todo el mundo para convertirse en una pandemia global (Aimrane et al., 2022).

La manifestación más grave generada por el virus SARS-CoV-2 es la neumonía caracterizada por fiebre, tos, disnea y opacidades pulmonares bilaterales en la radiología de tórax (Gil et al., 2021; Sánchez Valverde et al., 2021). Los pacientes en estado crítico por esta enfermedad padecen un estado de hipercoagulabilidad caracterizado por angiopatía trombótica macrovascular y microvascular. De hecho, alrededor del 20% de los pacientes muestran complicaciones relacionadas con los trastornos de la coagulación (Asteris et al., 2022). Dichos trastornos en la coagulación se manifiestan por alteraciones en los tiempos de coagulación junto con parámetros bioquímicos como marcadores de daño tisular entre los cuales se encuentra la elevación de la deshidrogenasa láctica (DHL); por lo que la alteración de este parámetro fue relacionada con el pronóstico de COVID-19 en personas afectadas (Sáenz Morales et al., 2022a).

Por otro lado, existe evidencia de que diversas variantes genéticas están relacionadas con complicaciones en los pacientes con COVID-19, principalmente en poblaciones europeas (Stanković et al., 2020). Se ha reportado que las variantes genéticas rs6025 (FVL), rs1799963 (PTR) están relacionadas con el riesgo de eventos trombóticos, mientras que las variantes rs2230037(G6PD) y rs800292 (CFH) se han relacionado con formas graves de COVID-19 (Gavriilaki et al., 2021) por lo tanto, el objetivo de este proyecto es evaluar la correlación de las variantes genéticas rs6025 (FVL), rs1799963 (PTR), rs2230037 (G6PD) y rs800292 (CFH) con el TP, TTP y DHL en pacientes con COVID-19 (Trujillo-Araujo et al., 2021).

## **2.1 Justificación**

Ante los retos suscitados por la pandemia de COVID-19 es importante evaluar el papel que juegan los factores genéticos en la población mexicana sobre las características sintomáticas graves de los pacientes que cursan con la enfermedad. Debido a que las poblaciones en el mundo son heterogéneas genéticamente y a que esta característica hace que las enfermedades y su pronóstico se comporten de una manera particular en cada región, es necesario que en cada población se investigue cómo influyen las variantes genéticas en el desarrollo de las enfermedades. Así, la importancia de conocer qué variantes genéticas porta la población en riesgo de presentar COVID-19 grave podría apoyar en la implementación de estrategias efectivas que impacten en las cifras de morbilidad y mortalidad de la población. Para esto es necesario conjuntar la colaboración con diversos especialistas e integrar parámetros adicionales que puedan ayudar en el pronóstico de la enfermedad. Adicionalmente el conocimiento

generado en el área de la medicina genómica representa una oportunidad para afrontar de mejor manera la pandemia generada por el SARS-CoV-2.

### **3. Marco teórico**

#### **3.1 Curso de la enfermedad COVID-19**

##### Leve y moderado

La infección por SARS-CoV-2 puede ser asintomática (33 a 50%). La ausencia de tos disminuye la transmisión. La tos junto con la fiebre son las manifestaciones más frecuentes; aun así, debe realizarse una monitorización de la situación clínica durante un tiempo mínimo de dos semanas. También se puede presentar sintomatología gastrointestinal y cursar sin manifestaciones clínicas respiratorias. En la COVID-19 leve y moderada las manifestaciones clínicas son fiebre, fatiga, tos, anorexia, malestar general, dolor muscular, dolor de garganta, disnea, congestión nasal, dolor de cabeza. En la leve no hay hallazgos anormales en la imagen de tórax, mientras que en la moderada las imágenes de tórax muestran una neumonía leve (Gao et al., 2021).

Entre un 80 a 85% de los casos son leves o moderados (incluye neumonía leve), un 10 a 14% son graves (neumonía grave), requiriendo hospitalización y un 5 a 6% son críticos (insuficiencia respiratoria, shock séptico y/o fallo multiorgánico) con elevada mortalidad (Molero-García et al., 2021).

##### Grave

En los casos graves, la COVID-19 se caracteriza por un incremento de citocinas proinflamatorias y como consecuencia hiperinflamación, activación plaquetaria,

disfunción endotelial y coagulopatía relacionada con la sepsis (McGonagle et al., 2020; Bai et al., 2020). Asimismo, el engrosamiento vascular pulmonar también se ha observado con frecuencia en pacientes con COVID-19 grave en comparación con pacientes con neumonía no relacionada con COVID-19, lo que sugiere un tropismo potencial del virus por la vasculatura pulmonar, (Vivas et al., 2020; Wang et al., 2020; Mummery & Rider, 2000). De este modo, el incremento de citocinas conduce a la necrosis de células epiteliales, al aumento de la permeabilidad de las células vasculares y a la inmunidad celular y humoral anormal, lo que eventualmente da como resultado una lesión pulmonar aguda, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) y muerte (Shi et al., 2020; Llover & Jiménez, 2021).

Los pacientes que sufren una infección por SARS-CoV-2 tienen un aumento del riesgo de eventos tromboembólicos, especialmente enfermedad trombótica venosa (ETEV), relacionada con la situación crítica y de inmovilización que conlleva a la hospitalización en pacientes graves con COVID-19. Al respecto, un metaanálisis reciente informó una tasa combinada de ETEV del 14.7% y el 23.2% en pacientes hospitalizados y en unidades de cuidados intensivos, respectivamente (Tan et al., 2021). Es por ello que las estrategias de prevención efectivas de la ETEV son cruciales en la clínica (Ortiz-Prado et al., 2020).

### **3.2 Parámetros bioquímicos estudiados en los pacientes con COVID-19**

Los hallazgos más típicos en pacientes con infección por COVID-19 severa y coagulopatía son: 1) disminución en el recuento de plaquetas; 2) aumento constante de la concentración de dímero-D; 3) procalcitonina; 4) interleucina-6; 5) ferritina, así

como, 6) prolongación leve de los tiempos de coagulación (tiempo de protrombina, TP y tiempo parcial de tromboplastina activado, TTPa) (Piera Carbonell et al., 2020). No obstante, el presente estudio se enfocará en TP, TTPa y DHL debido a que todos los pacientes incluidos contaban con estos datos.

### **3.3 Tiempo de protrombina**

El TP evalúa las vías extrínseca y común del sistema de coagulación. La prueba consiste en medir el tiempo de coagulación en sangre tratada con citrato de sodio, como quelante de calcio en presencia de tromboplastina (mezcla de factor tisular con fosfolípidos) e iones calcio. El TP refleja cambios en los niveles de tres factores vitamina K-dependientes (FII, FVII, FX) y del FV. Los niveles de fibrinógeno que son capaces de alterar el TP son aquellos por debajo de los 50 mg/dL en donde la alteración del TP es considerable (Me, 2017).

Los resultados del TP pueden expresarse en tiempo (segundos), % o en razones (TP paciente / TP normal). Si bien en ciertos países el resultado en segundos y en razones es utilizado, se sabe que el informe en segundos y la razón dependen significativamente del tipo de reactivo y del instrumento utilizado en la detección del coágulo. Este problema es mejorado si se expresa en % de actividad. Para informar en % de actividad se debe realizar una curva de calibración con un pool de plasmas normales o un calibrador comercial, el valor de referencia está entre 70-120% o expresado en razón, ésta debe ser menor a 1.2 (Me, 2017).

El TP es el método elegido para monitorear pacientes bajo tratamiento con anticoagulación oral con dicumarínicos, pero en este caso se debe expresar en Razón

Internacional Normalizado (INR) que es la razón entre el tiempo del paciente y la media geométrica de TP de la población no enferma en el laboratorio elevado a una potencia que es el ISI (índice de sensibilidad indicado por el fabricante). Para calcular el INR se utiliza el ISI o índice de sensibilidad internacional que se calcula a partir de la comparación de los tiempos obtenidos de muestras de pacientes con la tromboplastina a calibrar comparado con una tromboplastina patrón internacional (IRP) (Rodríguez C. A. & Rodríguez S. R., 2011).

Cabe recordar que el TP es una prueba global y, por lo tanto, refleja el equilibrio entre los distintos factores que intervienen en la activación *in vitro* de la vía extrínseca. Por lo que la deficiencia de un factor aislado tendrá menor repercusión que la deficiencia de varios factores (Espinosa G. & Reverter J.C, 2001).

### **3.4 Tiempo de tromboplastina parcial activado**

El TTPa es una prueba de chequeo de la vía intrínseca del sistema de coagulación, que detecta niveles disminuidos de los factores implicados en esta vía: VIII, XI, IX y XII. Es menos sensible a los factores de la vía final común (II, V y X) (Sáenz Morales et al., 2022b).

La prueba consiste en medir el tiempo de coagulación del plasma tratado con citrato de sodio en presencia de tromboplastina parcial (la fracción fosfolipídica de la tromboplastina, denominada cefalina), un activador de carga negativa (que puede ser de distinto tipo, por ej. sílica) e iones calcio. Sus valores son dependientes del reactivo y del sistema de detección del coágulo, por lo que cada laboratorio los debe establecer e informar. Los diferentes reactivos muestran distinta sensibilidad al déficit ligero de

factores de la vía intrínseca, a la presencia de inhibidores adquiridos o de heparina no fraccionada (Espinosa G. & Reverter J.C, 2001).

Se observan valores prolongados de TTPa en:

- Déficit congénito y/o adquirido de los factores II, V, VIII, IX, X, XI y XII. Siempre hay que recordar que es una prueba global y que la deficiencia ligera o aislada de un solo factor puede no modificar demasiado la prueba.
- Anticoagulación oral con anti-vitamina K dependiendo del nivel de anticoagulación
- Tratamiento con heparina de bajo peso molecular, especialmente a dosis terapéuticas
- Anticoagulación con heparina no fraccionada (prueba que se utiliza para dosificarla)

En cuanto a la utilización del TTPa para dosificar la heparina no fraccionada, los valores de TTPa que corresponden a niveles de heparina terapéutica (0.2-0.4 UI/mL o 0.3-0.7 U anti Xa/mL) varían de acuerdo con el reactivo y el sistema de detección (coagulómetro) (Me, 2017).

Respecto a los casos en los que se cursa con un evento de coagulación intravascular diseminada (CID) se ha observado que algunos pacientes con infección grave por COVID-19 y fallo multiorgánico progresan a una coagulopatía que cumple con los criterios de CID según los criterios de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH). Esto se refleja en la trombocitopenia moderada a severa (recuento

de plaquetas  $< 50 \times 10^9/L$ ), prolongación del TP y el TTPa y disminución del fibrinógeno ( $< 1.0 \text{ g/L}$ ) (Espinosa G. & Reverter J.C, 2001).

