

COVID-19: Biomarcadores aplicados a las decisiones clínicas.

Revisión sistemática y análisis de una población local.

COVID-19: Biomarkers applied to clinical decisions. Systematic review and analysis of a local population.

Ramón Suárez(a), Noelia Barone(a), Mercedes Menéndez(a), Cecilia Casaravilla (b), Manuel Baz(c), Jorge Facal (d).

Hospital Británico, Servicio de Laboratorio Clínico. Montevideo, Uruguay.

RESUMEN

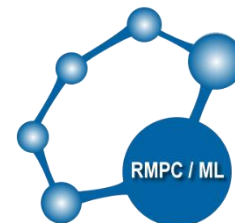
La gravedad de la COVID-19 se ha asociado con hipertrombicidad y una marcada desregulación del sistema inmune. La evidencia indica que, involucrada en estos fenómenos, existe participación endotelial que impacta en la disfunción y falla multiorgánica.

Nuestro objetivo fue investigar los procesos patogénicos y fisiopatológicos que rodean a la infección por SARS-CoV-2 para identificar biomarcadores con aplicación clínica que permitieran detectar precozmente el curso evolutivo de la enfermedad permitiendo así, optimizar los recursos asistenciales necesarios para el tratamiento.

Utilizamos como método una revisión sistemática de la literatura internacional y correlacionamos los datos hallados, con los resultados de biomarcadores agrupados según la gravedad clínica, que habíamos obtenido en nuestros trabajos científicos previos.

Encontramos una concordancia entre los niveles de los biomarcadores utilizados en nuestros estudios y las propuestas teórico-prácticas de los artículos científicos analizados en la revisión.

Esto nos permitirá definir futuros campos de investigación en la búsqueda de biomarcadores utilizables durante la estratificación clínica del paciente COVID-19 y a su vez genera una vía para analizar su posible utilidad en otras patologías con componente inmune o infeccioso inflamatorio.



ARTÍCULO ESPECIAL

Revista Mexicana de Patología
Clínica y Medicina de Laboratorio -
FEMPAC

Rev Mex Patol Clin Med Lab. 2022;
Volumen 69, Número 3

doi.

^a Laboratorio Clínico del Hospital Británico.

^b Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias/Instituto de Higiene.

^c Medicina Interna e Infectología.

^d Medicina Intensiva y Medicina Interna.

- Los autores declaran no tener conflicto de intereses.
- Los datos utilizados de nuestros pacientes se ajustaron a las normas del Comité de Ética de la institución donde se efectuó
- Se agradece la colaboración de Javier Magnone, Mariana Bruno..

CONTACTO

Dr. Ramón Suárez
Scoseria 2854/503 CP 11300,
Montevideo, Uruguay
Tel.: +59895974645
E-mail: rasuzal@gmail.com

Fecha de recepción:

29 de mayo de 2023

Fecha de aceptación:

21 de octubre de 2023

COVID-19: Biomarkers applied to clinical decisions. Systematic review and analysis of a local population.

Ramón Suárez(a), Noelia Barone(a), Mercedes Menéndez(a), Cecilia Casaravilla (b), Manuel Baz(c), Jorge Facal (d).

Hospital Británico, Servicio de Laboratorio Clínico. Montevideo, Uruguay.

Abstract

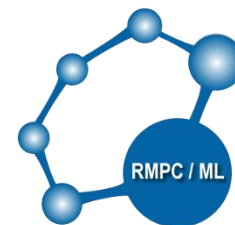
Severity of COVID-19 was associated with hyperthrombicity and manifest immune system's dysregulation. Evidence indicates that, involved in these phenomena, there is endothelial participation, which has impact on multi-organ dysfunction and failure.

Our aim was researching aspects of pathogenic and pathophysiological processes surrounding SARS-CoV-2 infection to identify biomarkers with clinical application, which would allow earlier detecting the possible course of disease, and optimize necessary medical care resources during illness progression.

We used as method a systematic international literature review and we correlated the found data with the biomarkers' results grouped according to clinical severity, which we had obtained in our previous scientific papers.

We found a concordance between the levels of the biomarkers used in our studies and the theoretical-practical proposals of the scientific articles analyzed in the review.

This will allow us to define future areas of research for usable biomarkers during the clinical stratification of the COVID-19 patient and generate a way to analyze possible utilities in other pathologies with an immune or infectious-inflammatory component.



PALABRAS CLAVE

COVID-19, endotelio, inmunidad, biomarcadores, estratificación clínica.

KEYWORDS

COVID-19, endothelium, immunity, biomarkers, clinical stratification



INTRODUCCIÓN

Importancia: es relevante optimizar la atención de pacientes Covid-19 y controlar los recursos disponibles. Para ello es necesario comprender los procesos patogénicos de la enfermedad, pudiendo así, identificar factores que permitieran estratificar el riesgo clínico y pronóstico. Es fundamental organizar las herramientas terapéuticas ante una patología que desarrolla cuadros clínicos de leves a críticos, un posible síndrome de dificultad respiratoria (SDRA) y llegar a un síndrome de disfunción multiorgánica (SDMO).

