



---

**Universidad de Valladolid**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**GRADO EN MEDICINA**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

***“MODELO PREDICTIVO DE MORTALIDAD EN COVID-19  
SEVERO BASADO EN PARÁMETROS CLÍNICOS,  
ANALÍTICOS Y PERFILES DE CITOCINAS”***

Presentado por: **Raquel Arroyo Alonso**

Tutelado por: **Eduardo Tamayo Gómez**

Co-tutelado por: **Óscar Gorgojo Galindo**

*Valladolid, 25 de mayo de 2022*

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>1. RESUMEN</b> .....	3
<b>2. INTRODUCCIÓN</b> .....	4
2.1. Aspectos generales de la COVID-19.....	4
2.2. Factores de riesgo de severidad y mortalidad en la COVID-19.....	5
2.3. Fisiopatología de la COVID-19: Síndrome de tormenta de citocinas, SDRA y fracaso multiorgánico. Perspectivas terapéuticas.....	5
<b>3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b> .....	8
3.1. Hipótesis.....	8
3.2. Objetivo principal.....	8
3.3. Objetivo secundario.....	8
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	9
4.1. Diseño del estudio.....	9
4.2. Sujetos de estudio.....	9
4.2.1. Criterios de inclusión.....	9
4.2.2. Criterios de exclusión.....	9
4.3. Muestras biológicas.....	9
4.4. Grupo sanguíneo.....	9
4.5. Variables de estudio.....	9
4.6. Análisis de citocinas y quimiocinas.....	10
4.7. Protocolo de tratamiento hospitalario.....	10
4.8. Análisis estadístico.....	10
<b>5. RESULTADOS</b> .....	12
5.1. Características de presentación.....	12
5.2. Comparación del perfil de citocinas.....	13
5.3. Factores de riesgo asociados a mal pronóstico (mortalidad) en pacientes hospitalizados con COVID-19. ....	14
<b>6. DISCUSIÓN</b> .....	18
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	20
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	21

## 1. RESUMEN

Introducción: La neumonía es la principal causa de admisión hospitalaria en los pacientes con enfermedad por COVID-19. Este estudio lleva a cabo una caracterización extensiva de los parámetros clínicos, analíticos y perfiles de citocinas con el fin de predecir mortalidad a los 28 días en pacientes COVID-19.

Métodos: El estudio incluyó 108 pacientes COVID-19 admitidos entre marzo y abril de 2020 en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid (España). Se recogieron muestras de plasma de cada paciente tras su admisión en el servicio de urgencias. Se midieron por duplicado los niveles séricos de 45 citocinas, y los datos fueron analizados utilizando SPSS, versión 25.0.

Resultados: El modelo multivariante resultante mostró como única citocina a VEGF-A relacionada con el riesgo de mortalidad a los 28 días (OR=3,49, IC 95%-(1,85-17,41), p=0,04) junto al dímero-D (OR=11,28, IC 95%-(1,87-68,19), p=0,032) y creatinina (OR=6,92, IC 95%-(1,19-40,38), p=0,04). En los tres factores se estimó un punto de corte a partir del cual se cumple el modelo. Asimismo, se llevó a cabo una validación interna mediante una curva COR mostrando una AUC de 0,83, con una sensibilidad del 78,9% y una especificidad del 83,8%. Por último, la curva de Kaplan-Meier mostró en torno a un 40% más de mortalidad acumulada para aquellos pacientes que cumplían con los valores de corte del modelo multivariante.

Conclusiones: Un modelo predictivo simple, rápido y robusto basado en dos parámetros de laboratorio comunes y una citocina específica (VEGF-A), podría ser utilizado para predecir y reducir la mortalidad de los pacientes ingresados por COVID-19.

Palabras clave: COVID-19; VEGF-A; diagnóstico; citocinas; biomarcadores; validación

## 2. INTRODUCCIÓN

### 2.1. Aspectos generales de la COVID-19

A finales de diciembre de 2019 surge en Wuhan (China) un brote de neumonía de etiología desconocida vinculada al mercado de marisco de Huanan<sup>[1-3]</sup>. Los estudios preliminares concluyeron que el agente causante de la enfermedad era un nuevo virus desconocido hasta el momento, incluido dentro del género betacoronavirus, al que posteriormente se denominó SARS-CoV-2<sup>[1,4]</sup>. COVID-19 fue el nombre final que recibió por parte de la OMS, tras declararse la alerta sanitaria con alto riesgo a nivel internacional<sup>[5]</sup>. La alta capacidad de transmisión, su periodo de incubación y porcentaje de asintomáticos, dio como resultado la rápida propagación del virus en multitud de países a partir de febrero de 2020, y al cabo de poco más de un mes se catalogó oficialmente de pandemia con una posterior tasa bruta de letalidad general de aproximadamente 2,3%<sup>[2,4,5]</sup>.

La transmisión, al igual que en otras epidemias por coronavirus, se produce vía aérea por inhalación directa o indirecta de pequeñas microgotas o aerosoles<sup>[4,8]</sup>. A diferencia de dichas epidemias, esta nueva especie ha presentado una mayor transmisibilidad, con un número reproductivo básico (R0) al inicio de la pandemia de aproximadamente 2,5<sup>[3]</sup>. Asimismo, el riesgo de transmisión es elevado durante la fase inicial de la infección, alcanzando su máximo conforme avanza la severidad de la misma, siendo el tiempo de incubación variable entre 1-14 días, con un promedio de 5 días<sup>[4]</sup>.

Las posibles vías de contagio incluyen principalmente los ojos, la boca y la nariz. Posteriormente, los viriones infectan a las células mediante la unión entre la proteína S (espícula) y su receptor, la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA2), expresada en múltiples tejidos, incluidas las vías respiratorias. Esta unión desencadena una serie de mecanismos facilitados por proteasas de la célula huésped, resultando en la entrada del SARS-CoV-2 a la célula para iniciar su ciclo replicativo<sup>[4,10]</sup>.

A medida que el virus se multiplica y desciende por el tracto respiratorio, se genera una respuesta inmunitaria responsable de un amplio espectro de manifestaciones clínicas. Además de una forma asintomática, suele identificarse una sintomatología leve o moderada que frecuentemente se asemeja al resfriado común (fiebre en torno a 38°C, tos seca, fatiga, mialgias y disnea)<sup>[4,6]</sup>. No obstante, en ciertas situaciones, la disnea puede derivar gradualmente en formas más severas e incluso críticas que implican un síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA), el fracaso multiorgánico o la muerte<sup>[6,7]</sup>.

## 2.2. Factores de riesgo de severidad y mortalidad en la COVID-19

Se han descrito varios factores asociados a un mal pronóstico en adultos hospitalizados por COVID-19. Entre los factores de riesgo más destacados se describen el sexo, la edad y de manera controvertida el tabaquismo<sup>[4,8,9]</sup>, pero también la presencia de ciertas comorbilidades tales como la hipertensión arterial (HTA), diabetes mellitus, obesidad, neoplasias, hepatopatías y enfermedades respiratorias crónicas<sup>[8,10,11]</sup>. En dichas comorbilidades, la alta probabilidad de infección y su tendencia a un peor pronóstico se puede explicar, en gran medida, por una respuesta inmune debilitada contra el virus y por la presencia de niveles incrementados de ECA2 en los tejidos diana, favoreciendo los sitios de unión disponibles para el virus<sup>[8,9]</sup>.

En lo que respecta a biomarcadores séricos, cabe destacar a la proteína C reactiva (PCR), procalcitonina, dímero-D y ferritina como indicadores de un mal pronóstico en términos de severidad y mortalidad durante la fase de hiperinflamación sistémica de la enfermedad<sup>[10,11]</sup>. Otros parámetros como los niveles elevados de troponina cardiaca I de alta sensibilidad, la persistencia prolongada del RNA de SARS-CoV-2 o el desarrollo de linfopenia también han sido considerados predictores de progresión hacia formas críticas de la enfermedad por COVID-19<sup>[4,12,13]</sup>.