La hipercoagulabilidad es un problema importante en pacientes con infección por COVID-19 y el sistema hemostático se desplaza notablemente hacia el lado procoagulante en estos pacientes. Con lo cual los valores de TP y TTPa se ven alterados en los individuos afectados por COVID-19 (Rodríguez C. A. & Rodríguez S. R., 2011).

### **3.5 Deshidrogenasa Láctica**

La DHL está presente en diversos tejidos y órganos, dicha enzima citoplasmática cataliza la conversión del ácido pirúvico en lactato. Existen cinco isoformas diferentes de DHL que se distinguen por pequeñas diferencias en su estructura, a las que se le denomina isoenzimas, las cuales se encuentran bien caracterizadas, y están relacionadas con diversas enfermedades. Su distribución en diferentes órganos y tejidos es la siguiente: DHL-1 corazón y glóbulos rojos; DHL-2 glóbulos blancos; DHL-3 pulmones; DHL-4 riñones, placenta y páncreas; y DHL-5 hígado y músculos. Se ha reportado que esta enzima se altera en enfermedades pulmonares incluyendo las causadas por virus respiratorios. Así, el daño tisular que implica la ruptura de membranas genera una alta concentración de DHL en circulación. La aparición extracelular anormal de la DHL, detectable en suero, se ha usado como un marcador de pronóstico negativo en un gran número de condiciones clínicas, incluyendo sepsis, daño tisular y daño pulmonar (Guerrero Topete et al., 2021).



La DHL se puede considerar como un marcador pronóstico ya que en el reconocimiento de lesiones pulmonares tempranas y en casos graves de COVID-19 tiene gran utilidad al estar relacionado con su aumento en los niveles séricos por lo que su medición puede predecir de forma sencilla, económica y rápida los casos severos por infección por SARS-CoV-2. Sin embargo, no es una enzima específica, por lo que junto con otros parámetros bioquímicos fueron de ayuda en el pronóstico de la gravedad de la COVID-19 durante la pandemia. En el curso severo por SARS-CoV-2 se han puntualizado criterios clínicos, de imagen y laboratorio, encontrando diversos marcadores, incluida la DHL. La cual tiene importancia como un biomarcador asociado a daño pulmonar y considerada como marcador en la definición de severidad (Gupta, 2022).

### **3.6 Variantes genéticas**

Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) son el tipo más común de variación genética que se encuentra en el genoma humano y representan la razón principal del 90% de todos los tipos de variaciones genéticas entre individuos (Qian et al., 2015). Existen variantes genéticas que han sido asociadas con la gravedad de COVID-19. De las variantes genéticas revisadas en la literatura, se eligieron las más estudiadas en las poblaciones alrededor del mundo y que estuvieran relacionadas con la gravedad de COVID-19.

#### rs1799963 (PTR)

El cambio de una sola variante G20210a (rs1799963), que se encuentra en la región no traducida 3' del gen de la protrombina (PTR o F2) se ha asociado con un aumento

de los niveles de protrombina y, por tanto, con la activación de la trombina (Finan et al., 2002; Poort et al., 1996). El cambio de guanina a adenina provoca un aumento de los niveles de protrombina en un 70% aumentando así la propensión a la coagulación de la sangre, esto se encontró en diversas poblaciones humanas (Segal et al., 2009).

La búsqueda de la variante rs1799963 en el gen de la PTR ha sido estudiada en combinación con otras variantes y datos clínicos específicos en una población de Barcelona, España: para establecer un algoritmo predictivo del riesgo de aparición de un ETV (Soria et al., 2022).

Específicamente en una población de Suecia se observó que los portadores de la variante rs1799963 tenían un mayor riesgo de ETEV (OR=1.6,  $p<0.001$ ) en el caso de heterocigotos, y en el caso de homocigotos este riesgo aumentó diez veces (OR=11.3,  $p<0.001$ ) (Manderstedt et al., 2022a).

#### rs6025 (FVL)

La variante en la posición 1691 en el exón 10 en el gen que codifica el factor de coagulación V (rs6025) da como resultado un cambio de guanina por adenina (G1691A). Dicha variación conduce al remplazo del aminoácido arginina (R) en el codón 506 por el aminoácido glutamina (Q). Dicho cambio hace que el Factor V sea menos efectivo como cofactor de la proteína C activada (APC) y no presente inactivación (Thorelli et al., 1999). La falta de inactivación de FV por APC conduce a un aumento de 5 a 10 veces la probabilidad de formación de trombos (Heeb et al., 1995). En este sentido los portadores de esta variante y que presenten la COVID-19

podrían tener un mayor riesgo a presentar eventos trombóticos (Manderstedt et al., 2022a).

Es importante mencionar que en la trombofilia, condición que predispone a los pacientes a trombosis, están involucrados factores genéticos como la presencia de las variantes rs1799963 (PTR) y rs6025 (FVL) (Kiraz et al., 2021). La combinación de las variantes rs1799963 en PTR y rs6025 en FVL, que se han descrito de manera clásica como variantes que participan de manera independiente en el riesgo trombótico, se han utilizado en conjunto para establecer un modelo predictivo de acuerdo con un puntaje de riesgo para padecer complicaciones trombóticas (Soria et al., 2022). En dicho estudio, se observó un aumento del doble del riesgo de EVET al portar las dos variantes.

En un estudio reciente (Xie et al., 2022), en pacientes caucásicos del Reino Unido, se observó una asociación de rs6025 con la presencia de eventos trombóticos, en este contexto los portadores de la variante presentaron dos veces el riesgo de tromboembolismo venoso.

#### rs2230037(G6PD)

La variante de sustitución de transición intergénica rs2230037(G6PD) se ha relacionado con bloqueo a la microcirculación en pacientes que cursan con infecciones, manteniendo una relación con eventos de coagulación en los pacientes que cursan con COVID-19. Dicha variante genética está involucrada en la farmacocinética como en la farmacodinamia de medicamentos usados en pacientes

con COVID19, con la posibilidad de ocasionar reacciones adversas medicamentosas (RAM), así como en las reacciones de hipersensibilidad al fármaco; lo que también puede determinar una reacción inmunológica severa (Khan, 2016) . La evaluación genética puede predecir la aparición de efectos tóxicos relacionados con los medicamentos. En este contexto, la variante rs2230037(G6PD) que se relaciona con la deficiencia de glucosa-6 fosfato deshidrogenasa en pacientes con hidroxicloroquina aumenta el riesgo de complicaciones como la hemolisis, por lo que dicho tratamiento puede conllevar a desencadenar más complicaciones en los pacientes. Una terapia prometedora que se ha usado durante la pandemia es la compuesta por cloroquina e hidroxicloroquina, que previene la entrada viral e inhibe la endocitosis. La cloroquina interfiere con la glicosilación terminal del receptor celular, enzima convertidora de angiotensina 2, previniendo la entrada del virus. También inhibe la replicación, el transporte de virus y su liberación. La cloroquina tiene una actividad inmunomoduladora, que puede mejorar sinérgicamente su efecto antiviral in vivo (Daly, 2017; Badary, 2021). La hidroxicloroquina es una cloroquina análoga, más soluble que la cloroquina, y comparte el mismo mecanismo de acción que la cloroquina. La cloroquina ha mostrado favorablemente la eliminación del virus en pacientes con COVID-19 y para evitar su toxicidad se prefiere la administración de hidroxicloroquina sin embargo la variante rs2230037(G6PD) obstaculiza la eficacia del tratamiento (Stanković et al., 2020).

Ante la pandemia global de COVID-19 un sin número de terapias farmacológicas ha sido utilizado, en un intento urgente por aminorar su letalidad, muchos medicamentos

sin eficacia establecida se han utilizado en pacientes, ya sea como uso autorizado por la emergencia sanitaria, pasivo o como ensayo clínico. En medio de estas circunstancias se han utilizado diversos fármacos sin suficiente evidencia de eficacia y grado de toxicidad (Mansory et al., 2021).

#### rs800292 (CFH)

La sustitución de transición produce cambio de sentido erróneo intergénico que implica el cambio de aminoácido en la proteína de ILE62VAL en el exón 2 (Ng et al., 2008).

Existe evidencia que sugiere que el SARS-CoV-2 induce un círculo vicioso de disfunción inmunitaria, lesión endotelial, activación del complemento y microangiopatía. En particular, la enfermedad COVID-19 grave es de carácter vascular multisistémica caracterizada por disfunción endotelial. Por lo tanto, una mejor comprensión de la disfunción endotelial y la activación del complemento en la COVID-19 es de suma importancia (Asteris et al., 2022).

La variante rs800292 (CFH) se ha asociado con formas graves de la enfermedad, por lo que algunos estudios han sugerido que es útil para predecir la severidad de la enfermedad COVID-19. La activación del complemento es una característica clave en diversos trastornos mediados por el complemento, entre ellos, las microangiopatías trombóticas (MAT) han sido investigadas a fondo. Las mutaciones de la línea germinal en genes relacionados con el complemento son un factor que participa en el impacto de la enfermedad en el paciente. Se ha encontrado que pacientes que no presentan la

variante rs800292 (CFH) no requirieron hospitalización, encontrando así una relación con la gravedad de la enfermedad (Gavriilaki et al., 2021).

**Tabla 1.** Variantes genéticas y su relación con complicaciones en COVID-19.

<b>Variante</b>	<b>Gen</b>	<b>Asociación</b>	<b>Referencias</b>
rs6025	Factor V Leiden	Eventos trombóticos	(Stevens et al., 2021; Xie et al., 2022)
rs1799963	Protrombina	Eventos trombóticos	(Manderstedt et al., 2022b; Soria et al., 2022)
rs2230037	G6PD	Bloqueo a la microcirculación y toxicidad	(Stanković et al., 2020)
rs800292	FCH	Microangiopatías trombóticas	(Gavriilaki et al., 2021)

#### **4. Planteamiento del problema**

El riesgo de un evento trombótico venoso (ETV) afecta en gran manera el pronóstico de la enfermedad de COVID-19. Así, durante la crisis sanitaria generada por COVID-19 se suscitó un desafío para el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad; por lo que fue necesario establecer los parámetros bioquímicos alterados en los pacientes, dicha información resultó oportuna para conocer el riesgo con el que cursaban al contraer la enfermedad. Debido a la rapidez con la que se presentó la pandemia, no se realizaron estudios moleculares que proporcionaran información de la participación de los factores genéticos en la presencia de complicaciones en COVID-19, por lo que el estudio de la contribución de los factores genéticos en la susceptibilidad de padecer

un ETV brinda un mayor conocimiento para proponer estrategias de profilaxis o preventivas así como establecer un mejor manejo de la enfermedad. Es por ello, que resulta de gran importancia conocer la relación de las variantes genéticas rs6025 (FVL), rs1799963 (PTR), rs2230037 (G6PD) y rs800292 (CFH) con la alteración de los parámetros bioquímicos en los pacientes del Hospital Juárez de México que cursaron COVID-19.