Fisiopatología: es sabido que la llave de acceso del SARS-CoV-2 a las células es el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (rACE2), el cual tiene expresión en las células del aparato respiratorio, pero también en riñón, corazón, intestino y vasos sistémicos, incluyendo capilares (1) (2).

Dadas las evidencias actuales se proponen tres etapas en el desarrollo de la enfermedad:

1. activación temprana del sistema inmunitario induciendo una respuesta de interferón,
2. una respuesta retardada que ya conlleva lesión celular,
3. un estado hiperinflamatorio con piroptosis excesiva y respuesta inmune desregulada (3).

Recordemos que el endotelio tiene funciones autócrinas, parácrinas y endócrinas fundamentales para la homeostasis vascular, por lo cual uno de los carriles de investigación actuales, es buscar evidencia que justifique si la lesión primaria viral directa sobre las células del endotelio es lo que produciría el aumento de la producción de factor Von Willebrand (vW) en estos casos. Su posterior evolución inflamatoria, pueda explicar la endotelitis evidenciada por depósitos de neutrófilos y monocitos activados en los vasos sanguíneos de múltiples órganos, lo que genera producción excesiva de factores protrombóticos, que entre otras variables (4) probablemente conducen a las complicaciones más frecuentes de la COVID-19, incluyendo el SDRA y SDMO asociado con alta morbimortalidad.

Durante mucho tiempo se pensó que las plaquetas cumplían tan solo su función en el sistema hemostático y que los leucocitos la cumplían en el sistema inmunológicos. Actualmente, se reconoce una interacción entre ambos sistemas tanto en los procesos

infecciosos como inflamatorios de diversas etiologías. Desarrollaremos más adelante de este artículo este punto.

En estudios de muestras de pulmón de autopsias, se observó la producción de trampas extracelulares de neutrófilos (NET) y en etapa temprana se localizaron en estructuras consistentes con vasos sanguíneos (5). Hay datos que sugieren que la interacción de las NET con las plaquetas es relevante en la patogenia del COVID-19 como veremos más adelante (8).

Consideramos importante, para comprender nuestra línea de observación, desarrollar algunos aspectos relacionados a la formación de NET, por lo cual describiremos brevemente esta función leucocitaria.

Los neutrófilos polimorfonucleares (PMN) producen NET a través de un proceso que involucra la muerte celular regulada llamado NETosis. Las NET son redes extracelulares tridimensionales de cromatina descondensada a las cuales se anexas histonas y proteínas antimicrobianas liberadas tras la estimulación. Los patógenos, incluidos los virus, son atrapados en estas redes que son parte del sistema inmunitario innato (6) (7). Cuando hay estimulación plaquetaria la NETosis puede desregularse y provocar daño tisular e hipercoagulabilidad. Las NET liberadas se amalgaman y forman agregados conjuntamente con las plaquetas (AggNET) lo que activa el sistema de complemento, favoreciendo aún más la activación de nuevas plaquetas, trombos y generación de más NET, generando un círculo vicioso. Esto altera el flujo vascular, produce hipoxia tisular y necrosis multimodal del endotelio.

La NETosis desregulada se asocia con enfermedades inflamatorias agudas y crónicas. La contribución de la NETosis a la patogénesis de la sepsis y el SDRA está bien documentada. Se ha evidenciado la presencia de NET que causa daño al tejido vascular y microtrombos dispersos que conducen a la falla multiorgánica y la muerte (9).

La inmutrombosis por interacción directa de los leucocitos activados con las plaquetas y los factores de la coagulación puede contribuir a los eventos protrombóticos descritos en pacientes con COVID-19 (10).

Los factores solubles y celulares que desencadenan NET aumentan significativamente en el plasma de portadores de COVID-19 y la gravedad de la enfermedad se correlacionó directamente con los complejos MPO-ADN del plasma ($p = 0,0360$), mientras que la Pao_2 /fracción de oxígeno inspirado, se correlacionó inversamente ($p = 0,0340$) (11).

OBJETIVO

Teniendo presente las actuales evidencias patogénicas y fisiopatológicas planteadas anteriormente nos preguntamos:

1. ¿Qué marcadores bioquímicos de posible uso clínico podrían orientar hacia el pronóstico evolutivo del paciente con Covid-19 y facilitar su estratificación clínica?
2. ¿Cuán coincidentes son, con las evidencias fisiopatológicas actuales los resultados obtenidos en nuestros trabajos científicos previos, en los que hemos analizado biomarcadores y su relación con la gravedad clínica?

METODOLOGÍA

Procurando respuesta a estas preguntas base, consideramos diseñar una revisión narrativa utilizando como fuentes de datos de literatura internacional: Medline, Scopus y Pubmed.

La búsqueda de evidencia se realizó mediante revisión de resúmenes y artículos completos hallados en bases electrónicas utilizando los términos: “COVID-19”, “SARS”, “thrombosis”, “inflamación”, “endotelio”, “linfopenia”, “marcadores”, “ARDS”, “pronóstico” y “gravedad clínica”. En los resultados hallados se realizó un análisis sistemático cualitativo no exhaustivo que presentamos de forma sintética, correlacionando trabajos científicos publicados, presentados o en producción y su correspondencia con datos surgidos en nuestros estudios, tanto desde aspectos clínicos como paraclínicos.