Por último, el grupo sanguíneo ha mostrado diferentes grados de asociación con la susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2, siendo ésta frecuentemente superior en pacientes de grupo A, factor Rh +, y menor en aquellos de grupo O<sup>[14-17]</sup>. La menor susceptibilidad de los pacientes con grupo O podría explicarse por la presencia del anticuerpo anti-A en sangre, que actuaría inhibiendo específicamente la unión del virus al receptor ECA2<sup>[14,15,17]</sup>. Sin embargo, en términos de mal pronóstico clínico y mortalidad, la asociación de la COVID-19 con el grupo sanguíneo es controvertida. Algunos estudios muestran mayor mortalidad en pacientes con grupo sanguíneo A respecto al resto de grupos sanguíneos<sup>[15,17]</sup>.

## 2.3. Fisiopatología de la COVID-19: Síndrome de tormenta de citocinas, SDRA y fracaso multiorgánico. Perspectivas terapéuticas

Una vez que las células del epitelio respiratorio son infectada por el SARS-CoV-2, se produce la multiplicación de los viriones con el consiguiente descenso por el tracto respiratorio<sup>[8]</sup>. En los pacientes críticos con neumonía bilateral por COVID-19 se desencadena, junto a la rápida propagación del virus, una fuerte respuesta inmunitaria

que conduce a la aparición de un síndrome de tormenta de citocinas, responsable de las complicaciones potencialmente mortales de la enfermedad<sup>[4,8]</sup>.

El término “tormenta de citocinas” hace referencia a un síndrome inflamatorio sistémico caracterizado por una producción descontrolada de citocinas y quimiocinas por parte del huésped<sup>[18]</sup>. Se trata de una condición clínica de rápido desarrollo, en la que la sobreproducción de mediadores inflamatorios conlleva a la activación desproporcionada de las células inmunitarias, dando como resultado una fiebre elevada y persistente, presencia de linfadenopatías, hepatoesplenomegalia, mialgias generalizadas, hipotensión, elevación de reactantes de fase aguda, coagulación intravascular diseminada (CID), SDRA, fracaso multiorgánico, e incluso la muerte si no se produce respuesta al tratamiento antiinflamatorio<sup>[6,19]</sup>. Las citocinas cuyos niveles circulantes se han encontrado más frecuentemente elevados durante la tormenta de citocinas en los pacientes con enfermedad severa por COVID-19 incluyen IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-2R, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17, IL-18, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , G-CSF, GM-CSF, MCP-1, MIP-1 $\alpha$  y VEGF<sup>[6,18,19]</sup>.

La tormenta citocinas asociada a la COVID-19 probablemente tenga su origen en una desregulación de la respuesta inmunitaria innata y adaptativa<sup>[6]</sup>. El ARN de SARS-CoV-2 es reconocido por las células del huésped, produciéndose en casos de COVID-19 severo una rápida abolición de la respuesta mediada por interferones de tipo 1, ocasionando por una parte, una paradójica reacción hiperinflamatoria con una primera ola de sobreproducción de citocinas proinflamatorias, y por otra parte, una rápida multiplicación y propagación del virus<sup>[6,18]</sup>. Entre las citocinas liberadas en esta primera etapa, cabe destacar la IL-8<sup>[18]</sup>, que dirige el reclutamiento hacia el pulmón de macrófagos, neutrófilos, células dendríticas y linfocitos NK<sup>[6]</sup>, así como de células de la inmunidad adaptativa<sup>[18]</sup>. Esta situación conlleva una segunda ola de citocinas proinflamatorias que contribuye a las anteriores manifestaciones asociadas a este cuadro de hipercitocinemia. Asimismo, durante las fases iniciales de la infección severa por SARS-CoV-2 se produce una respuesta compensatoria<sup>[6]</sup> a través de los linfocitos T reguladores mediante la producción de IL-10<sup>[18,20]</sup>. La consecuencia de esta respuesta inmunosupresora se traduce en parte, en una situación de linfopenia asociada frecuentemente a los casos avanzados de COVID-19 severo. De este modo, se han encontrado niveles disminuidos de linfocitos T CD4, CD8, NK y B, y la expresión de marcadores de exhaustividad en dichas células, lo que constituye un predictor de mal pronóstico de la enfermedad<sup>[6,18]</sup>.

Por otra parte, la unión de SARS-CoV-2 a las células del epitelio alveolar induce una disminución en la expresión del receptor ECA2, incrementando los niveles locales de angiotensina II, lo que conduce a un aumento de la permeabilidad capilar pulmonar mediado por la estimulación de los receptores de angiotensina tipo I<sup>[8,19]</sup>. Este mecanismo, junto con el estado hiperinflamatorio presente a nivel pulmonar, lesiona el endotelio capilar pulmonar y el epitelio alveolar<sup>[6]</sup> originando un edema pulmonar característico del SDRA<sup>[8,18,19]</sup>. Además, el conjunto de citocinas proinflamatorias y sus células productoras a nivel pulmonar, inducen ciertos procesos hematopoyéticos que resultan en anemia y alteraciones de la hemostasia, originando un cuadro de CID, que en paralelo al SDRA, conduce al fracaso multiorgánico y la muerte<sup>[6]</sup>.

El síndrome de disfunción multiorgánica en casos de COVID-19 severo también se explica porque la tormenta de citocinas favorece la sobreexpresión de ECA2 en la mayoría de los tejidos, por lo que, en caso de viremia derivado de la respuesta citotóxica sobre el tejido pulmonar, el virus presenta mayor facilidad para penetrar y lesionar los órganos que expresan dicho receptor, tales como los riñones y el corazón<sup>[8,18]</sup>.

En este sentido, gran parte del ámbito terapéutico contra la COVID-19 se ha enfocado en disminuir la respuesta inflamatoria descontrolada que se produce en casos severos de la enfermedad. En un principio, se sugirió el empleo de inhibidores de citocinas ya empleados en la clínica, tales como anakinra (antagonista del receptor de IL-1 recombinante)<sup>[25,26]</sup> o el tocilizumab (anticuerpo monoclonal anti-IL-6)<sup>[27]</sup>. No obstante, los resultados contradictorios entre diversos estudios han supuesto una controversia en cuanto a su beneficio en la supervivencia de estos pacientes. Lo cierto es que los glucocorticoides han constituido la única terapia exitosa hasta el momento, confirmándose por numerosos metaanálisis una reducción significativa de la mortalidad en pacientes COVID-19 hospitalizados con oxigenoterapia o ventilación mecánica que han recibido tratamiento con dexametasona<sup>[22-24]</sup>. Actualmente se encuentran en estudio tres nuevos antivirales de administración oral dirigidos contra la replicación viral (molnupinavir, fluvoxamina y la combinación de ritonavir con nirmatrelvir, llamada Paxlovid®). De acuerdo con la evidencia disponible hasta el momento, no solo parecen exhibir un buen perfil de seguridad general, sino que además han demostrado resultar útiles en reducir las tasas de hospitalización y mortalidad en los pacientes con COVID-19<sup>[21]</sup>.

### **3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

#### **3.1. Hipótesis**

El análisis del perfil de citocinas en pacientes hospitalizados por COVID-19 puede ayudar a predecir su mortalidad durante los primeros 28 días de ingreso.

#### **3.2. Objetivo principal**

Llevar a cabo un análisis estadístico de los parámetros clínicos, analíticos y el perfil de citocinas de cada paciente, con el fin de describir un modelo predictivo de mortalidad en la COVID-19.

#### **3.3. Objetivo secundario**

Identificar un posible biomarcador relevante en la fisiopatología de la COVID-19 en un contexto de hipercitocinemia asociado al fracaso multiorgánico.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Diseño del estudio**

Se trata de un estudio observacional de casos y controles. Este estudio se realizó de acuerdo con los principios de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Ética Clínica del Hospital Clínico Universitario de Valladolid (CEIm) (cod: PI 20-1717). También se llevó a cabo siguiendo la Declaración TRIPOD.