## **5. Pregunta de investigación**

¿Cuál es la relación entre las variantes genéticas rs6025 (FVL), rs1799963 (PTR), rs2230037 (G6PD) y rs800292 (CFH) y los parámetros de TP, TTP y DHL en pacientes con COVID-19?

## **6. Hipótesis**

La presencia de las variantes genéticas rs6025 (FVL), rs1799963 (PTR), rs2230037 (G6PD) y rs800292 (CFH) incrementan las alteraciones en los parámetros TP, TTP y DHL en pacientes que cursaron con COVID-19 comparados con los pacientes que no portan las variantes genéticas.

## **7. Objetivo general**

Evaluar la correlación de las variantes genéticas rs6025 (FVL), rs1799963 (PTR), rs2230037 (G6PD) y rs800292 (CFH) con el tiempo de tromboplastina (TP), tiempo parcial de tromboplastina (TTP) y deshidrogenasa láctica (DHL), en los pacientes con COVID-19 leve a grave del Hospital Juárez de México.

### **7.1 Objetivos específicos**

1. Determinar la frecuencia de las variantes genéticas rs6025 (FVL), rs1799963 (PTR), rs2230037 (G6PD) y rs800292 (CFH) en pacientes del Hospital Juárez de México afectados por COVID-19.

2. Determinar la relación entre los parámetros de tiempo de protrombina, tiempo parcial de tromboplastina y deshidrogenasa láctica y las variantes genéticas rs6025 (FVL), rs1799963 (PTR), rs2230037 (G6PD) y rs800292 (CFH) en pacientes del Hospital Juárez de México afectados por COVID-19.



## 8. Definición operativa de variables.

**Tabla 2.** Operacionalización de variables.

<b>Variable</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Tipo de variable</b>	<b>Unidad de medida</b>
Polimorfismo del gen rs1799963 (PTR)	Cambio en la secuencia del ADN de una base en la posición G20210A (aumenta los niveles plasmáticos de protombina con riesgo de trombosis)	Cambio de la secuencia del ADN determinada por sondas Taqman	Cualitativa Ordinal	Homocigoto Heterocigoto Homocigoto silvestre.
Polimorfismo del gen rs6025 (FVL)	Cambio en la secuencia del ADN de arginina (R) en el codón 506 por glutamina (Q). Relacionado con la formación de trombos	Cambio de la secuencia del ADN determinada por sondas Taqman.	Cualitativa Ordinal	Homocigoto Heterocigoto Homocigoto silvestre
Polimorfismo del gen rs2230037 (G6PD)	Cambio de la secuencia del ADN	Cambio de la secuencia del ADN determinada por sondas Taqman.	Cualitativa Ordinal	Homocigoto Heterocigoto Homocigoto silvestre

Polimorfismo del gen rs800292 (CFH)	Cambio de la secuencia del ADN	Cambio de la secuencia del ADN determinada por sondas Taqman.	Cualitativa Ordinal	Homocigoto Heterocigoto Homocigoto silvestre
Tiempo de protombina	Mide el tiempo de coagulación del plasma citrado tras la adición de un exceso de tromboplastina y calcio. Valora la vía extrínseca de la coagulación y común	Es el parámetro de control de la anticoagulación oral.	Cuantitativa Continua	Segundos.
Tiempo parcial de tromboplastina	Mide el tiempo de coagulación del plasma citrado en contacto con calcio y fosfolípidos.	Prueba para evaluar el tiempo que tarde la sangre en coagularse.	Cuantitativa Continua.	Segundos.
Deshidrogenasa láctica	Enzima citoplasmática que cataliza la conversión del piruvato en lactato	Marcador de daño tisular.	Cuantitativa continua	Unidades internacionales / L
Sexo	Características biológicas y fisiológicas que definen a hombres y mujeres	Identificación, proporcionado con el ingreso del paciente.	Cualitativa Nominal	Femenino Masculino
Edad	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento del paciente.	Años cumplidos al momento del estudio de acuerdo con la	Cuantitativa Discreta	Años

		fecha de nacimiento.		
--	--	----------------------	--	--

## 9. Materiales y métodos

### 9.1 Diseño de estudio y tipo de investigación

Estudio transversal retrospectivo.

### 9.2 Calculo del tamaño de muestra:

Tamaño de muestra para estimar una proporción.

$$n_0 = \frac{Z_{\alpha}^2 \cdot p(1 - p)}{d^2}$$

Z=1.97

p = frecuencia de la enfermedad

d = error

Considerando que el número de pacientes confirmados con COVID-19 es de 7,421,152 y que el número pacientes con COVID-19 en la Ciudad de México es de 1,743,399 se estima que alrededor del 23.5% de los infectados con SARS-Cov-2 se encontraron en la Ciudad de México.

Tomando en cuenta que del 23.5 % el 14 % pueden presentar trombosis, un nivel de confianza del 95% y un error del 5%, el cálculo de tamaño de muestra es de 186 pacientes.

### **9.3 Delimitación temporal**

Pacientes recibidos en el Hospital Juárez de México durante el periodo de agosto 2020 a junio del 2021.

### **9.4 Población:**

Se reclutaron 193 pacientes del Hospital Juárez de México.

### **9.5 Criterios de selección**

#### **9.5.1 Criterios de inclusión**

- Pacientes con COVID-19 con enfermedad leve, moderada o grave.
- Mayores de 18 años
- Sexo indistinto
- Prueba de PCR con diagnóstico positivo.
- Sujetos nacidos en México con abuelos y padres mexicanos; con la finalidad de tener una población latina y poder diferenciar con otras poblaciones del mundo.

#### **9.5.2 Criterios de eliminación**

- Imposibilidad de obtener de material genético.
- Sujetos que no decidieran continuar en el proyecto.

#### **9.5.3 Criterios de exclusión:**

- Pacientes no confirmados con COVID-19 por medio de prueba de PCR.

Antes del estudio se informó ampliamente las metas, el alcance del estudio y se firmó la carta de consentimiento informado. El proyecto se sometió al comité de Ética para

investigación en Humanos del Hospital Juárez de México y cuenta con registro HJM 010/21-1.

### **9.6 Datos demográficos y determinaciones bioquímicas**

Se obtuvo una muestra de sangre periférica en tubo con citrato de sodio, en tubo con EDTA y en un tubo sin aditivo. Se registraron los datos demográficos, incluyendo sexo y edad. Se realizó la revisión del expediente clínico obteniendo la siguiente información: perfil de tiempos de coagulación y DHL.

### **9.7 Extracción de ADN**

El aislamiento de ADN genómico se realizó a partir de la muestra de sangre periférica utilizando una modificación del método de purificación salina reportado por Miller et al. (Nasiri et al., 2005). El ADN se obtuvo a partir de leucocitos de sangre total, los cuales se obtuvieron por centrifugación en gradientes de densidad. El ADN se obtuvo tras la lisis nuclear y la precipitación en presencia de etanol frío. El ADN obtenido se reconstituyó en agua grado biología molecular. Se procedió a la cuantificación y verificación de la integridad del material genético mediante un nanodrop y electroforesis en agarosa, respectivamente. Posteriormente se realizaron diluciones de todas las muestras para obtener una concentración de 20 ng/ $\mu$ L.

#### Procedimiento para extracción de ácidos nucleicos

Obtención de leucocitos.

En un tubo cónico estéril de 15 mL se agregó:

-4mL de sangre periférica

-6.5mL de sacarosa-tritón 2X

-3.5mL de H<sub>2</sub>O destilada

Los tubos se mantuvieron en hielo antes de centrifugar.

Se centrifugaron a 2500 rpm por 15 min.

Se decantó el sobrenadante

Se realizaron 3 lavados del pellet con 3 mL de sacarosa-tritón 1X

En cada lavado se centrifugó a 2500 rpm por 15 minutos y se decantó el sobrenadante.

Para continuar con la lisis de leucocitos y contenido celular no genómico:

Se agregó lo siguiente:

1 mL de buffer de lisis nuclear

55 µL de SDS 10% dodecilsulfato de sodio.

25 µL de proteinasa K

Se dejaron los tubos en agitación constante por 24 horas en baño de agua destilada a 37°C.

Eliminación de proteínas mediante precipitación salina (Salting-out)

Se agregaron 600 µL de cloruro de sodio saturado.

Se agitó vigorosamente hasta disolver el pellet.

Se centrifugó a 3000 rpm por 15 min. a 4°C

Se transfirió el sobrenadante a otro tubo cónico estéril de 15 mL

### Precipitación del ADN

Se agregaron 2 volúmenes de etanol absoluto frío (se mantuvo siempre en hielo)

Se mezclaron las soluciones suavemente por inversión.

Se recuperó el ADN con una pipeta Pasteur sellada y esterilizada previamente.

Se lavó el ADN con etanol al 75%, y posteriormente se resuspendió en 200 µL de H<sub>2</sub>O grado biología molecular en un tubo eppendorf en baño seco a 37°C por 20 min.

### **9.8 Genotipificación**

La genotipificación se realizó mediante PCR en tiempo real. Se utilizaron sondas TaqMan de Thermo Fisher en un termociclador en tiempo real CFX 96 BioRad.

Para determinar las frecuencias alélicas y genotípicas se utilizaron las siguientes sondas TaqMan:

**Tabla 3.** Variantes genéticas estudiadas.

<b>Gen</b>	<b>Variantes genéticas (No. De catálogo)</b>
Factor V Leiden	rs6025 (C_11975250_10)
Protrombina	rs1799963 (C_8726802_20)
G6PD	rs2230037 (C_15851848_10)
FCH	rs800292 (C_2530382_10)

Las condiciones de la reacción utilizadas en el termociclador CFX 96 de Biorad fueron: 2 min a 55°C y 10 min a 95°C, seguidos por 45 ciclos de 20 s a 95°C y 1 min a 60°C.