Los criterios de elegibilidad para este estudio transversal incluyeron como dato no aleatorio:

- a) que las intervenciones debieron realizarse en población con COVID-19,
- b) incluir todo trabajo independientemente de su estado de publicación con el fin de minimizar sesgos (texto completo disponible, resumen de trabajos aún no

publicados o en proceso con referencias adecuadas e informe de asociaciones entre los términos de búsqueda con referencias adecuadas.

Los criterios de inclusión fueron: fecha de realización entre enero de 2020 y febrero de 2022, PCR para SARS-COV-2 positiva, sintomáticos, adultos, cualquiera fuera su diseño y tamaño de la muestra. Criterios de exclusión fueron: población pediátrica y editoriales (12) (13).

Los datos obtenidos fueron correlacionados con resultados clínicos y biológicos hallados durante la pandemia en estudios realizados en una población adulta con Covid-19 del Hospital Británico por los autores.

RESULTADOS

Se seleccionaron para la revisión 31 estudios que cumplieron criterios de elegibilidad: 21 revisiones sistemáticas, 1 guía y 6 estudios observacionales y 3 estudios transversales analíticos.

Dentro de los temas requeridos en la revisión de la literatura internacional se hallaron evidencias que mostramos a continuación:

Penetración y lesión endotelial: el SARS-CoV-2 presenta una doble vía de lesión endotelial. Dado que las células endoteliales tienen expresión rACE2. Se plantea: a) una lesión endotelial directa (14) y b) una lesión indirecta, cuya fisiopatología sería una endotelitis, producto de una activación inmunoinflamatoria (15), liberación de citocinas, aumento de la trombocidad (16) y completa alteración de la estructura endotelial que conduce a un caos hemorreológico local.

Respuesta endotelial: generalmente en los vasos disfuncionales la respuesta inflamatoria se puede dividir en dos tipos:

- a) apoptosis de células endoteliales y
- b) necrosis endotelial.

Según se ha visto en biopsias y estudios realizados en tejidos animales, la infección por SARS-CoV-2 involucra ambos tipos de respuesta (17), las cuales tendrían la siguiente secuencia:

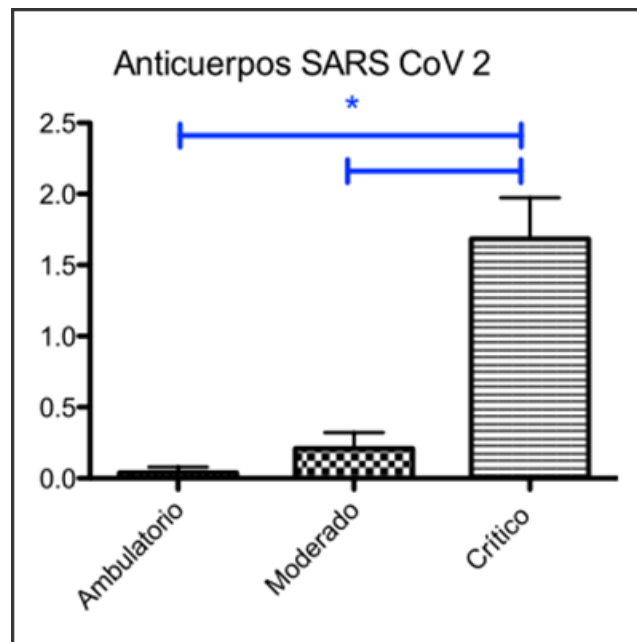
- I. **Estimulación endotelial o disfunción endotelial tipo I**, en la cual hay trombocidad favorecida por una pérdida de la anticoagulación y liberación de sustancias como la p-selectina y el inhibidor del activador del plasminógeno (PAI)
- II. **Activación endotelial tipo II**, que sería una disfunción inmediata reversible con liberación de varias sustancias: trombina, histamina, síntesis de proteína C reactiva, fibrinógeno, factores tisulares, moléculas de adhesión y proteína quimio-atrayente de monocitos 1 (MCP-1) entre otras.
En esta etapa el aumento de la trombocidad ocurre por la producción de sustancias procoagulantes: trombomodulina, activador del plasminógeno, antitrombina y factor de activación plaquetaria.
- III. **En la etapa III** finalmente, ocurre apoptosis celular con deterioro de la matriz extracelular, necrosis endotelial y vasculitis (11). La disminución de sustancias anticoagulantes y el aumento de las procoagulantes favorecen la trombosis.

Inflamación-inmunidad: el proceso inflamatorio comienza como un fenómeno inmunológico normal en el que linfocitos CD4+ se activan y luego linfocitos CD8+ promueven la remoción de células infectadas, así como virus neutralizados por neutrófilos (incluyendo la producción de NET) y macrófagos (18). También se genera la producción de anticuerpos neutralizantes (19).

En nuestro caso, previo al comienzo de la inmunización en 2020, pudimos determinar los niveles de anticuerpo IgG anti SARS-CoV-2 en 32 pacientes que categorizamos como ambulatorios (n4), moderados (n10) y críticos (n18). Utilizando la densidad óptica generada por una técnica inmunocolorimétrica ELISA, obtuvimos los siguientes resultados: en el grupo clasificado como ambulatorios 0.61 ± 1.15 DO, moderados 0.21 ± 0.34 DO y críticos 1.68 ± 1.22 DO.