### **4.2. Sujetos de estudio**

#### **4.2.1. Criterios de inclusión**

En este estudio se incluyeron 108 pacientes con un resultado de PCR positivo para COVID-19, admitidos en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid (España) entre el 24 de marzo y el 11 de abril de 2020.

#### **4.2.2. Criterios de exclusión**

Los pacientes con otra infección activa o cualquier enfermedad crónica en fase terminal fueron excluidos.

De cada paciente se obtuvieron datos demográficos, clínicos y analíticos.

### **4.3. Muestras biológicas**

Las muestras de plasma de los pacientes fueron obtenidas tras su admisión en urgencias y colocadas en tubos de citrato de sodio al 3,2%, posteriormente se centrifugaron a 2000 xg durante 20 minutos a temperatura ambiente. El plasma fue alícuotado y almacenado a - 80°C hasta su uso.

### **4.4. Grupo sanguíneo**

El grupo sanguíneo se determinó usando medidas de laboratorio colocando las muestras en un analizador automatizado (Erytra automated system for blood typing, Grifols, Barcelona, España), usando la tecnología de la tarjeta de gel DG.

### **4.5. Variables de estudio**

Para describir el fenotipo clínico de cada uno de los pacientes, se recogieron datos demográficos, clínicos y analíticos (leucocitos, linfocitos, neutrófilos, plaquetas, bilirrubina, creatinina, glucosa, troponina de alta sensibilidad, proteína C reactiva, LDH, ferritina, procalcitonina y dímero-D).

#### 4.6. Análisis de citocinas y quimiocinas

Los niveles séricos de 45 citocinas fueron medidos usando el 45-plex Human XL Cytokine Luminex Performance Panel (R&D). Las citocinas y quimiocinas incluidas en el panel fueron: BDNF, EGF, eotaxina (también conocido como CCL11), FGF-2, GM-CSF, GRO- $\alpha$  (CXCL1), HGF, IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-12 p70, IL-13, IL-15, IL17a (CTLA-18), IL-18, IL-1RA, IL-2, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IL-31, IL-4, IL-5, IL6, IL-7, IL-8 (también conocido como CXCL8), IL-9, IP-1  $\beta$  (CCL4), IP-10 (CXCL10), LIF, MCP-1 (CCL2), MIP-1 $\alpha$  (CCL3), NGF- $\beta$ , PDGFBB, PIGF-1, RANTES (CCL5), SCF, SDF-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , VEGF-A, y VEGF-D.

#### 4.7. Protocolo de tratamiento hospitalario

El protocolo de tratamiento hospitalario para la neumonía por COVID-19 en marzo y abril de 2020 incluía: lopinavir/ritonavir (Kaletra®, Abbott, Chicago, IL, USA) en solución de 200/50 mg/mL dos veces al día, e hidroxicloroquina (Dolquine®, Rubió, Barcelona, Spain) 400 mg dos veces al día. De acuerdo con los criterios inflamatorios, el tratamiento también podía incluir el interferón 1 $\beta$  (Betaferon®, Bayer, Leverkusen, Germany), 0.25 mg administrado cada 48 h, corticoesteroides (Urbason®, Aventis, Paris, France), 240 administrado cada día durante tres días, tocilizumab (RoActemra®, Roche, Basel, Switzerland), baricitinib (Olumiant®, Lilly, Indianapolis, IA, USA) o anakinra (Kineret®, Amgen, Thousand Oaks, CA, USA). En caso de sospecha de sobreinfección bacteriana, fue requerido el tratamiento antibiótico. El soporte con oxigenoterapia (cánula nasal, cánula nasal de alto flujo y ventilación mecánica invasiva y no invasiva) fue administrado a los pacientes en base a la severidad de su hipoxemia.

#### 4.8. Análisis estadístico

En este estudio, que analiza la relación entre las características clínicas y analíticas y el perfil de citocinas con la mortalidad, los pacientes fueron divididos en dos grupos de estudio: fallecidos a los 28 días de seguimiento y supervivientes.

Las variables continuas se representaron como mediana y rango intercuartílico (RIC), mientras que las variables categóricas se describieron con recuentos y porcentajes. Las comparaciones entre variables continuas y categóricas se realizaron con la prueba U de *Mann-Whitney*, y el test  $\chi^2$  y la prueba exacta de *Fisher*, respectivamente.

Se realizaron regresiones logísticas univariantes, ajustadas por edad y sexo, con el fin de determinar de manera individualizada las variables clínicas, analíticas y de citocinas asociadas al riesgo de mortalidad a los 28 días. Posteriormente, se obtuvieron los puntos de corte de las variables significativas en el análisis univariante ( $p < 0.1$ ),

mediante la curva Características Operativas del Receptor (COR), de acuerdo con la máxima sensibilidad y especificidad respecto a la variable dependiente. Finalmente, dichas variables fueron dicotomizadas de acuerdo con dichos puntos de corte e introducidas en un análisis multivariante. El modelo multivariante resultante fue validado internamente a través de una curva COR en base a las probabilidades generadas del modelo. Se calcularon los odds ratio (OR) y el intervalo de confianza (IC) al 95%.

La estimación de la mortalidad acumulada fue realizada empleando el método Kaplan-Meier, por comparación entre aquellos pacientes en los que se cumplía el modelo multivariante y aquellos en los que se incumplían alguno de los factores de dicho modelo. Las curvas de incidencia acumulada se determinaron con la prueba log-rank. Se utilizó el modelo estratificado de riesgos proporcionales de Cox para estimar el cociente de riesgos instantáneos e IC del 95%.

Todos los análisis estadísticos se han efectuado utilizando SPSS versión 25.0 para Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). Un p-valor inferior a 0.05 fue considerado estadísticamente significativo.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Características de presentación

En total, 108 pacientes fueron hospitalizados en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid con COVID-19 confirmado, entre el 24 de marzo y el 11 de abril de 2020. Las características clínicas en función del pronóstico (fallecidos a los 28 días o supervivientes) se muestran en la Tabla 1. Se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa respecto a la edad entre ambos grupos ( $p=0,017$ ), con una mediana de edad superior en el grupo de fallecidos. En comparación con otros tipos de grupo sanguíneo AB0, el grupo sanguíneo 0 no se asoció con un menor riesgo significativo de mortalidad. La comorbilidad más frecuente en ambos grupos fue la hipertensión; sin embargo, ninguna de ellas mostró una diferencia significativa entre el grupo de fallecidos y supervivientes. Respecto a las variables analíticas descritas, la glucemia, los niveles de creatinina, leucocitos, neutrófilos, procalcitonina, PCR, dímero-D y de LDH fueron significativamente más elevados en el grupo de fallecidos. No se encontró una diferencia significativa entre grupos en lo referente a los medidores hospitalarios.

**Tabla 1:** Características clínicas de los pacientes, en función de si pertenecen al grupo de supervivientes o al de fallecidos a los 28 días.