## **10. Análisis estadístico e interpretación de datos**

Para determinar la distribución de las variables cuantitativas se usó una prueba de Kolmogorov-Smirnov. Los datos cuantitativos se presentaron como medias y desviaciones estándar o medianas e intercuartiles dependiendo de la distribución. Las frecuencias alélicas entre poblaciones se compararon mediante chi cuadrada. El equilibrio de Hardy Weinberg se determinó por chi cuadrada. Para correlacionar las variantes genéticas con los parámetros TP, TTP y DHL se utilizó el ANCOVA (análisis de varianza ajustado por edad y sexo). Para el análisis de correlación sólo se consideraron las variantes genéticas que tuvieran una frecuencia alélica mayor a 5% y que cumplieran con el equilibrio de Hardy Weinberg. Los análisis estadísticos se realizaron con el software SPSS v21.

## **11. Aspectos éticos**

Esta fue una investigación con riesgo mínimo, ya que se tomó una muestra de sangre periférica y se registraron medidas antropométricas (Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud). Se obtuvo la carta de consentimiento informado de todos los pacientes. Número de registro HJM 010/21-1.

## **12. Aspectos de bioseguridad**

Debido a que en el proyecto se manejaron muestras infectadas con SARS-CoV-2, de acuerdo con los Centros para el Control y Prevención de enfermedades (CDC) se



mantuvo el control adecuado para evitar la propagación del virus y la seguridad del personal que manejó las muestras. X

El personal involucrado en el manejo de las muestras que implicó: a) la toma de muestra y en la extracción de ADN, usó equipo de protección personal. El equipo de protección personal para la toma de muestra implicó obligatoriamente cubrebocas N95 o mascarilla con respirador de nivel superior, lentes o gafas de protección para los ojos, bata para laboratorio. Para el procesamiento de las muestras en la extracción de ADN se utilizó una campana de flujo laminar Clase II, con el fin de proporcionar una barrera entre la muestra y el personal. Precauciones adicionales incluyeron el uso de cubrebocas. La campana de flujo laminar en donde se llevó a cabo la extracción se desinfectó antes y después de llevar a cabo el procedimiento, así como cada hora durante el experimento o en el caso de derramamiento se trató con amonio cuaternario. Asimismo, los residuos generados de la extracción de ADN se recolectaron y destruyeron como desechos de riesgo biológico (RPBI) de acuerdo con la NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

### **13. Resultados**

Se contó con una población conformada mayoritariamente por hombres menores de 60 años, la mayoría de los pacientes tenían una mediana de edad de 56 años (Tabla 4). Como se puede observar en la Tabla 4 los pacientes con COVID-19 presentaron niveles elevados de DHL comparados con los valores de referencia (105-333 UI/L).

El TP se observa aumentado respecto a los valores de referencia (9.3 a 11.5 s), en este contexto el 96.9 % de los pacientes (187) presentaron TP elevado. En tanto que

la mediana del TTP se encuentra entre los valores de referencia (20.6 a 38.6 s), y sólo el 6.5 % de la población presentó este parámetro aumentado. Es importante mencionar que de los pacientes reclutados el 29.5% falleció.

**Tabla 4.** Características de la población de pacientes con COVID-19 del Hospital Juárez de México.

<i>Generales, N=193</i>		
Edad (años)	56 (39,66)	
Sexo (masculino/femenino %)	60.8% / 39.2%	
<i>Parámetros bioquímicos</i>	<i>Valores de referencia</i>	
Deshidrogenasa láctica U/L	393.5 (299.0, 555.3)	105.0 -330.0
TP segundos	13.5 (12.57, 14.80)	9.30 – 11.50
TTP segundos	24.4 (22.1, 27.05)	20.60 – 38.60

Los datos se presentan como medianas (cuartiles 25 a 75). Las variables categóricas se presentan como porcentaje. Abreviaturas: TP: tiempo de protrombina; TTP: tiempo parcial de tromboplastina.

Adicionalmente los pacientes se estratificaron por vivos y fallecidos. En la Tabla 5 se muestra que los pacientes que fallecieron presentaron niveles de DHL significativamente más altos comparados con los vivos.

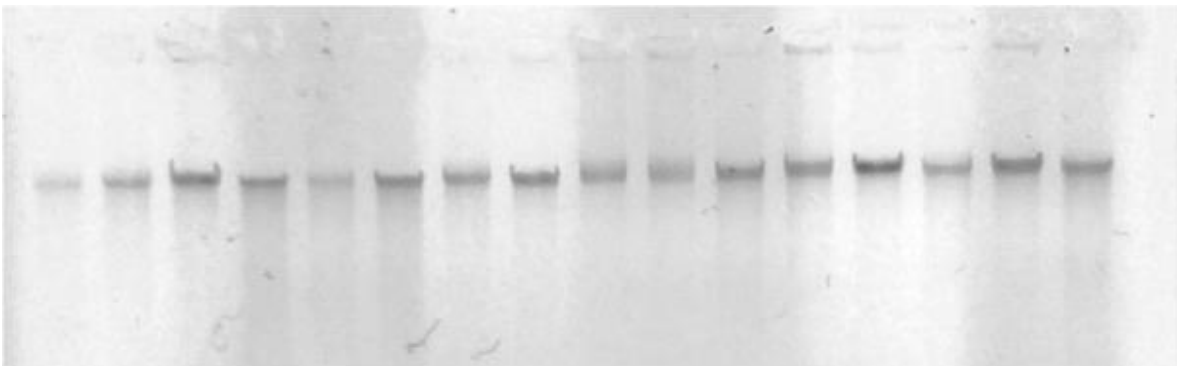
**Tabla 5.** Características de la población de pacientes vivos y fallecidos con COVID-19 del Hospital Juárez de México.

	<b>Vivos</b>	<b>Fallecidos</b>
<i>Parámetros bioquímicos</i>	N=136	N=57
Deshidrogenasa láctica U/L	<b>355 (263, 469)</b>	<b>543 (385, 716)*</b>
TP segundos	13.5 (12.6, 14.7)	13.7 (12.6, 15.2)
TTP segundos	24.6 (22.3, 27.0)	24.1 (21.9, 31.1)

Los datos se presentan como medianas (cuartiles 25 a 75). Abreviaturas: TP: tiempo de protrombina; TTP: tiempo parcial de tromboplastina. Estadístico de prueba U de Mann Whitney \* $p < 0.05$ .

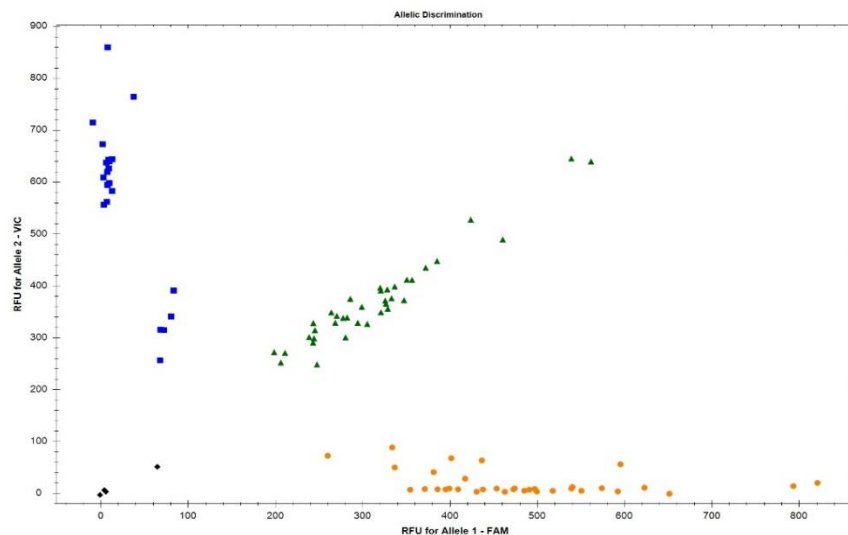
## Genotipificación

Para verificar la integridad del ADN se realizó electroforesis en agarosa al 1% a todas las muestras, a continuación, se muestra una imagen que ejemplifica los resultados de la electroforesis de las muestras 1 a la 16 (Imagen 1).



**Imagen 1.** Electroforesis tipo; muestras de la 1 a la 16 de izquierda a derecha. Se realizó la electroforesis de todas las muestras para verificar la integridad del ADN utilizando 100 ng de material genético en un gel de agarosa al 1 %, el cual se corrió a 80 V durante 1 h.

La genotipificación se realizó por PCR en tiempo real, a continuación, se muestra una gráfica representativa del análisis de discriminación alélica (Imagen 2).



**Imagen 2.** Ejemplo de la distribución alélica obtenida mediante PCR en tiempo real utilizado sondas TaqMan de Thermo Fisher en un termociclador en tiempo real CFX 96 Biorad.

En la tabla 6 se muestran las frecuencias alélicas y genotípicas de la población de estudio. La variante genética rs6025 (FVL) presentó una baja frecuencia (0.3%). En tanto que las variantes genéticas rs1799963 (PTR) y rs2230037 (G6PD) no cumplieron con el equilibrio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2=193$ ,  $p<0.001$  y;  $\chi^2= 81.83$   $p<0.001$ , respectivamente) por lo cual no se consideraron para el análisis de correlación.

**Tabla 6.** Frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes estudiadas.

Gen	SNP	Alelo	n	Frecuencia alélica	Genotipo	n	Frecuencia genotípica	Equilibrio de Hardy-Weinberg p
FVL	rs6025	C	385	0.997	CC	192	0.995	0.971
		T	1	0.003	CT	1	0.005	
					TT	0	0.000	
PTR	rs1799963	G	384	0.995	GG	192	0.995	<0.001
		A	2	0.005	GA	0	0.000	
					AA	1	0.005	
CFH	rs800292	G	234	0.606	GG	77	0.399	0.067
		A	152	0.394	GA	80	0.415	
					AA	36	0.187	
G6PD	rs2230037	G	299	0.775	GG	138	0.715	<0.001
		A	87	0.225	GA	23	0.119	
					AA	32	0.166	

Estadístico de prueba  $\chi^2$ ; Si  $p<0.05$  no está en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Asimismo, se compararon las frecuencias de las variantes genéticas observada en los pacientes que cursaron con COVID-19 del Hospital Juárez de México, con las frecuencias reportadas por los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos, del proyecto gnomAD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>). Como se puede observar en la Tabla 7 no hubo diferencias en las frecuencias de los alelos de riesgo de las variantes rs6025 y rs1799963 entre poblaciones. No obstante, la frecuencia del alelo de riesgo

de la variante rs2230037 (G6PD) tuvo diferencia estadísticamente significativa con las poblaciones Europeas y Asiáticas; en tanto que, la frecuencia del alelo de riesgo de la variante rs800292 (CFH) tuvo diferencia estadísticamente significativa con las poblaciones de Europa y África (Tabla 6).