Tanto entre los grupos ambulatorios vs críticos, como entre moderados vs críticos la diferencia fue significativa ($p = <0.05$), lo que parece relacionar una reacción inmunológica mayor o diferente en los pacientes que desarrollaron cuadros graves que en aquellos de menor gravedad (Figura 1).

Figura 1:
Reacción inmunológica
por grupos.



La linfopenia, un marcador de inmunidad celular alterada, es un reporte frecuente y fue diagnosticada en 65-90% de los casos COVID-19 y asociada a un peor pronóstico en la mayoría de estudios publicados. Se han informado depleción de CD4 Y CD8 en los pacientes graves. En algunos trabajos se destacan reportes de depleción de linfocitos CD4+ asociados de forma independiente con la admisión a las unidades de cuidados intensivos (UCI) (20).

También se ha planteado que el descenso de linfocitos CD8+ circulantes y NK observado, podría deberse a la sobreexpresión del receptor inhibitor del miembro A del grupo 2 (NIG2A), lo que conduce a una inmunidad ineficiente y esa respuesta inmunológica desregulada llevaría, entre otras variables a un curso con mayor compromiso lesional, sobreviniendo:

- I. Activación de complemento (21).
- II. Infiltración de tejidos por monocitos no inmunocompetentes
- III. Producción de citocinas por el sistema inmune innato, cuyos altos niveles se correlacionan desde los primeros casos con la gravedad de la enfermedad: TNF, IL2, IL6, IL8 y GCSF, a modo de ejemplo.

La desregulación del sistema inmune y la liberación de citocinas por hiperactividad del sistema inmune innato en el contexto de depleción de células T, caracterizan la clasificación clínica del COVID-19 grave.

Hay reciente evidencia de la participación de inflamomas especialmente NLRP3 como promotor del desarrollo de la inflamación local y su resultante sería la producción de citoquinas proinflamatorias vía caspasa-1 y la muerte celular vía gasdermina D, llevando esto al daño endotelial sistémico (22) (23).

Endotelitis: creemos que el daño endotelial que planteado anteriormente, es un punto fundamental en la fisiopatología del cuadro de COVID-19 y la distintiva trombofilia que lo caracteriza (24).

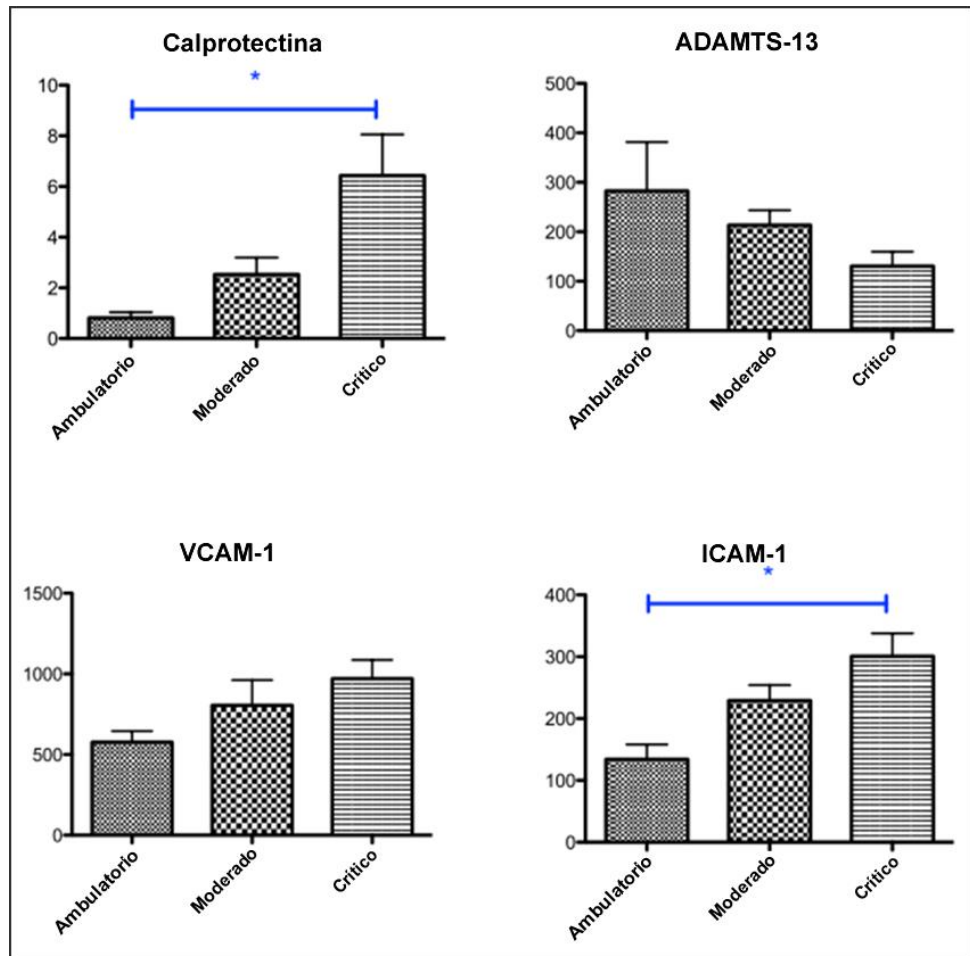
La inflamación vascular es anunciada por el aumento de ICAM y VCAM (25), E-selectina y citocinas proinflamatorias tales como IL8, IL6 y TNF (3).