	EXITUS 28 DÍAS (n=20)	SUPERVIVIENTES (n=88)	p-valor
EDAD. Años [mediana (RIC)]	73.5 (14)	67 (17)	0,017
SEXO MASCULINO [n (%)]	12 (60)	47 (53,4)	0,628
GRUPO SANGUÍNEO [n (%)]			
GRUPO 0	3 (15)	32 (36,4)	0,110
COMORBILIDADES [n (%)]			
FUMADOR	4 (20)	5 (5,7)	0,059
CARDIOPATÍA CORONARIA	2 (10)	8 (9,1)	1,000
CARDIOPATÍA FIBRILACIÓN AURICULAR	4 (20)	8 (9,1)	0,229
DM	5 (25)	14 (15,9)	0,340
ENFERMEDAD NEUROLÓGICA	1 (5)	1 (1,1)	0,337
ICTUS	0 (0)	1 (1,1)	1,000
HIPERTENSIÓN	11 (55)	39 (44,3)	0,460
HEPATOPATÍA	1 (5)	1 (1,1)	0,337
OBESIDAD	2 (10)	8 (9,1)	1,000

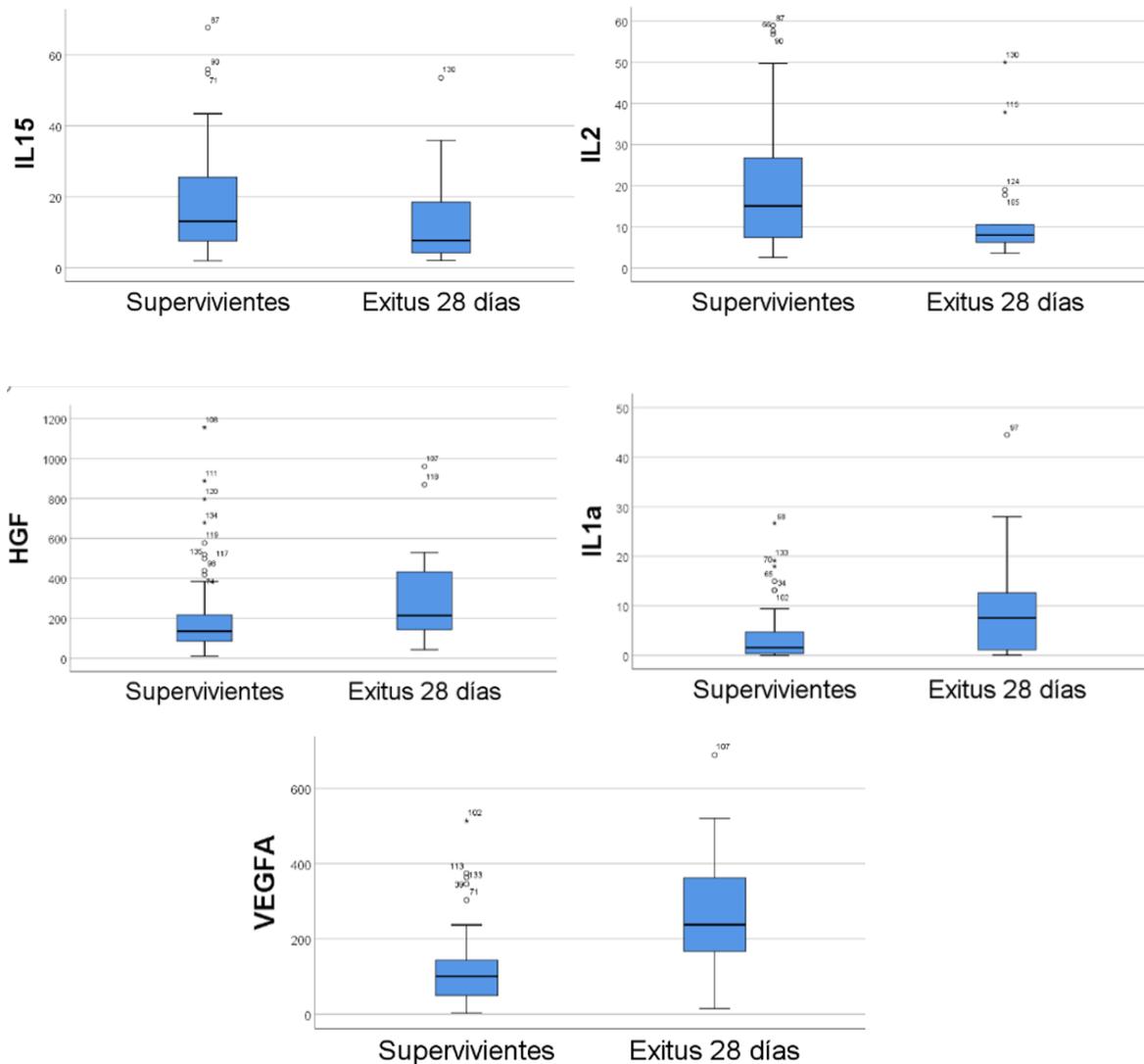
(continuación Tabla 1)

EPOC	2 (10)	5 (5,7)	0,611
ERC	2 (10)	1 (1,1)	0,087
LABORATORIO [mediana (RIC)]			
GLUCEMIA (mg/dL)	198 (227)	106 (67,25)	0,000
CREATININA (mg/dL)	0,995 (0,86)	0,815 (0,23)	0,007
BT (mg/dL)	0,5 (0,58)	0,5 (0,39)	0,482
LEUCOCITOS (x 10 <sup>9</sup> /L)	8160 (10.227,5)	6410 (3.722,5)	0,042
LINFOCITOS (x 10 <sup>9</sup> /L)	715 (736,5)	995 (560)	0,185
NEUTRÓFILOS (x 10 <sup>9</sup> /L)	7125 (9590)	4725 (3.272,5)	0,016
PLAQUETAS (x 10 <sup>9</sup> /L)	195.000 (95.250)	208.000 (117.000)	0,512
PCT (ng/ mL)	0,3 (0,57)	0,09 (0,2)	0,000
PCR (mg/L)	160 (190)	76 (95,5)	0,003
FERRITINA (µg/L)	1.024,5 (1.137,25)	671 (1.107)	0,126
DÍMERO-D (mg/L)	2029 (23.629,25)	711 (769,5)	0,015
LDH (mmol/L)	385 (183,25)	306 (96,25)	0,002
MEDIDORES HOSPITALARIOS [mediana (RIC)]			
TIEMPO DE ESTANCIA HOSPITALARIA (días)	15 (11,75)	11 (13,5)	0,153
TIEMPO DE ESTANCIA EN UCI (días)	17.5 (8,75)	20 (19,5)	0,253

Las variables continuas están representadas como [mediana (rango intercuartílico-RIC)]; las variables categóricas están representadas como [n (%)]. DM- diabetes mellitus; EPOC- Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica; ERC- Enfermedad Renal Crónica; BT- Bilirrubina total; PCT- procalcitonina; PCR: proteína C reactiva; LDH: lactato deshidrogenasa.

## 5.2. Comparación del perfil de citocinas

De las 37 citocinas que alcanzaron el 20% del nivel de detección mínimo requerido, hubo solo cinco citocinas que mostraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla S1). De ellas, IL-2 e IL-15 fueron las únicas citocinas cuyos niveles plasmáticos fueron inferiores en el grupo de fallecidos, en un orden de aproximadamente la mitad respecto al grupo de supervivientes. Por el contrario, HGF, IL-1 $\alpha$  y VEGF-A se mostraron sobreexpresadas en el grupo de fallecidos (Figura 1). Los niveles fueron aproximadamente el doble en el caso de las citocinas HGF y VEGF-A, y tan solo un 24% superiores en el caso de la citocina IL-1 $\alpha$ .



**Figura 1:** Diagrama de cajas que muestra los niveles plasmáticos (medidos en pg/ml) de las citocinas estadísticamente significativas, de acuerdo con la mortalidad a los 28 días. Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), Interleucina-1α (IL-1α), Interleucina-15 (IL-15), Interleucina-2 (IL-2) y Factor de crecimiento de endotelio vascular-A (VEGF-A). Los puntos representados en el diagrama de cajas indican los valores atípicos.

5.3. Factores de riesgo asociados a mal pronóstico (mortalidad) en pacientes hospitalizados con COVID-19.

Se llevó a cabo un análisis univariante para cada variable clínica, analítica y citocina (Tablas S2 y S3). De las variables clínicas significativas, una de ellas mostró resultados estadísticamente significativos: el tabaquismo se mostró directamente relacionado con el riesgo de mortalidad por COVID-19 (OR=4,895). Además, la glucemia, creatinina, PCR, dímero-D y LDH resultaron ser las variables analíticas que se asociaron significativamente con un fatal pronóstico. En lo relativo al perfil de citocinas, seis

citocinas se asociaron con la variable de estudio, de las cuales cuatro habían resultado significativas en la comparación anterior. HGF fue la citocina que mostró el mayor riesgo en el análisis univariante (OR=1,550), seguida de VEGF-A (OR=1,313). IL-15 e IL-2 fueron las únicas citocinas con un OR inferior a 1, es decir, cuyos niveles plasmáticos en el grupo de fallecidos a los 28 días fueron inferiores que en los pacientes que sobrevivieron.