**Tabla 7.** Comparación de las frecuencias alélicas entre los pacientes del Hospital Juárez de México y las poblaciones del mundo reportadas en gnomAD.

Gen	SNP	Alelo de riesgo	Pacientes con COVID-19	América Latina	Europeo	Africano	Asiático
<b>FVL</b>	rs6025	T	C=0.9974	C=0.9904	C=0.9730	C=0.9953	C=1.0000
			T=0.0025	T=0.0095	T=0.0270	T=0.0046	T=0.0000
<b>PTR</b>	rs1799963	A	G=0.9948	G=0.9848	G=0.9877	G=0.9974	G=1.0000
			A=0.0051	A=0.0151	A=0.0122	A=0.0025	A=0.0000
<b>CFH</b>	rs800292	A	G=0.6062	G=0.6249	G=0.7569	G=0.2860	G=0.5752
			A=0.3938	A=0.3750	<b>A=0.2430*</b>	<b>A=0.7139*</b>	A=0.4248
<b>G6PD</b>	rs2230037	A	G=0.7744	G=0.8520	G=0.8780	G=0.7440	G=0.9200
			A=0.2256	A=0.1480	<b>A=0.1210*</b>	A=0.2560	<b>A=0.0780*</b>

Estadístico de prueba  $\chi^2$  \* $p < 0.05$  hay diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes con COVID-19 del Hospital Juárez de México y las poblaciones del gnomAD.

### 13.1 Análisis de correlación

El análisis de correlación se hizo con la variante rs800292 (CFH) que presentó una frecuencia de 39.4% y cumplió con el equilibrio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2=3.34$   $p=0.067$ ) (Tabla 8).

En la Tabla 8 se presenta el análisis de correlación de la variante genética rs800292 (CFH), no hubo alguna correlación significativa entre la variante y los parámetros estudiados.

**Tabla 8.** Correlación entre la variante genética rs800292 (CFH) y los parámetros bioquímicos de pacientes con COVID-19 del Hospital Juárez de México

SNP/gene	Genotipo	TP	TTP	DHL
rs800292	GG	13.45 (12.5, 14.7)	24.0 (21.8, 26.9)	425 (317, 615)
CFH	AA/GA	13.80 (12.7, 14.8)	24.6 (22.5, 27.7)	389 (300,523)
		0.59	0.49	0.36

Se muestran datos, media  $\pm$  SD y medianas (percentiles 25 a 75). Análisis bivariado con covariables  $p < 0.05$  bajo modelo dominante, datos ajustados por sexo y por edad. TP, tiempo de protrombina; TTP, tiempo parcial de tromboplastina; DHL, deshidrogenasa láctica.

Se exploró otra estrategia realizando una estratificación por vivos y fallecidos. En esta subclasificación, se observó que los pacientes que fallecieron por COVID-19 grave y portaban el alelo de riesgo, presentaron valores más elevados de TP de manera significativa comparados con los no portadores (Tabla 9).

**Tabla 9.** Correlación entre la variante genética rs800292 (CFH) y los parámetros bioquímicos de pacientes vivos y fallecidos afectados con COVID-19 del Hospital Juárez de México

Parámetros bioquímicos	Vivos		Defunción	
	GG	GA/AA	GG	GA/AA
Deshidrogenasa láctica UI/L	404 (282,523)	354 (260, 456)	605 (367, 850)	529 (391, 712)
TP segundos	13.5 (12.7,15.0)	13.5 (12.6, 14.6)	<b>13.2 (12.5, 14.3)</b>	<b>14.7 (13.1, 15.8)*</b>
TTP segundos	24.9 (22.0, 27.2)	24.3 (22.5, 27.0)	23.2 (21.7, 26.1)	25.3 (22.5, 32.3)

Se muestran datos, media  $\pm$  SD y medianas (percentiles 25 a 75). Análisis bivariado con covariables  $p < 0.05$  bajo modelo dominante, datos ajustados por sexo y por edad. TP, tiempo de protrombina; TTP, tiempo parcial de tromboplastina; DHL, deshidrogenasa láctica.

## 14. Discusión de resultados

La población de estudio se conformó por un 60.8% de hombres y un 39.2% de mujeres, y concuerda con otros reportes que indican que la infección se presentó con mayor frecuencia en pacientes masculinos (Manderstedt et al., 2022b).

En cuanto a la edad, el 40% de la población fue mayor de 60 años, este dato es importante ya que la edad está considerada como un factor crítico relacionado con el riesgo de presentar complicaciones con COVID-19. Por otro lado, aunque la mayoría de los pacientes de este estudio fueron menores de 60 años (60%), es importante señalar que la mayoría de ellos presentaban comorbilidades, lo cual también se relacionó con la gravedad de la enfermedad. En este contexto, en diversos estudios realizados en poblaciones Europeas, se observó que la presencia de comorbilidades en los casos de COVID-19 incrementaba el riesgo de presentar COVID-19 grave o crítico, caracterizado por trombosis, lesión pulmonar aguda y SDRA (Stevens et al., 2021).

De manera interesante el 96.9 % de los pacientes (187) presentaron TP elevado (mediana de 13.5 segundos), comparado con los niveles de referencia, que son hasta 11.5 segundos. En el caso del parámetro de TTPa, sólo el 6.5 % presentaron TTPa elevado. Esto concuerda con estudios previos en donde los pacientes que ingresan a unidades de cuidados intensivos presentan niveles elevados de TP, por lo que dichas investigaciones sugieren este parámetro como factor pronóstico del curso de la COVID-19 (Baranovskii et al., 2021; Tang et al., 2020). El aumento en el valor de TP puede deberse a una falla aguda del hígado, lo cual corresponde con la observación

de alteraciones en los niveles de marcadores de función hepática, como las transaminasas (Chen et al., 2020; Guan et al., 2020). La hipótesis que se ha planteado para explicar el daño hepático en la COVID-19 es el aumento de las células T citotóxicas inducidas por el virus SARS-CoV2 (Bangash et al., 2020).

Se observó que los pacientes que fallecieron presentaban niveles de DHL significativamente más altos comparados con los vivos, dicha alteración corresponde a lo informado en la literatura respecto a la elevación de dicho parámetro bioquímico en los pacientes que cursan de manera grave la COVID-19 (Li et al., 2021; Zheng et al., 2021).

Después de obtener material genético con pureza alta, una adecuada concentración e integridad, fue posible realizar el análisis de genotipificación en busca de marcadores genéticos de pronóstico en pacientes con COVID-19.

En la población de estudio la variante genética rs6025 (FVL) presentó una baja frecuencia (0.3%). En tanto que las variantes genéticas rs1799963 (PTR) y rs2230037 (G6PD) no cumplieron con el equilibrio de Hardy-Weinberg, por consiguiente rs6025, rs1799963 y rs2230037 no fueron consideradas en el análisis de correlación. En contraste, en un estudio realizado en Suecia en una población conformada por adultos se encontró asociación de las variantes genéticas rs6025 (OR=1.8, p=0.026) y rs1799963 (OR=1.6, p=0.016), con el riesgo de padecer tromboembolismo venoso (Manderstedt et al. 2022b). En este caso, no pudimos llevar a cabo la correlación, sin embargo los portadores de las variantes presentaron niveles mayores a 400 UI/L de DHL y un TP mayor a 14 segundos. Ya que la frecuencia de rs6025 (FVL) y de



rs1799963 (PTR) fue baja, se planea continuar con el trabajo y aumentar el tamaño de la muestra.

En el caso de la variante genética rs2230037 (G6PD) no se cumplió con el equilibrio de Hardy-Weinberg, en este sentido, cuando hay una presión ejercida por un patógeno es posible que se pierda la homogeneidad en la población dada por el equilibrio de Hardy-Weinberg, por lo que si se hace un análisis con dicha variante no se tendrían resultados válidos ya que cabe la posibilidad de tener un sesgo en el estudio (Llorca et al., 2005). En un futuro se podría ampliar este estudio para hacer un análisis minucioso con la finalidad de descartar un efecto que pudiera estar relacionado con la presión ejercida por la enfermedad COVID-19 considerando pacientes de otras instituciones y así llevar a cabo un estudio multicéntrico (Hosking et al., 2004).

La variante genética rs800292 (CFH) que se ha reportado útil para predecir la desregulación del complemento no se correlacionó con los parámetros bioquímicos TP, TTPa y DHL en los pacientes con COVID-19; sin embargo, cuando se estratificó por gravedad (entre vivos y fallecidos) se encontró correlación entre los valores elevados de TP con los pacientes portadores de dicha variante, siendo importante mencionar que coincide con la población que cursó con mayor gravedad COVID-19. Las proteínas de la envoltura del SARS-CoV-2 activan la vía de la lectina a través de la unión a la lectina de unión a manosa (MBL) o la vía clásica a través de los anticuerpos específicos del SARS-CoV-2 y C1q. SARS-CoV-2 compite con el factor CFH regulador de C3b por la unión al sulfato de heparán con lo cual se anulan los efectos inhibidores del factor H en C3, lo que mantiene la activación de la vía

alternativa. La activación del complemento inducida por SARS-CoV-2 en los capilares aumenta la generación de C5a. Las células endoteliales infectadas con SARS-CoV-2 promueven un aumento en la expresión del receptor 1 de C5a (C5aR1) y se vuelven vulnerables a la activación patológica de C5a y a la inserción del complejo de ataque a la membrana (MAC), esto causa la muerte de las células endoteliales y la pérdida de tromborresistencia. Simultáneamente, el complemento induce la activación plaquetaria (principalmente a través de la acción de MAC) y la activación de la cascada de la coagulación, favoreciendo la formación de trombos perjudiciales. Por lo tanto, la variante rs800292 (CFH), podría estar relacionada con alteraciones en TP por medio de la sobreactivación de C5a y C5aR1 (Afzali et al., 2022). En un estudio realizado en una población de Grecia se encontró asociación en los portadores de la variante rs800292 (CFH) con la gravedad de la enfermedad (OR>1.5, p=0.022) (Gavriilaki et al. 2021); es importante mencionar que en dicho estudio también encontraron niveles elevados de DHL.

#### Limitaciones del estudio

El presente trabajo presenta como limitación una población de 193 individuos, en comparación con otras investigaciones en las que se han considerado grupos más grandes con lo cual han podido mejorar la potencia estadística.

La población solo fue la admitida en el Hospital Juárez de México, sin embargo, sería importante evaluar otras poblaciones de las diversas instituciones y hospitales del sector salud.