En nuestra experiencia, relacionamos los resultados de una técnica ELISA para determinar VCAM-1 (expresada en ng/mL) en pacientes ambulatorios en los cuales observamos una media de 576.7+137.7, moderados 805.1+497.4 y críticos 970.1+493.4. Si bien se observa una tendencia, la diferencia no fue significativa ($p = 0.18$).

Por otro lado, realizamos en los mismos grupos de pacientes una técnica ELISA para determinar ICAM-1 (expresada en ng/mL). En los pacientes ambulatorios (n4) obtuvimos una media de 134.1+48.2, en los moderados (n10) 229.1+79.8 y en los críticos (n18) 300.8+157.2. Aquí, sí hubo una diferencia significativa ($p < 0.05$ entre ambulatorios y críticos) (Figura 2). Estos dos parámetros orientan a la participación endotelial en la patogenia del COVID-19, lo cual merece ser estudiado más profundamente y en mayor número de pacientes.

En estos casos en los cuales analizamos las moléculas de adhesión endotelial, estudiamos concomitantemente como marcador bioquímico la interleucina proinflamatoria IL-6 utilizando una técnica ELISA (expresada en pg/mL). Hallamos que en los pacientes ambulatorios (n4) los niveles séricos eran indetectables 0.0+0.0, mientras que en los pacientes con cuadros moderados (n10) era detectable 101.3+202.3, al igual que en los pacientes críticos (n18) 122+188.5 con una diferencia significativa entre el grupo ambulatorio y el grupo críticos ($p < 0.05$) evidenciando un fenómeno inflamatorio que armonizó con la lesión vascular (Figura 2).

Figura 2:
Resultados de biomarcadores por grupos.



Trampas neutrofílicas: actualmente se conocen tres vías por las cuales los neutrófilos limitan las infecciones: 1-fagocitosis, 2-degranulación, 3-liberación de trampas extracelulares.

Esta última, es decir la formación de NET, parecería jugar en el COVID-19 un rol preponderante en la lesión endotelial (17). De hecho, los pacientes graves e intubados tienen valores plasmáticos significativamente más altos de elementos componentes de NET, entre ellos, la calprotectina (26) (27).

Los datos obtenidos en nuestros pacientes, estratificados por la gravedad clínica justifican esta apreciación. Realizamos una técnica ELISA que determina calprotectina sérica (resultado expresado en mcg/mL), la cual proyectó medias de 0.81+0.46 en pacientes ambulatorios (n4), 2.53+2.10 en moderados (n10) y en pacientes críticos

(n18) 6.43+6.90, siendo significativa la diferencia entre el grupo de ambulatorios y críticos, $p = <0.05$ (Figura 2).

Los resultados de la revisión arrojan como otro elemento de valor pronóstico, los niveles séricos del factor de diferenciación 15 (GDF15) (28). Esta citoquina está relacionada particularmente a condiciones patológicas que incluyen isquemia miocárdica e inflamación, por lo tanto, GDF-15 ha sido ampliamente explorado como un biomarcador para el pronóstico de enfermedades (29).

En el COVID-19, la actividad de GDF15 aumenta en respuesta al daño tisular. Los niveles elevados de GDF15 parecen ser un fuerte predictor de mala evolución clínica y sus niveles se consideran una medida de la tolerancia tisular ante la respuesta inflamatoria (30).

Esto es concordante con nuestros hallazgos. Los pacientes de nuestros estudios, en los cuales se realizó una técnica ELISA para determinar los niveles de GDF-15 sérica (expresada en ng/mL) mostraron los siguientes valores de media: para pacientes ambulatorios (n4) 0.12+0.23, para el grupo de gravedad moderada (n10) 0.82+0.72 y para enfermos críticos (n18) 16.7+30.1. Siendo la diferencia $p <0.05$, es decir significativa para los grupos ambulatorios vs críticos (Figura 2).

Desde el punto de vista hemorreológico, a partir de Virchow sabemos (31), que la fluidez de la sangre depende del flujo, de los componentes de la misma y de la existencia de una pared vascular indemne. Por lo tanto, ante una endotelitis, se altera el flujo laminar de la sangre, hay estasis y para poder restablecer la fluidez, se activa el sistema trombolítico.

Si analizamos esta perspectiva en los pacientes COVID-19, observamos que no tenemos una pared vascular indemne, los elementos plasmáticos tienden a ser protrombóticos y la circulación está modificada por la lesión orgánica.

Ahora bien, una vez establecido el trombo y siendo la fibrina y factor vW los principales andamiajes estructurales de este, para restablecer el flujo, los elementos del trombo son fragmentados proteolíticamente por plasmina y ADAMTS13. Si bien esta fibrinólisis es insuficiente, genera un gran aumento de los D Dímeros circulantes, lo cual se ha usado como marcador en esta patología desde el comienzo de la pandemia.