Para proveer de resultados aplicables a los servicios de emergencias, las variables continuas significativas fueron dicotomizadas (Tabla 2). Se llevó a cabo un modelo multivariante con las variables dicotomizadas, siguiendo un método automático por pasos hacia adelante, representado en la Tabla 3. Los valores anormales de creatinina (OR= 6,92) y dímero-D (OR=11,28) fueron las variables analíticas que, por encima del valor del punto de corte al inicio de la infección, mostraron un mayor riesgo de mortalidad a los 28 días. La única citocina que resultó estadísticamente significativa fue VEGF-A (OR=3,49).

**Tabla 2:** Estimación del punto de corte de las variables analíticas significativas mediante la curva COR.

	PUNTO DE CORTE	VALOR DE REFERENCIA	SENSIBILIDAD (%)	ESPECIFICIDAD (%)	AUC	IC 95%	
						INFERIOR	SUPERIOR
GLUCEMIA	112,5 mg/dL	70-110	90	55,6	0,778	0,662	0,895
CREATININA	1,19 mg/dL	0,7-1,1	45	88,6	0,695	0,565	0,825
PCR	152,5 mg/L	<10	57,9	83	0,721	0,590	0,851
FERRITINA	934 µg/L	<307	71,4	60,8	0,629	0,478	0,780
DIMERO D	1928 mg/L	<120	55	88,2	0,676	0,513	0,839
LDH	330 mmol/L	<225	80	69,3	0,724	0,592	0,856
HGF	7,55 pg/ml	-	70	61,4	0,667	,533	,801
IL-15	5,52 pg/ml	-	10	94,3	0,347	0,201	0,493
IL-17a	7,46 pg/ml	-	0	0	0,362	0,224	0,499
IL-2	5,64 pg/ml	-	10	95,5	0,350	0,210	0,490
VEGF-A	7,32 pg/ml	-	80	67	0,702	0,578	0,826
VEGF-D	5,97 pg/ml	-	10	98,9	0,406	0,240	0,572

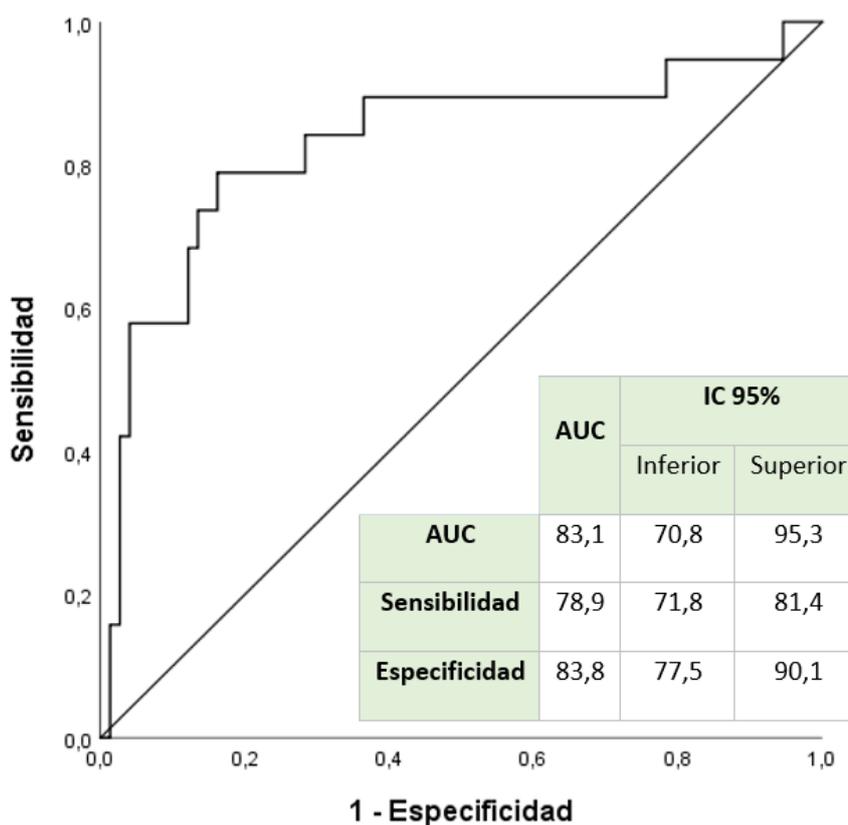
AUC-área bajo la curva Características Operativas del Receptor (COR); IC-Intervalo de confianza.

**Tabla 3:** Análisis multivariante mostrando la contribución de cada factor al riesgo de mortalidad a los 28 días de seguimiento.

MORTALIDAD 28 DÍAS		p-valor	OR	IC 95%	
				INFERIOR	SUPERIOR
	VEGF-A > 178,25 pg/ml	0,040	3,49	1,85	17,41
	Creatinina > 1,19 mg/dL	0,032	6,92	1,19	40,38
	Dímero D > 1928 mg/L	0.008	11,28	1.87	68,19

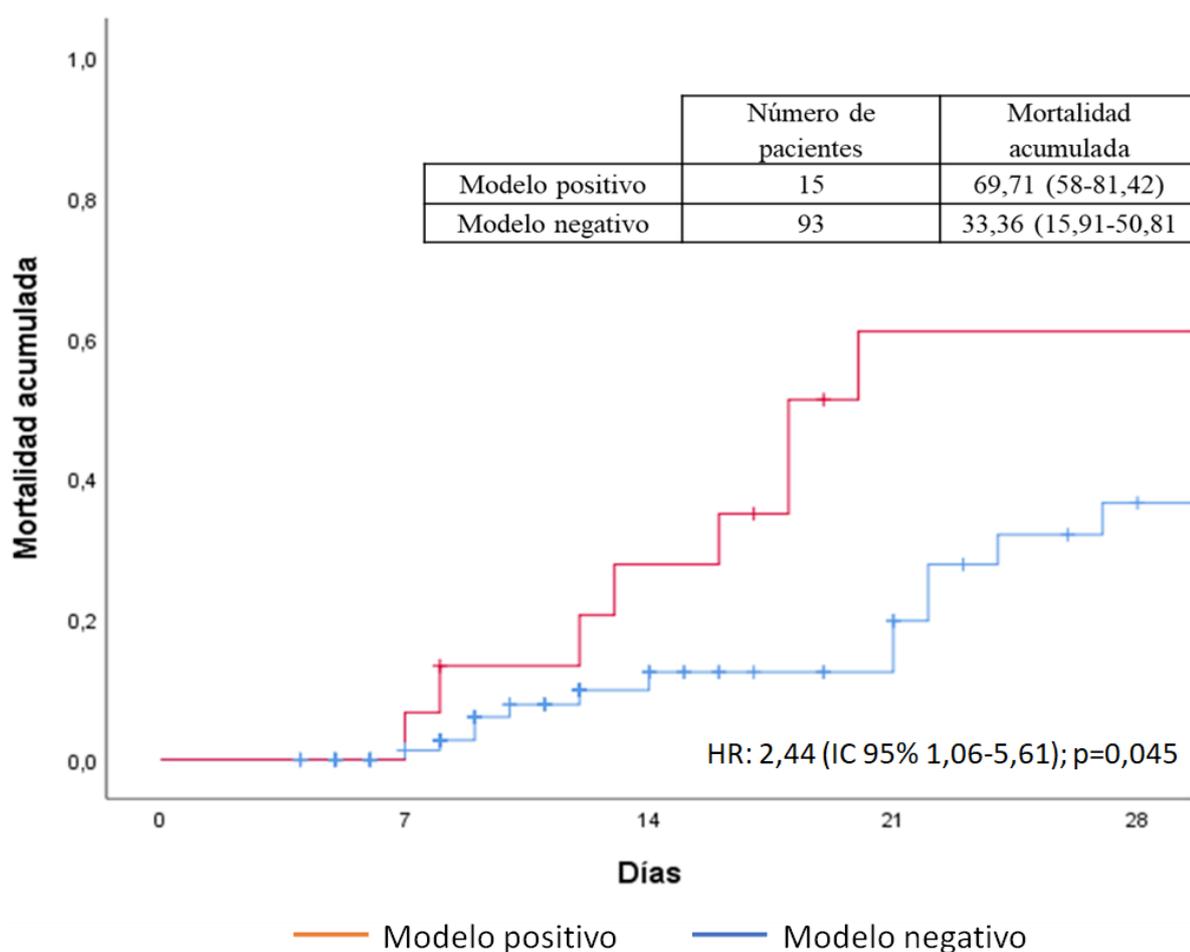
IC-Intervalo de confianza; OR-odds ratio.