Otra de las limitaciones de este estudio es que se realizaron SNPs específicos, los cuales se reportaron relacionados con las complicaciones en casos graves de COVID-19, no obstante en las búsquedas con paneles de secuenciación o con un amplio número de genes se han encontrado hallazgos importantes lo cual se puede considerar para continuar este estudio, ya que forma parte de un esfuerzo por parte del Hospital Juárez de México para ofrecer una atención multidisciplinaria al paciente en la cual se contemplen las técnicas de mayor especialización en la atención a la salud. En esto radica la importancia de encontrar que factores genéticos están relacionados con eventos trombóticos y complicaciones en los pacientes que cursan con complicaciones de COVID-19.

## **15. Conclusión**

Por lo tanto, la variante genética rs800292 se encuentra correlacionada con valores de TP significativamente más altos en los pacientes con COVID-19 grave fallecidos. Estos resultados sugieren que esta variante contribuye al estado de hipercoagulabilidad que desarrollan los pacientes con COVID-19 grave del Hospital Juárez de México.

## **16. Perspectivas**

Se sugiere hacer la correlación de las variantes genéticas con otros parámetros bioquímicos de riesgo como PCR, dímero D y procalcitonina.

Se sugiere realizar genotipificación de otras variantes genéticas para determinar qué factores genéticos están correlacionados con los parámetros bioquímicos que se ven alterados en pacientes mexicanos con COVID-19 grave. Asimismo, se sugiere

considerar la presencia de comorbilidades en los pacientes ya que es probable que dichas deficiencias de salud puedan llegar a tener mayor afectación en el curso de COVID-19 grave.

## 17. Referencias

- Afzali, B., Noris, M., Lambrecht, B. N., & Kemper, C. (2022). The state of complement in COVID-19. *Nature Reviews Immunology*, 22(2), 77–84. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00665-1>
- Aimrane, A., Laaradia, M. A., Sereno, D., Perrin, P., Draoui, A., Bougadir, B., Hadach, M., Zahir, M., Fdil, N., El Hiba, O., El Hidan, M. A., & Kahime, K. (2022). Insight into COVID-19's epidemiology, pathology, and treatment. *Heliyon*, 8(1), e08799. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08799>
- Asteris, P. G., Gavriilaki, E., Touloumenidou, T., Koravou, E., Koutra, M., Papayanni, P. G., Pouleres, A., Karali, V., Lemonis, M. E., Mamou, A., Skentou, A. D., Papalexandri, A., Varelas, C., Chatzopoulou, F., Chatzidimitriou, M., Chatzidimitriou, D., Veleni, A., Rapti, E., Kioumis, I., ... Anagnostopoulos, A. (2022). Genetic prediction of ICU hospitalization and mortality in COVID-19 patients using artificial neural networks. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 26(5), 1445–1455. <https://doi.org/10.1111/jcmm.17098>
- Badary, O. A. (2021). Pharmacogenomics and COVID-19: clinical implications of human genome interactions with repurposed drugs. *The Pharmacogenomics Journal*, 21(3), 275–284. <https://doi.org/10.1038/s41397-021-00209-9>
- Bangash, M. N., Patel, J., & Parekh, D. (2020). COVID-19 and the liver: little cause for concern. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 5(6), 529–530. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30084-4](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30084-4)
- Baranovskii, D. S., Klabukov, I. D., Krasilnikova, O. A., Nikogosov, D. A., Polekhina, N. V., Baranovskaia, D. R., & Laberko, L. A. (2021). Prolonged prothrombin time as an early prognostic indicator of severe acute respiratory distress syndrome in patients with COVID-19 related pneumonia. *Current Medical Research and Opinion*, 37(1), 21–25. <https://doi.org/10.1080/03007995.2020.1853510>
- Chen, G., Wu, D., Guo, W., Cao, Y., Huang, D., Wang, H., Wang, T., Zhang, X., Chen, H., Yu, H., Zhang, X., Zhang, M., Wu, S., Song, J., Chen, T., Han, M., Li, S., Luo, X., Zhao, J., & Ning, Q. (2020). Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *Journal of Clinical Investigation*, 130(5), 2620–2629. <https://doi.org/10.1172/JCI137244>

- Daly, A. K. (2017). Pharmacogenetics: a general review on progress to date. *British Medical Bulletin*, 1–15. <https://doi.org/10.1093/bmb/idx035>
- Espinosa G., & Reverter J.C. (2001). Coagulación y fibrinólisis plasmática. Estados de hipercoagulabilidad. *Medicina Integral*, 38(4), 156–166.
- Finan, R. R., Tamim, H., Ameen, G., Sharida, H. E., Rashid, M., & Almawi, W. Y. (2002). Prevalence of factor V G1691A (factor V-Leiden) and prothrombin G20210A gene mutations in a recurrent miscarriage population. *American Journal of Hematology*, 71(4), 300–305. <https://doi.org/10.1002/ajh.10223>
- Gao, Z., Xu, Y., Sun, C., Wang, X., Guo, Y., Qiu, S., & Ma, K. (2021). A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 54(1), 12–16. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.05.001>
- Gavriilaki, E., Asteris, P. G., Touloumenidou, T., Koravou, E.-E., Koutra, M., Papayanni, P. G., Karali, V., Papalexandri, A., Varelas, C., Chatzopoulou, F., Chatzidimitriou, M., Chatzidimitriou, D., Veleni, A., Grigoriadis, S., Rapti, E., Chloros, D., Kioumis, I., Kaimakamis, E., Bitzani, M., ... Anagnostopoulos, A. (2021). Genetic justification of severe COVID-19 using a rigorous algorithm. *Clinical Immunology*, 226, 108726. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2021.108726>
- Gil, R., Bitar, P., Deza, C., Dreyse, J., Florenzano, M., Ibarra, C., Jorquera, J., Melo, J., Olivi, H., Parada, M. T., Rodríguez, J. C., & Undurraga, Á. (2021). CUADRO CLÍNICO DEL COVID-19. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 32(1), 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2020.11.004>
- Guan, W., Ni, Z., Hu, Y., Liang, W., Ou, C., He, J., Liu, L., Shan, H., Lei, C., Hui, D. S. C., Du, B., Li, L., Zeng, G., Yuen, K.-Y., Chen, R., Tang, C., Wang, T., Chen, P., Xiang, J., ... Zhong, N. (2020). Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *New England Journal of Medicine*, 382(18), 1708–1720. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>
- Guerrero Topete, H. E., Gómez González, Ma. N., Hernández Plata, A. E., & Jiménez Correa, C. (2021). De lo complejo a lo simple deshidrogenasa láctica como marcador de severidad en pacientes con infección por SARS-CoV-2\*\*. *Medicina Crítica*, 35(6), 319–328. <https://doi.org/10.35366/103718>
- Gupta, G. S. (2022). The Lactate and the Lactate Dehydrogenase in Inflammatory Diseases and Major Risk Factors in COVID-19 Patients. *Inflammation*, 45(6), 2091–2123. <https://doi.org/10.1007/s10753-022-01680-7>
- Heeb, M., Kojima, Y., Greengard, J., & Griffin, J. (1995). Activated protein C resistance: molecular mechanisms based on studies using purified Gln506-factor V. *Blood*, 85(12), 3405–3411. <https://doi.org/10.1182/blood.V85.12.3405.bloodjournal85123405>

- Khan, D. A. (2016). Pharmacogenomics and adverse drug reactions: Primetime and not ready for primetime tests. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 138(4), 943–955. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.08.002>
- Kiraz, A., Guzeldag, S., Eren, E., Goksu, M., & Bayram, A. (2021). Investigation of the relationship between inherited thrombophilia and novel coronavirus pneumonia. *Future Virology*, 16(5), 341–345. <https://doi.org/10.2217/fvl-2020-0395>
- Li, G., Xu, F., Yin, X., Wu, N., Li, Y., Zhang, T., Chen, D., Liu, K., & Qiu, Q. (2021). Lactic dehydrogenase-lymphocyte ratio for predicting prognosis of severe COVID-19. *Medicine*, 100(4), e24441. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000024441>
- Llorca, J., Prieto-Salceda, D., Combarros, O., Dierssen-Sotos, T., & Berciano, J. (2005). Riesgos competitivos de muerte y equilibrio de Hardy-Weinberg en estudios de casos y controles sobre asociación entre genes y enfermedades. *Gaceta Sanitaria*, 19(4), 321–324. <https://doi.org/10.1157/13078032>
- Llover, M. N., & Jiménez, M. C. (2021). Estado actual de los tratamientos para la COVID-19. *FMC : Formacion Medica Continuada En Atencion Primaria*, 28(1), 40–56. <https://doi.org/10.1016/j.fmc.2020.10.005>
- Manderstedt, E., Lind-Halldén, C., Halldén, C., Elf, J., Svensson, P. J., Dahlbäck, B., Engström, G., Melander, O., Baras, A., Lotta, L. A., Zöller, B., Abecasis, G., Baras, A., Cantor, M., Coppola, G., Economides, A., Lotta, L. A., Overton, J. D., Reid, J. G., ... Mitnau, L. J. (2022a). Classic Thrombophilias and Thrombotic Risk Among Middle-Aged and Older Adults: A Population-Based Cohort Study. *Journal of the American Heart Association*, 11(4). <https://doi.org/10.1161/JAHA.121.023018>
- Manderstedt, E., Lind-Halldén, C., Halldén, C., Elf, J., Svensson, P. J., Engström, G., Melander, O., Baras, A., Lotta, L. A., Zöller, B., Abecasis, G., Baras, A., Cantor, M., Coppola, G., Economides, A., Lotta, L. A., Overton, J. D., Reid, J. G., Shuldiner, A., ... Mitnau, L. J. (2022b). Genetic variation of the blood coagulation regulator tissue factor pathway inhibitor and venous thromboembolism among middle-aged and older adults: A population-based cohort study. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, 6(7), e12842. <https://doi.org/10.1002/rth2.12842>
- Mansory, E. M., Srigunapalan, S., & Lazo-Langner, A. (2021). Venous Thromboembolism in Hospitalized Critical and Noncritical COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. *TH Open*, 05(03), e286–e294. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1730967>
- McGonagle, D., O'Donnell, J. S., Sharif, K., Emery, P., & Bridgewood, C. (2020). Immune mechanisms of pulmonary intravascular coagulopathy in COVID-19