Por otra parte, el ADN que conforma las redes de las NET está firmemente unido a la fibrina, pero al estar descondensado queda muy expuesto a las ADNasas (32) y se ha

visto que el ADN circulante se correlaciona positivamente con el vW y negativamente con ADAMTS13 en algunos animales.

Dicho esto, y a pesar de reconocer que con estos parámetros nuestra experiencia es muy corta determinando niveles de ADAMTS13 diremos que, si bien no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.06$) entre los grupos, hay una tendencia a correlacionarse negativamente ADAMTS-13 con la gravedad. Se utilizó una técnica ELISA para ADAMTS-13 (expresada en ng/mL) que en pacientes ambulatorios mostró como resultado (n4) una media de 282.9 ± 197.0 , en pacientes moderados (n10) una media de 231.0 ± 95 y en críticos (n18) 130.7 ± 123.1 (Figura 2).

Hay trabajos en los que se propone que como producto del daño endotelial aumentarían las concentraciones del factor vW, con la subsiguiente deficiencia relativa de ADAMTS13 (33). Se han realizado ensayos prospectivos en pacientes con gravedad leve a crítica analizando el antígeno vW y ADAMTS13 obteniendo resultados donde la relación ADAMTS13/vW disminuyó continuamente a lo largo de la internación en la población de pacientes graves. Dados nuestros resultados de ADAMTS-13 y no habiendo estudiado los niveles de vW, consideramos ésta una importante línea de investigación a desarrollar, puesto que tal vez ayude a entender este fenómeno también en otras patologías.

Inmunotrombosis: se ha reconocido en la actualidad una interacción entre plaquetas y PMN en los procesos infecciosos o inflamatorios de diversas etiologías.

Actualmente tenemos evidencias de una interacción activadora de las plaquetas en los procesos infecciosos vía toll like receptor (TLR). Las plaquetas detectan patógenos extraños a través de receptores de reconocimiento de patrones (TLR), incluida la detección de virus y se coordinan con los PMN para estimular la liberación de NET a través de la señalización de quimiocinas, factores de la coagulación (entre ellos vW), factor 4 plaquetario (PF4) y proteínas de alta movilidad del grupo 1 (HMGB1)), desempeñando un rol importante todo este conjunto en la respuesta inmunitaria intravascular y contribuyendo a los cuadros inflamatorios en COVID-19.

Hoy se piensa que las NET pueden ser un nexo fundamental entre los fenómenos inflamatorios y trombóticos, a lo que se suma que diversos componentes de las NET tienen un gran potencial como biomarcadores trombóticos.

DISCUSIÓN

Se ha observado correlación entre la producción de NET y la gravedad de la enfermedad respiratoria en el COVID-19.

Las NET representan una defensa primitiva contra los invasores microbianos que permite a los PMN capturar y eliminar físicamente patógenos, pero a su vez pueden dañar la pared vascular y generar un proceso inflamatorio inmuntrombótico.

Cada vez hay más evidencias que la liberación rápida de NET en el COVID-19 contribuye a una disfuncionalidad endotelial que podría ser responsable de la gravedad, contribuir al SDRA y falla multiorgánica. Ha sido en pulmones de pacientes con infección por SARS-COV-2 donde se han demostrado firmas de citoquinas correspondientes a NET (34), pero no solo presente en el COVID-19, sino también observable en otros síndromes inflamatorios sistémicos.

Los productos derivados de las plaquetas como PF4 se hallan en niveles elevados durante la infección por SARS-COV-2 y se observan agregados de plaquetas y neutrófilos en pacientes con COVID-19. El PF4, liberado de las plaquetas, se une a los NET, haciéndolos compactos y más resistentes a la ADNasa, Este ciclo de retroalimentación positiva de plaquetas/NET inicia y mantiene una cascada coagulante que podría explicar, en parte, la patogenia de esta enfermedad.

Por último, tal y como hemos visto en el cuerpo de esta revisión, señalamos que los resultados hallados en nuestros estudios se correlacionan, con estos planteos patogénicos.

Queremos destacar que para validar nuestra revisión de literatura médica internacional usamos la metodología que pudiera disminuir al máximo posibles sesgos, para que tuviera sentido comparar los datos de nuestros estudios locales con los hallazgos de otros centros globales.

CONCLUSIÓN

Nuestra línea de trabajo se centra en hallar biomarcadores que permitan estratificar según su gravedad pronostica los pacientes portadores de COVID-19 de forma precoz, pudiendo lograr así una optimización de los recursos terapéuticos necesarios.

Sabiendo que desde el punto de vista estadístico contábamos con un bajo número de pacientes estudiados, tratamos de validar nuestros resultados confrontándolos con los hallados en la literatura internacional. La buena correlación observada nos permitirá definir mejor el seguimiento de las líneas de investigación.

Sabemos que es necesario explorar más profundamente, pues muchos aspectos permanecen sin dilucidar, pero consideramos que todo aporte es importante para entender los procesos patogénicos y fisiopatológicos que involucran al endotelio, inflamación e inmunotrombosis en el COVID-19. Estos trabajos, a su vez, pueden contribuir a una mejor comprensión de otras patologías inflamatorias inmunes o infecciosas que cursan con procesos que aún no se han sido totalmente aclarados.