Se llevó a cabo una validación interna empleando el área bajo la curva (AUC) para determinar la sensibilidad y especificidad del modelo multivariante (Figura 2). El modelo mostró una precisión del 83,1%, una sensibilidad del 78,9%, y una especificidad del 83,8%.



**Figura 2:** Validación interna del modelo utilizando el área bajo la curva (AUC) COR; IC-Intervalo de confianza.

La curva Kaplan-Meier muestra cómo la mortalidad acumulada a los 28 días en los pacientes que cumplen el modelo es aproximadamente un 40% superior respecto a aquellos pacientes que no cumplen alguno de los anteriores factores descritos en el modelo multivariante (Tabla 3). Previamente, se comprobó mediante la prueba LogRank que las curvas no presentaban solapamiento ( $p=0,028$ ) y dicha separación se describe a partir de los primeros 7 días de ingreso. Además, el modelo estratificado de riesgos proporcionales de Cox también mostró significación estadística. Por lo tanto, el modelo se asoció con 2,44 veces más probabilidad de muerte a los 28 días, manteniéndose constante dicha diferencia a partir de la segunda semana de ingreso.



**Figura 3:** Curva de Kaplan-Meier por mortalidad para el modelo multivariante durante los primeros 28 días de ingreso.

## **6. DISCUSIÓN**

En este estudio se ha llevado a cabo una caracterización exhaustiva de los perfiles clínicos, de laboratorio y de citocinas con el fin de identificar los factores de riesgos asociados a la mortalidad en pacientes ingresado por COVID-19. En este sentido, altos niveles de HGF y VEGF-A pueden predecir un fatal resultado clínico, al contrario que IL-2 e IL-15 cuyos niveles individuales constituyen un factor relacionado con la supervivencia. Tomando todos los datos en conjunto, el modelo multivariante resultante deja como única citocina a VEGF-A (OR = 3,49; 95%CI (1,85–17,41);  $p = 0.04$ ), junto a la creatinina (OR = 6,92; 95%CI (1,19–40,38);  $p = 0.032$ ) y dímero-D (OR = 11,28; 95%CI (1,87–68,19);  $p = 0.008$ ). Además, este modelo demuestra gran sensibilidad a la hora de identificar los casos fatales (AUC = 0,83; especificidad 83,8%; sensibilidad = 78,9%) a los 28 días del ingreso hospitalario. Por último, la curva de supervivencia muestra cómo el modelo permite identificar cerca del 40% de los pacientes con una alta probabilidad de muerte (log rank:  $p=0,028$ , riesgo relativo: 2,44, IC 95% (1,06–5,61),  $p = 0.045$ ), siendo clave la segunda semana de ingreso a partir del cual se produce una separación significativa en la trayectoria de las curvas.

La respuesta inflamatoria juega un papel crítico en la COVID-19, y la tormenta de citocinas incrementa la severidad de la enfermedad permitiendo incluso describir tres fenotipos clínicos diferentes<sup>[22]</sup>. De hecho, se ha sugerido que la cuantificación de los niveles plasmáticos de diversas citocinas sirve para mejorar la eficiencia del tratamiento y reducir la mortalidad<sup>[23–25]</sup>. A este respecto, el presente estudio reporta que altos niveles de HGF, VEGF-A y bajos niveles de IL-2 e IL-15 contribuyen al deterioro de la enfermedad y al desenlace fatal en los pacientes con COVID-19. Previos estudios han mostrado que niveles plasmáticos elevados de HGF presentan una estrecha relación con el reclutamiento e hiperactivación de neutrófilos en el momento en que la enfermedad se torna crítica, ya que actúa como proteína efectora contenida en los gránulos de los neutrófilos una vez que son reclutados al pulmón, favorecido por G-CSF<sup>[26,27]</sup>. Por otro lado, IL-2 e IL-15 comparten parte de su actividad biológica, siendo importantes en la activación y proliferación de linfocitos T CD8+ y NK, los cuales se encuentran frecuentemente disminuidos y por lo tanto asociados a una peor respuesta citotóxica frente al virus<sup>[28]</sup>. Además, se ha podido observar que la IL-15 es una de las citocinas que puede considerarse para valorar la eficiencia de la vacuna de ARNm Pfizer/ BioNtech BNT162b2 al encontrarse elevada en cada pauta de vacunación<sup>[29]</sup>.

El SDRA es un síndrome multifactorial causado por diferentes etiologías, los cuales pueden ser pulmonares o extrapulmonares<sup>[30]</sup>. La principal característica es el incremento de la permeabilidad vascular pulmonar; que, en consecuencia, hace del edema intersticial y alveolar una marca distintiva de su fisiopatología. Adicionalmente, la inflamación, el daño al epitelio pulmonar y a las células endoteliales, la disrupción de la matriz extracelular y la alteración de la hemostasia también han sido reconocidos<sup>[31]</sup>. El modelo multivariante descrito en este trabajo probablemente describa diferentes aspectos del síndrome. En primer lugar se ha descrito cómo VEGF-A se encuentra sobreexpresado en pacientes COVID-19, correlacionado positivamente con la severidad de la enfermedad siendo un biomarcador importante para predecir mortalidad a los 60 días<sup>[32,33]</sup>. Esto probablemente se deba a que las moléculas de la familia VEGF ocasionan disrupción en la barrera endotelial, produciendo un aumento de la permeabilidad endotelial acorde al desarrollo del SDRA asociado al COVID-19<sup>[6,32]</sup>. Por otro lado, VEGF-A también se asocia con el estado de hipercoagulabilidad<sup>[34]</sup> que ocurre a partir de la tercera semana de la infección en los casos severos<sup>[35]</sup> y que se demuestra a través de elevados niveles plasmáticos de dímero-D<sup>[27,36]</sup>. Este fenómeno de inmutrombosis, resultado de la situación de hipoxemia que induce la liberación de factores procoagulantes junto a la acción de moléculas inmunitarias, condiciona a la aparición de un cuadro de CID que contribuye decisivamente al fallo orgánico, ictus, así como complicaciones cardíacas y renales<sup>[35,36]</sup>. De hecho, se estima que más del 70% de las muertes por COVID-19 se asocian con una desregulación en los mecanismos que controlan la coagulación sanguínea<sup>[35]</sup>. Por último, estudios previos han observado que niveles elevados de creatinina suponen un aumento significativo de la mortalidad intrahospitalaria en pacientes COVID-19<sup>[37,38]</sup>, de manera similar a los resultados de este trabajo. Por lo tanto, es probable que la creatinina sugiera daño renal desarrollado en el transcurso de la enfermedad debido a las alteraciones de la coagulación anteriormente mencionadas.