- pneumonia. *The Lancet Rheumatology*, 2(7), e437–e445.  
[https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30121-1](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30121-1)
- Me, M. (2017). *Pruebas de laboratorio para la evaluación de la hemostasia: fundamentos básicos*.
- Molero-García, J. M., Arranz-Izquierdo, J., Gutiérrez-Pérez, M. I., & Redondo Sánchez, J. M. (2021). Aspectos básicos de la COVID-19 para el manejo desde atención primaria. *Atención Primaria*, 53(6), 101966.  
<https://doi.org/10.1016/j.aprim.2020.12.007>
- Mummary, R. S., & Rider, C. C. (2000). Characterization of the Heparin-Binding Properties of IL-6. *The Journal of Immunology*, 165(10), 5671–5679.  
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.10.5671>
- Nasiri, H., Forouzandeh, M., Rasaee, M. J., & Rahbarizadeh, F. (2005). Modified salting-out method: high-yield, high-quality genomic DNA extraction from whole blood using laundry detergent. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 19(6), 229–232. <https://doi.org/10.1002/jcla.20083>
- Ng, T. K., Chen, L. J., Liu, D. T. L., Tam, P. O. S., Chan, W. M., Liu, K., Hu, Y. J., Chong, K. K. L., Lau, C. S. L., Chiang, S. W. Y., Lam, D. S. C., & Pang, C. P. (2008). Multiple Gene Polymorphisms in the Complement Factor H Gene Are Associated with Exudative Age-Related Macular Degeneration in Chinese. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 49(8), 3312.  
<https://doi.org/10.1167/iovs.07-1517>
- Ortiz-Prado, E., Simbaña-Rivera, K., Gómez- Barreno, L., Rubio-Neira, M., Guaman, L. P., Kyriakidis, N. C., Muslin, C., Jaramillo, A. M. G., Barba-Ostria, C., Cevallos-Robalino, D., Sanches-SanMiguel, H., Unigarro, L., Zalakeviciute, R., Gadian, N., & López-Cortés, A. (2020). Clinical, molecular, and epidemiological characterization of the SARS-CoV-2 virus and the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), a comprehensive literature review. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 98(1), 115094.  
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2020.115094>
- Piera Carbonell, A., Frías Vargas, M., García Vallejo, O., García Lerín, A., Cabrera Ferriols, M. A., Peiró Morant, J., & Carrasco Carrasco, E. (2020). COVID-19 y tromboprolifaxis: recomendaciones para nuestra práctica clínica en Atención Primaria. *Medicina de Familia. SEMERGEN*, 46(7), 479–486.  
<https://doi.org/10.1016/j.semerg.2020.07.007>
- Poort, S. R., Rosendaal, F. R., Reitsma, P. H., & Bertina, R. M. (1996). A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is

associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood*, 88(10), 3698–3703.

Qian, K., Xu, J., Wan, H., Fu, F., Lu, J., Lin, Z., Liu, Z., & Liu, H. (2015). Impact of genetic polymorphisms in thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) on venous thrombosis disease: A meta-analysis. *Gene*, 569(2), 173–181. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.06.014>

Rodríguez C. A., & Rodríguez S. R. (2011). Pruebas de laboratorio en Atención Primaria (I). *SEMERGEN - Medicina de Familia*, 37(1), 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.semerg.2010.06.006>

Sáenz Morales, O. A., Rubio, A. M., Yomayusa, N., Gamba, N., & Garay Fernández, M. (2022a). Coagulopatía en la infección por el virus SARS-CoV-2 (COVID-19): de los mecanismos fisiopatológicos al diagnóstico y tratamiento. *Acta Colombiana de Cuidado Intensivo*, 22(1), 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.acci.2020.10.007>

Sáenz Morales, O. A., Rubio, A. M., Yomayusa, N., Gamba, N., & Garay Fernández, M. (2022b). Coagulopatía en la infección por el virus SARS-CoV-2 (COVID-19): de los mecanismos fisiopatológicos al diagnóstico y tratamiento. *Acta Colombiana de Cuidado Intensivo*, 22(1), 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.acci.2020.10.007>

Sánchez Valverde, A. J., Miranda Temoche, C. E., Castillo Caicedo, C. R., & Arellano Hernández, N. B. (2021). Covid-19: fisiopatología, historia natural y diagnóstico. *REVISTA EUGENIO ESPEJO*, 15(2), 98–114. <https://doi.org/10.37135/ee.04.11.13>

Segal, J. B., Brotman, D. J., Necochea, A. J., Emadi, A., Samal, L., Wilson, L. M., Crim, M. T., & Bass, E. B. (2009). Predictive Value of Factor V Leiden and Prothrombin G20210A in Adults With Venous Thromboembolism and in Family Members of Those With a Mutation. *JAMA*, 301(23), 2472. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.853>

Shi, C., Wang, C., Wang, H., Yang, C., Cai, F., Zeng, F., Cheng, F., Liu, Y., Zhou, T., Deng, B., Vlodaysky, I., Li, J., & Zhang, Y. (2020). The Potential of Low Molecular Weight Heparin to Mitigate Cytokine Storm in Severe COVID-19 Patients: A Retrospective Cohort Study. *Clinical and Translational Science*, 13(6), 1087–1095. <https://doi.org/10.1111/cts.12880>

Soria, J. M., Mojal, S., Martínez-Pérez, A., Acosta, F. R., López, S., Miqueleiz, S., Rodríguez, D., Quijada, M. A., Cardenas, A., Vidal, F., Remacha, A., Antonijoan, R. M., & Souto, J. C. (2022). A validated clinical-genetic score for assessing the risk of thrombosis in patients with COVID-19 receiving thromboprophylaxis. *Haematologica*, 107(9), 2244–2248. <https://doi.org/10.3324/haematol.2022.281068>



- Stanković, B., Kotur, N., Gašić, V., Klaassen, K., Ristivojević, B., Stojiljković, M., Pavlović, S., & Zukić, B. (2020). Pharmacogenomics landscape of COVID-19 therapy response in Serbian population and comparison with worldwide populations. *Journal of Medical Biochemistry*, 39(4), 488–499. <https://doi.org/10.5937/jomb0-26725>
- Stevens, H. P., Canovas, R., Peter, K., Tran, H., Kaplan, Z., & McFadyen, J. D. (2021). Inherited Thrombophilias Are Associated with an Increased Risk of COVID-19 Associated Venous Thromboembolism: A Prospective Population-Based Cohort Study. *Blood*, 138(Supplement 1), 3214–3214. <https://doi.org/10.1182/blood-2021-149841>
- Sun, J., Deng, X., Chen, X., Huang, J., Huang, S., Li, Y., Feng, J., Liu, J., & He, G. (2020). Incidence of Adverse Drug Reactions in COVID-19 Patients in China: An Active Monitoring Study by Hospital Pharmacovigilance System. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 108(4), 791–797. <https://doi.org/10.1002/cpt.1866>
- Tan, B. K., Mainbourg, S., Friggeri, A., Bertolotti, L., Douplat, M., Dargaud, Y., Grange, C., Lobbes, H., Provencher, S., & Lega, J.-C. (2021). Arterial and venous thromboembolism in COVID-19: a study-level meta-analysis. *Thorax*, 76(10), 970–979. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2020-215383>
- 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*, 18(4), 844–847. <https://doi.org/10.1111/jth.14768>
- Thorelli, E., Kaufman, R. J., & Dahlbäck, B. (1999). Cleavage of Factor V at Arg 506 by Activated Protein C and the Expression of Anticoagulant Activity of Factor V. *Blood*, 93(8), 2552–2558. <https://doi.org/10.1182/blood.V93.8.2552>
- Trujillo-Araujo, A. K., Cossío-Zazueta, A., Camarillo-Nava, V. M., & Serrato-Auld, R. C. (2021). Trombosis aguda arterial y venosa en pacientes infectados con COVID-19. *Revista Mexicana de Angiología*, 49(2). <https://doi.org/10.24875/RMA.21000017>
- Vivas, D., Roldán, V., Esteve-Pastor, M. A., Roldán, I., Tello-Montoliu, A., Ruiz-Nodar, J. M., Cosín-Sales, J., Gámez, J. M., Consuegra, L., Ferreiro, J. L., Marín, F., Arrarte, V., Anguita, M., Cequier, Á., & Pérez-Villacastín, J. (2020). Recomendaciones sobre el tratamiento antitrombótico durante la pandemia COVID-19. Posicionamiento del Grupo de Trabajo de Trombosis Cardiovascular de la Sociedad Española de Cardiología. *Revista Española de Cardiología*, 73(9), 749–757. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2020.04.006>

- Wang, F., Nie, J., Wang, H., Zhao, Q., Xiong, Y., Deng, L., Song, S., Ma, Z., Mo, P., & Zhang, Y. (2020). Characteristics of Peripheral Lymphocyte Subset Alteration in COVID-19 Pneumonia. *The Journal of Infectious Diseases*, 221(11), 1762–1769. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa150>
- Xie, J., Prats-Urbe, A., Feng, Q., Wang, Y., Gill, D., Paredes, R., & Prieto-Alhambra, D. (2022). Clinical and Genetic Risk Factors for Acute Incident Venous Thromboembolism in Ambulatory Patients With COVID-19. *JAMA Internal Medicine*, 182(10), 1063. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2022.3858>
- Zhang, W., & Zhou, H.-H. (2011). [Translational approach for pharmacogenomics and personalized medicine]. *Yao Xue Xue Bao = Acta Pharmaceutica Sinica*, 46(1), 1–5.
- Zheng, T., Ren, H., Wu, Y., & Wang, J. (2021). Association between clinical characteristics and CT findings in patients with coronavirus disease-2019. *Medicine*, 100(44), e27435. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000027435>

## 18. Anexos

### Anexo 1. Consentimiento informado



**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



HOSPITAL JUÁREZ  
DE MÉXICO

Dirección de Investigación y Enseñanza

#### CONSENTIMIENTO INFORMADO GRADUAL PARA LA REALIZACIÓN DE ESTUDIOS GENÉTICOS

Título del Protocolo/Tesis:

Evaluación de biomarcadores farmacogenéticos candidatos en la respuesta al tratamiento de pacientes con COVID-19.

El Investigador que informa del Servicio M. en C. María Guadalupe Ortiz López del Laboratorio de Endocrinología Molecular, División de Investigación del Hospital Juárez de México. Teléfono de emergencia 55 5457 6705.

Persona a quien se informa: ..... de ..... de edad.

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

##### \*\*1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.

Ante los retos de la pandemia de COVID-19, los esfuerzos de colaboración entre las comunidades médicas son importantes para mejorar la eficacia de los tratamientos anti-Covid y garantizar la seguridad.