REFERENCIAS

1. Shaohua Li, Lina Jiang, Xi Li, Fang Lin, Yijin Wang, Boan Li, Tianjun Jiang, Weimin An, Shuhong Liu, Hongyang Liu, Pengfei Xu, Lihua Zhao, Lixin Zhang, Jinsong Mu, Hongwei Wang, Jiarui Kang, Yan Li, Lei Huang, Caizhong Zhu, Shousong Zhao, Jiangyang Lu, Junsheng Ji, and Jingmin Zhao. Clinical and pathological investigation of patients with severe COVID-1. Published JCI Insight May 19, 2020
2. Lega S, Naviglio S, Volpi S and Tommasini A. Insight into SARS-CoV2 Immunopathology and Rationale for Potential Treatment and Preventive Strategies in COVID-19 Vaccines 2020, 8(2), 224; <https://doi.org/10.3390/vaccines8020224>

3. Vicente V. Thrombotic Coagulopathy and Covid-19. DOI: 10.32440/ar.2020.137.02.doc01
4. Gupta A., Madhavan M., Sehgal K. ET col. Fuente: Nat Med (2020) Extrapulmonary manifestations of COVID-19 www.intramed.net/contenidover.asp?contenidoid=96413
5. Aranda F, Perés S, Larrañaga G. Immunothrombosis: implications of neutrophil extracellular traps in the development and progression of thromboembolic disease. *Hem. Vol.19 No.3*, 231-245 Set-Dic 2015
6. Flores P. Coagulopatía en Covid-19. Guía. https://www.abm.org.ar/docs/capacitacion_continua/2020/coagulopatia_covid_19_paola_flores.pdf
7. Ammollo C, Semeraro F, XU J, Esmon N, Esmon C. Extracellular histones increase plasma thrombin generation by impairing thrombomodulin-dependent protein C activation <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2011.04422>.
8. Middleton, E; He, X; Denorme, F; Campbell, R; Ng, D; Salvatore, S; Mostyka, M; Baxter-Stoltzfus, A; Borczuk, A; Loda, M; Cody, M; Manne, B; Portier, I; Harris, E; Petrey, A; Beswick, E; Caulin, A; Lovine A; Abegglen, L; Weyrich, A; Rondina, M; Egeblad, M; Schiffman, J; Yost, C. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Blood* ; 136(10): 1169-1179, 2020 09 03.
9. Patel P, Decuir J, Abrams J, Campbell A, Godfred-Cato S, Belay D. Clinical Characteristics of Multisystem Inflammatory Syndrome in Adults: a systematic Review *JAMA* 2021; 4(9):e2126456. DOI:10.1001/jamanetworkopen.2021.26456
10. Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunology* 2013;13:31-45
11. Spadaro et al. Markers of endothelial and epithelial pulmonary injury in mechanically ventilated COVID-19 ICU patients. *Crit Care* (2021)25:74 <https://doi.org/10.1186/s13054-021-03499-4>
12. University of Melbourne. Library Guides at University of Melbourne (Internet), Mach, 2021. <https://unimelb.libguides.com/c.php?g=492361&p=3368110>
13. Guide 2019 (Internet). <https://community.cochrane.org/mecir-manual/standards-conduct-new-cochrane-intervention-reviews-c1-c75/developing-protocol-review-c1-c23/setting-eligibility-criteria-including-studies-review-c5-c13>
14. Shi H, Gandhi H, Smith A, Wang Q, Chiang D, Yalavarthi S, Ali R, Liu C, Sule G, Tsou P, Zuo Y, Kanthi Y, Farkash Y, Lin J, Morrissey J, Knight J. Endothelium-protective, histone-neutralizing properties of the polyanionic agent defibrotide. *medRxiv*. 2021 Jul 15; doi: 10.1101/2021.02.21.21252160.
15. Melo A, Milby K, Caparroz A, Pinto A, Santos R, Rocha A, Ferreira G, Souza V, Da Valadares L, Vieira R, Pileggi G, Trevisani V. Biomarcadores de la tormenta de citocinas como señales de alerta para casos graves y fatales de COVID-19: una revisión sistemática y meta análisis. 29 de junio de 2021; doi: 10.1371 / journal.pone.0253894