Las principales limitaciones del estudio están relacionadas con el pequeño número de pacientes incluidos en el mismo, con una pequeña representación de patologías comunes entre pacientes de edad avanzada, el hecho de que es un estudio unicéntrico, y finalmente, el hecho de que algunas mediciones, como las concentraciones plasmáticas de VEGF-A, exceden las capacidades del promedio de hospitales que luchan actualmente contra la COVID-19. Sin embargo, la recopilación de los datos y la cuantificación de citocinas ha sido extensiva y rigurosa, lo que apoya la fiabilidad de este estudio.

## **7. CONCLUSIONES**

Para concluir, los resultados de este estudio muestran cómo la citocina VEGF-A puede ayudar a crear un modelo predictivo de gran sensibilidad y especificidad para la identificación de pacientes con alta probabilidad de fallecer por COVID-19. La determinación de una única citocina, junto a dos parámetros analíticos que se evalúan rutinariamente, podría dar la clave a la hora de mejorar el tratamiento en los servicios de urgencia, cuyos pacientes en la mayoría de los casos presentan niveles de creatinina y dímero-D superiores a los mencionados. También, informa acerca del papel de VEGF-A en la fisiopatología de la COVID-19, constituyendo este biomarcador una posible diana terapéutica en la enfermedad.

## **8. BIBLIOGRAFÍA**

1. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.* 2020;382:727–33. doi:10.1056/nejmoa2001017
2. Hua W, Xiaofeng L, Zhenqiang B, Jun R, Ban W, Liming L. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) in China. *Chinese J. Epidemiol.* 2020;41:145–51. doi:10.3760/CMA.J.ISSN.0254-6450.2020.02.003
3. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected Pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 2020;382:1199–207. doi:10.1056/NEJMOA2001316/SUPPL\_FILE/NEJMOA2001316\_DISCLOSURES.PDF
4. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat. Rev. Microbiol.* 2021;19:141–54. doi:10.1038/s41579-020-00459-7
5. Zhou P, Yang X Lou, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020;579:270–3. doi:10.1038/S41586-020-2012-7
6. Yang L, Xie X, Tu Z, Fu J, Xu D, Zhou Y. The signal pathways and treatment of cytokine storm in COVID-19. *Signal Transduct. Target. Ther.* 2021;6. doi:10.1038/S41392-021-00679-0
7. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 2020;395:507–13. doi:10.1016/S0140-6736(20)30211-7
8. Trougakos IP, Stamatiopoulos K, Terpos E, Tsitsilonis OE, Aivalioti E, Paraskevis D, et al. Insights to SARS-CoV-2 life cycle, pathophysiology, and rationalized treatments that target COVID-19 clinical complications. *J. Biomed. Sci.* 2021;28. doi:10.1186/S12929-020-00703-5
9. Ejaz H, Alsrhani A, Zafar A, Javed H, Junaid K, Abdalla AE, et al. COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients. *J. Infect. Public Health* 2020;13:1833–9. doi:10.1016/j.jiph.2020.07.014
10. Huang I, Pranata R, Lim MA, Oehadian A, Alisjahbana B. C-reactive protein, procalcitonin, D-dimer, and ferritin in severe coronavirus disease-2019: a meta-analysis. *Ther. Adv. Respir. Dis.* 2020;14. doi:10.1177/1753466620937175
11. Koozi H, Lengquist M, Frigyesi A. C-reactive protein as a prognostic factor in intensive care admissions for sepsis: A Swedish multicenter study. *J. Crit. Care* 2020;56:73–9. doi:10.1016/j.jcrc.2019.12.009
12. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020;395:1054–62. doi:10.1016/S0140-6736(20)30566-3
13. Zheng Z, Peng F, Xu B, Zhao J, Liu H, Peng J, et al. Risk factors of critical & mortal COVID-19 cases: A systematic literature review and meta-analysis. *J. Infect.* 2020;81:e16–25. doi:10.1016/J.JINF.2020.04.021
14. Zhao J, Yang Y, Huang H, Li D, Gu D, Lu X, et al. Relationship Between the ABO Blood Group and the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Susceptibility. *Clin. Infect. Dis.* 2020;doi:10.1093/cid/ciaa1150
15. Wu BB, Gu DZ, Yu JN, Yang J, Wang-Qin S. Association between ABO blood groups and COVID-19 infection, severity and demise: A systematic review and meta-analysis. *Infect. Genet. Evol.* 2020;84:104485. doi:10.1016/j.meegid.2020.104485
16. Golinelli D, Boetto E, Maietti E, Fantini MP. The association between ABO blood group and SARS-CoV-2 infection: A meta-analysis. *PLoS One* 2020;15:e0239508. doi:10.1371/journal.pone.0239508
17. Liu N, Zhang T, Ma L, Zhang H, Wang H, Wei W, et al. The impact of ABO blood group on COVID-19 infection risk and mortality: A systematic review and meta-analysis. *Blood Rev.* 2021;48:100785. doi:10.1016/j.blre.2020.100785
18. Mulchandani R, Lyngdoh T, Kakkar AK. Deciphering the COVID-19 cytokine storm: Systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Clin. Invest.* 2021;51. doi:10.1111/ECI.13429
19. Gao YM, Xu G, Wang B, Liu BC. Cytokine storm syndrome in coronavirus disease 2019: A narrative review. *J. Intern. Med.* 2021;289:147–61. doi:10.1111/JOIM.13144
20. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395:497–506. doi:10.1016/S0140-6736(20)30183-5
21. Wen W, Chen C, Tang J, Wang C, Zhou M, Cheng Y, et al. Efficacy and safety of three new oral antiviral treatment (molnupiravir,