La terapia con COVID-19 es de amplio alcance y múltiples, factores de riesgo a las reacciones adversas puede ocurrir. Por tanto, dosis óptimas, duración del tratamiento, efectos secundarios y los resultados a largo plazo son aspectos críticos del éxito del tratamiento para COVID-19.

##### \*\*2. OBJETIVO DEL ESTUDIO

A usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como objetivo buscar los genes que sirvan para identificar a los sujetos que estén propensos a presentar reacciones adversas o personas en las que no haga efecto el tratamiento para combatir el virus de COVID-19.

##### \*\*3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO

En estudios realizados anteriormente por otros investigadores se ha observado que gracias a la identificación de genes involucrados en la respuesta a los medicamentos, se ha identificado a las personas que pueden sufrir reacciones adversas, o personas a las que el tratamiento elegido no les hará efecto. Gracias a estos descubrimientos se eligen otros medicamentos que no causen reacciones adversas en los pacientes o que sí respondan al tratamiento.

Con este estudio conocerá o se identificarán a las personas que estén propensas a presentar reacciones adversas o aquellas personas que responderán mejor a los tratamientos anti-COVID19 administrados. Y aunque este estudio no tiene un beneficio directo para los sujetos participantes, permitirá que en un futuro otros pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido ofreciendo tratamientos adecuados y mejorando la calidad de vida de los pacientes.

##### \*\*4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre usted, sus hábitos y sus antecedentes médicos, se registrarán talla y peso y adicionalmente se tomará una muestra de sangre.

La técnica puede fracasar por no conseguir la extracción de ADN o por otros problemas de laboratorio que impidan la emisión de un diagnóstico completo, sin embargo, la toma sólo se realizará una vez, y se obtendrá de sangre venosa por catéter central.

Av. Instituto Politécnico Nacional No. 9350, Col. Magdalena de las Salinas, CP. 07760, Alcde. Gustavo A. Madero, CDMX  
Tel: (55) 5747 7632. [www.gob.mx/salud/hjm](http://www.gob.mx/salud/hjm)

HJM-DIE-003-C



El estudio se llevará a cabo por el Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca y el Hospital Juárez de México, el hospital de Ixtapaluca está ubicado en Carr Federal México-Puebla Km. 34.5, Zoquiapan, 56530 Ixtapaluca, Méx. Dicho centro participará en el reclutamiento de participantes y será responsabilidad del Investigador Principal mantener la confidencialidad de los datos personales bajo la normatividad vigente.

Usted tiene derecho a conocer los datos genéticos que se obtengan a partir del análisis de las muestras donadas. La información que se obtenga puede tener implicaciones para sus familiares, cuando este fuera el caso, usted será quien les transmita dicha información.

Se le advierte sobre la posibilidad de descubrimientos inesperados en el proceso de análisis de la muestra, no relacionados con la patología de diagnóstico, y respecto a los mismos manifiesta:

Quiero conocerlos       No quiero conocerlos       Delego en el médico esa decisión

Al término de la investigación, se contará con su muestra de ADN (material genético) desea que esa muestra:

Se destruya       Se almacene para futuras investigaciones

En caso de desear que su muestra se almacene para futuras investigaciones, usted podrá ser contactado con posterioridad con el fin de obtener su consentimiento, cómo prefiere ser contactado:

---

Usted tiene derecho a revocar este consentimiento en cualquier momento, y a decidir también la destrucción de su muestra.

**\*\*5. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO**

De acuerdo con el artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud esta investigación es considerada como:

Sin Riesgo       Riesgo Mínimo       Riesgo Mayor al mínimo

Este estudio consta de una fase solamente en la cual se le tomará una muestra de sangre. Posterior a *la toma de sangre* se pueden presentar molestias temporales ocasionadas por la punción con la aguja y hematomas, que desaparecerán de 24 a 48 h

**\*\*6. PROTECCIÓN DE DATOS PERSONALES**

**a. Normatividad**

El tratamiento de sus datos personales de identificación y datos personales sensibles, se realiza con fundamento en lo establecido en el artículo 1, 2 fracción V y VI, 3, 8, 16, 17, 18, fracción VII del 22, 26, 27 y demás relativos de la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados; 1 del Decreto por el que se crea el Hospital Juárez de México, como un Organismo Descentralizado de la Administración Pública Federal, publicado en el Diario Oficial de la Federación, el 26 de enero de 2006; 1, 2 fracción I y 3 fracción I, II, III del Estatuto Orgánico del Hospital Juárez de México, publicado en el Diario Oficial de la Federación 17 de octubre de 2016.

**b) Descripción de los Datos Personales que se solicitarán**

\* Datos Personales de Identificación: nombre, fecha de nacimiento, edad, escolaridad,

\* Datos Personales sensibles: domicilio, antecedentes de enfermedades personales y en la familia, tratamiento farmacológico para tratar COVID-19 u otras comorbilidades presentes.

Av. Instituto Politécnico Nacional No. 5160, Col. Magdalena de las Salinas, CP. 07760, Alc. Gustavo A. Madero, CDMX

Tel: (55) 5747 7632      www.gob.mx/salud/hjm



**c) Tratamiento**

El tratamiento y resguardo de sus datos personales será llevado a cabo por las siguientes personas:

Nombre: M. en C. María Guadalupe Ortiz López, Dra. Katy Alejandra Sánchez Pozos, Dra. Mónica Sierra Martínez.

Los datos personales serán tratados estadísticamente sin que se vulnere su identidad mediante el proceso de disociación. (Si tiene duda, pregunte al Investigador Principal en qué consiste el proceso de disociación)

**d) Transferencias**

(se deberá marcar con una X, la opción correspondiente)

- Sus datos personales y/o resultados que arroje el estudio, NO serán transferidos a ninguna persona física o moral ( **X** )
- Sus datos personales y/o resultados del estudio podrán ser transferidos ( )  
Especificar los datos que serán transferidos

\_\_\_\_\_  
Especificar a quien serán transferidos

\_\_\_\_\_  
(En el caso de protocolos de colaboración con otras Instituciones, Hospitales, Centro de Investigación, Universidades Nacionales o Internacionales)

**e) Aviso de Privacidad simplificado:**

El Investigador principal del Protocolo/Tesis de Investigación es el responsable del tratamiento de los datos personales y datos personales sensibles que usted proporcione con motivo de la participación en un protocolo de Investigación, mismos que serán tratados estadísticamente en materia de salud sin que se vulnere su identidad mediante el proceso de disociación, para proteger la identificación de los mismos, de conformidad con los artículos 1, 2, 3, 8, 16, 17, 18, fracción VII del 22, 26, 27 y demás relativos de la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados, mismo que podrá consultar en el Portal Institucional:

<http://www.hospitaljuarez.salud.gob.mx>

**\*\*7. ACLARACIONES**

Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.

No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación. Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, -aun cuando el investigador responsable no se lo solicite-, pudiendo informar o no, las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad. No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.

No recibirá pago por su participación.

En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.

La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.

Usted también tiene acceso a los Comités de Investigación y Ética en Investigación del Hospital Juárez de México a través del (la) Dr. Juan Manuel Bello-Lopez, Presidente del Comité de Investigación o el (la) Dra. Gabriela Ibáñez Cervantes, Presidenta del Comité de Ética en Investigación, en el área de Investigación del Hospital Juárez de México.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.



Yo, \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

\_\_\_\_\_  
**\*\*Firma del participante o del padre o tutor Fecha**

\_\_\_\_\_  
**\*\*Testigo 1 Fecha (parentesco)**

\_\_\_\_\_  
**\*\*Testigo 2 Fecha (parentesco)**

**\*\*Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):**

He explicado al Sr(a). \_\_\_\_\_ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

\_\_\_\_\_  
**Firma del investigador Fecha**

**\*\*8. CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO**

**Título del Protocolo/Tesis:**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Investigador principal:

\_\_\_\_\_

Sede donde se realizará el estudio:

\_\_\_\_\_

Nombre del participante:

\_\_\_\_\_

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este Protocolo/Tesis de investigación por las siguientes razones:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_.



**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



HOSPITAL JUÁREZ  
DE MÉXICO

Dirección de Investigación y Enseñanza

**Si el paciente así lo desea, podrá solicitar que le sea entregada toda la información que se haya recabado sobre él, con motivo de su participación en el presente estudio.**

\_\_\_\_\_  
Firma del participante o del padre o tutor      Fecha

\_\_\_\_\_  
Testigo Fecha

\_\_\_\_\_  
Testigo Fecha

c.c.p El paciente. **(Se deberá elaborar por duplicado quedando una copia en poder del paciente)**

## Anexo 2. Aprobación del comité de ética.



**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



Dirección de Investigación y Enseñanza  
Comité de Ética en Investigación

Ciudad de México, a 07 de Septiembre de 2021  
CEI/IO/035/2021

**Dra. MARÍA GUADALUPE ORTÍZ LÓPEZ**  
Investigador Principal  
Presente.

Con base al artículo 100 de la Ley general de salud en su capítulo de Investigación para la Investigación, con apoyo en la declaración de Helsinki 2008, pautas del Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) 2002 y Buenas Prácticas Clínicas (GCP); el Comité de Ética en Investigación (CEI) del Hospital Juárez de México de la Secretaría de Salud, con domicilio en Av. Instituto Politécnico Nacional No. 5160 col. Magdalena de las Salinas Alcaldía Gustavo A. Madero CP 07760 México, DF., número de registro ante la CONBIOETICA-09-CEI-008-20170421 y COFEPRIS 13 CEI 09 005 142. Dictaminó que el protocolo titulado:

**"Evaluación de biomarcadores farmacogenéticos candidatos en el tratamiento de los pacientes COVID-19"**

A CARGO DE LOS COLABORADORES: Katy Sánchez-Pozos, Jazmín Georgina Monroy Escutia, Luis Macías, Joel Santoyo-Jaimes, María Alicia Mejía Blanquel, Mónica Sierra Martínez,, el dictamen es:

**"ACEPTADO"**

No omito mencionar que cualquier enmienda o prórroga deberá estar plenamente solicitada y aprobada oportunamente ante el Comité de Investigación y notificada ante el Comité de Ética en Investigación, así mismo deberá enviar su reporte de avance trimestral.

Agradeciendo su atención, reciba un cordial saludo.

Atentamente

**Dra. en C. Gabriela Ibáñez Cervantes**  
Presidenta del Comité de Ética en Investigación HJM

GIC/maml

Av. Instituto Politécnico Nacional No. 5160, Col. Magdalena de las Salinas, CP. 07760  
Gustavo A. Madero, CD MX. Tel: (55) 5747 7560. www.gob.mx/salud/hjm