16. Samaniego F, Conte G. SARS-CoV-2 infection as a thrombo-inflammatory endothelial disease. *Rev Med de Chile* <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872020001001467>
17. Páramo J. Inflammatory Response in Relation to COVID-19 and Other Prothrombotic Phenotypes. DOI: 10.1016/j.reuma.2020.06.004
18. González A, Peña A, Rojas M, López N, Ustarroz M, García I, Bizarro P, Fortoul T. Fisiología de la hemostasis y su alteración por la coagulopatía en COVID-19. *Rev de F Med UNAM Vol63 N°5 Set-Oct 2020* <http://doi.org/10.22201/fm24484865e.2020.63.5.08>
19. Bohn M, Lippi G, Horvath A, Sethi, Koch D, Ferrari M, Wang C, Mancini N, Steele S, Khossrow A. Molecular, serological, and biochemical diagnosis and monitoring of COVID-
20. Montalvo M, González C. Índice neutrófilos/linfocitos: un predictor de mortalidad en paciente con infección por SARS-CoV-2. *Med Crit* 2021; 35 (3): 130-135 Doi 10.35366/100001
21. Monserrat J, Gómez A, Martina O. Papel del sistema inmune en la infección por el SARS-CoV-2: inmunopatología de la COVID-19. *Medicine* 2021 May; 13(33): 1917–1931. Doi: 10.1016/j.med.2021.05.005
22. Kaivola J, Nyman T, Matikainen S. Inflammasomes and SARS-CoV-2 Infection. *Viruses* 2021, 1302513 <https://doi.org/10.3390/v13122513>, <https://www.mdpi.com/journal/viruses>
23. Rodrigues T, de Sá K, Ishimoto A, Becerra A, Oliveira S, Almeida L, Perucello G, Andrade W, Castro R, Veras F, Toller-Kawahisa J, Nascimento D, de Lima M, Silva C, Caetite D, Martins R, Castro I, Pontelli M, Barros F, Do Amaral N, Giannini M, Bonjorno L, Lopes M, Santana R, Vilar F, Martins M, Luppino-Assad R, De Almeida S, de Oliveira F, Batah S, Siyuan L, Benatti M, Cunha T, Alves-Filho J, Cunha F, Cunha L, Frantz F, Kohlsdorf T, Fabro A, Arruda E, de Oliveira R, Louzada-Junior P, Zamboni D. Inflammasomes are activated in response to SARS-CoV-2 infection and are associated with COVID-19 severity in patients. *J Exp Med* (2021) 218 (3): e20201707, <https://doi.org/10.1084/jem.20201707>
24. Zhang J, Kristen T, McCullough A. Endothelial dysfunction contributes to COVID-19-associated vascular inflammation and coagulopathy. *Rev in Cardiovasc Med* 2020 vol 21, 3, 315-319 DOI:10.31083/j.rcm.2020.03.126
25. Tong M, Jiang Y, Xia D, Xiong Y, Zheng Q, Chen F, Zou L, Xiao W, Zhu Y. Elevated Expression of Serum Endothelial Cell Adhesion Molecules in COVID-19 Patients. *J Infect Dis.* 2020 Sep 15; 222(6): 894–898, Doi: 10.1093/infdis/jiaa349
26. Aboughdir M et al. Prognostic Value of Cardiovascular Biomarkers in COVID-19: A Review. *Viruses* 2020 May 11;12(5):527 Doi: 10.3390/v12050527.
27. García de Guadiana-Romualdo L et col. Circulating levels of calprotectin, a signature of neutrophil activation in prediction of severe respiratory failures in COVID-19 patients: a multicenter, prospective study. *Inflam Res* (2022) 71:57-67 <https://doi.org/10.1007/s00011-021-01516-4>

28. Alserawan L, Peñacova P, Orozco S, Castillo D, Ortiz E, Martínez L, Moga E, Domingo P, Castellvi I, Juárez C, Mariscal A. Growth Differentiation Factor 15 (GDF-15): A Novel Biomarker Associated with Poorer Respiratory Function in COVID-19. *Diagn* 2021.11,1998; <https://www.mdpi.com/journal/diagnostics>
29. Mahler M, Meroni M, Infantino M, MBuhler K, Fritzler M. Circulating Calprotectin as a Biomarker of COVID-19 Severity. *Exp Rev of Clin Imm*, vol 17, 2021-Issue 5 <https://doi.org/10.1080/1744666X.2021.1905526>
30. Ahmed D, Isnard S, Berini C, Lin J, Routy J, Royston L. Front. Coping With Stress: The Mitokine GDF-15 as a Biomarker of COVID-19 Severity. *Immunol.*, 16 February 2022 <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.820350>
31. Barcudi R, Bono J, Sarmiento P. Cardiovascular and thrombotic compromise in COVID 19. Involvement in clinical and therapeutic implications. *Method* 2021; 6(2):90-103, [https://doi.org/10.22529/me.2021.6\(2\)07](https://doi.org/10.22529/me.2021.6(2)07)
32. Protasio F, Cornejo M, Meirelles C, Toller-Kawahisa J, de Lima M, et col. SARS-CoV-2-triggered neutrophil extracellular traps mediate COVID-19 pathology. *J exp med* 2020 Dec 7;217(12):e20201129. doi: 10.1084/jem.20201129
33. Doevelaarc A, Bachmann M, Hölzer B, Seibert F, Rohn B, Bauer F, Witzke O, Dittmer U, Michael Bachmann M, Yilmaz S, Dittmer R, Schneppenheim S, Babel N, Budde U, and Westhoff T. COVID-19 is associated with relative ADAMTS13 deficiency and VWF multimer formation resembling TTP. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.08.23.20177824>
34. López-Reyesa R, Osculloa G, Jiménez D, Canoc I, García-Ortega A. Thrombotic Risk and Covid-19: Review of Current Evidence for a Better Diagnostic and Therapeutic Approach. *Arch Bronconeum* Jan, 2021 DOI: 10.1016/j.arbres.2020.07.033.