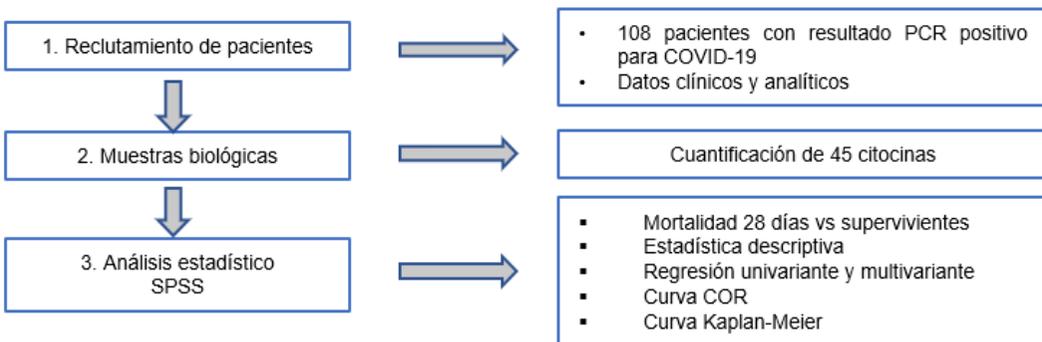
- flvoxamine and Paxlovid) for COVID-19 : a meta-analysis. *Ann. Med.* 2022;54:516–23. doi:10.1080/07853890.2022.2034936
22. Bindoli S, Felicetti M, Sfriso P, Doria A. The amount of cytokine-release defines different shades of Sars-Cov2 infection. *Exp. Biol. Med.* (Maywood). 2020;245:970–6. doi:10.1177/1535370220928964
  23. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, Beckmann ND, Nirenberg S, Wang B, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nat. Med.* 2020;26:1636–43. doi:10.1038/s41591-020-1051-9
  24. Tamayo-Velasco Á, Peñarrubia Ponce MJ, Álvarez FJ, Gonzalo-Benito H, de la Fuente I, Pérez-González S, et al. Can the Cytokine Profile According to ABO Blood Groups Be Related to Worse Outcome in COVID-19 Patients? Yes, They Can. *Front. Immunol.* 2021;12:1–10. doi:10.3389/fimmu.2021.726283
  25. Tamayo-Velasco Á, Martínez-Paz P, Peñarrubia-Ponce MJ, de la Fuente I, Pérez-González S, Fernández I, et al. HGF, IL-1 $\alpha$ , and IL-27 Are Robust Biomarkers in Early Severity Stratification of COVID-19 Patients. *J. Clin. Med.* 2021;10:2017. doi:10.3390/jcm10092017
  26. Meizlish ML, Pine AB, Bishai JD, Goshua G, Nadelmann ER, Simonov M, et al. A neutrophil activation signature predicts critical illness and mortality in COVID-19. *Blood Adv.* 2021;5:1164–77. doi:10.1182/bloodadvances.2020003568
  27. Quartuccio L, Fabris M, Sonaglia A, Peghin M, Domenis R, Cifù A, et al. Interleukin 6, soluble interleukin 2 receptor alpha (CD25), monocyte colony-stimulating factor, and hepatocyte growth factor linked with systemic hyperinflammation, innate immunity hyperactivation, and organ damage in COVID-19 pneumonia. *Cytokine* 2021;140. doi:10.1016/j.cyto.2021.155438
  28. Zhang Y, Wang X, Li X, Xi D, Mao R, Wu X, et al. Potential contribution of increased soluble IL-2R to lymphopenia in COVID-19 patients. *Cell. Mol. Immunol.* 2020;17:878–80. doi:10.1038/s41423-020-0484-x
  29. Bergamaschi C, Terpos E, Rosati M, Angel M, Bear J, Stellas D, et al. Systemic IL-15, IFN- $\gamma$ , and IP-10/CXCL10 signature associated with effective immune response to SARS-CoV-2 in BNT162b2 mRNA vaccine recipients. *Cell Rep.* 2021;36:109504. doi:10.1016/j.celrep.2021.109504
  30. Matthay MA, Ware LB, Zimmerman GA. The acute respiratory distress syndrome. *J. Clin. Invest.* 2012;122:2731–40. doi:10.1172/JCI60331
  31. Matthay MA, Zemans RL, Zimmerman GA, Arabi YM, Beitler JR, Mercat A, et al. Acute respiratory distress syndrome. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 2019;5. doi:10.1038/S41572-019-0069-0
  32. Smadja DM, Mentzer SJ, Fontenay M, Laffan MA, Ackermann M, Helms J, et al. COVID-19 is a systemic vascular hemopathy: insight for mechanistic and clinical aspects. *Angiogenesis* 2021;24:755–88. doi:10.1007/S10456-021-09805-6
  33. Rovas A, Osiaevi I, Buscher K, Sackarnd J, Tepasse PR, Fobker M, et al. Microvascular dysfunction in COVID-19: the MYSTIC study. *Angiogenesis* 2021;24:145–57. doi:10.1007/S10456-020-09753-7
  34. Burgos-Blasco B, Güemes-Villahoz N, Santiago JL, Fernandez-Vigo JI, Espino-Paisán L, Sarriá B, et al. Hypercytokinemia in COVID-19: Tear cytokine profile in hospitalized COVID-19 patients. *Exp. Eye Res.* 2020;200:108253. doi:10.1016/j.exer.2020.108253
  35. Pujhari S, Paul S, Ahluwalia J, Rasgon JL. Clotting disorder in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Rev. Med. Virol.* 2021;31:e2177. doi:10.1002/rmv.2177
  36. Al-Samkari H, Karp Leaf RS, Dzik WH, Carlson JCT, Fogerty AE, Waheed A, et al. COVID-19 and coagulation: bleeding and thrombotic manifestations of SARS-CoV-2 infection. *Blood* 2020;136:489–500. doi:10.1182/BLOOD.2020006520
  37. Benedetti C, Waldman M, Zaza G, Riella L V., Cravedi P. COVID-19 and the Kidneys: An Update. *Front. Med.* 2020;7. doi:10.3389/FMED.2020.00423
  38. Malik P, Patel U, Mehta D, Patel N, Kelkar R, Akrmah M, et al. Biomarkers and outcomes of COVID-19 hospitalisations: systematic review and meta-analysis. *BMJ Evidence-Based Med.* 2021;26:107–8. doi:10.1136/bmjebm-2020-111536

**INTRODUCCIÓN**

La enfermedad por COVID-19 presenta un amplio abanico de manifestaciones clínicas, que, en presencia de determinados factores de riesgo asociados al paciente, puede derivar en formas severas e incluso críticas de la enfermedad que implican un síndrome de distrés respiratorio agudo, el fracaso multiorgánico o la muerte. En este sentido, resulta clave el papel que ejercen la respuesta inflamatoria y el síndrome de tormenta de citocinas en la progresión y severidad de la enfermedad.

Este estudio lleva a cabo una caracterización extensiva de los parámetros clínicos, analíticos y perfiles de citocinas con el fin de describir un modelo predictivo de mortalidad a los 28 días del ingreso en pacientes COVID-19, para así poder facilitar la identificación por parte de los servicios de urgencia de los pacientes con un posible pronóstico adverso.

**MATERIALES Y MÉTODOS**



**CONCLUSIONES**

El análisis del perfil de citocinas en pacientes hospitalizados por COVID-19 puede ayudar a predecir su mortalidad durante los primeros 28 días de ingreso. En el presente estudio se ha establecido un modelo predictivo simple, rápido y robusto basado en dos parámetros de laboratorio comunes (creatinina y dímero-D) y una citocina específica (VEGF-A) que, en conjunto, hace referencia a la disfunción endotelial, alteración de la hemostasia y respuesta inflamatoria durante el síndrome de distrés respiratorio agudo asociado a la COVID-19. Por último, la asociación del biomarcador VEGF-A con la mortalidad por COVID-19, abre la posibilidad al empleo de una nueva diana terapéutica que reduzca la mortalidad en esta enfermedad.

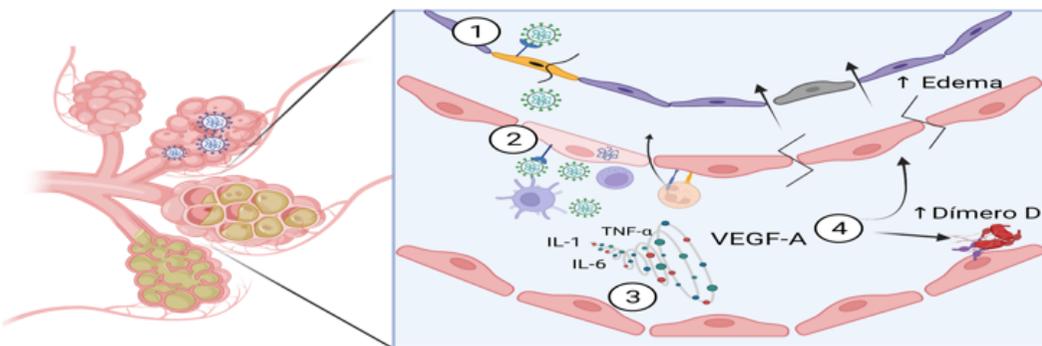


Figura 3: Modelo de inmunotrombosis promotor de la patogenia en la COVID-19 severa. Diseñado con www.biorender.com.

**RESULTADOS**

Los resultados descriptivos y de regresión logística univariante, ajustado por edad y sexo, tuvieron como variables comunes asociadas a la mortalidad a los 28 días:

- Variables analíticas: Glucemia, creatina, PCR, dímero D y LDH.
- Perfil de citocinas: HGF (OR=1,550), VEGF-A (OR=1,313), IL-2 (OR=0,539) e IL-15 (0,592).

MORTALIDAD	p-valor	OR	IC 95%		PRECISIÓN	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	
			INFERIOR	SUPERIOR				
28 DÍAS	VEGF-A > 178,25 pg/ml	0,040	3,49	1,85	83,1%	78,9%	83,8%	
	Creatinina > 1,19 mg/dL	0,032	6,92	1,19				40,38
	Dímero D > 1928 mg/L	0,008	11,28	1,87				68,19

Tabla 1: Análisis multivariante mostrando la contribución de cada factor al riesgo de mortalidad a los 28 días de seguimiento y porcentajes de precisión, sensibilidad y especificidad del modelo multivariante resultante.

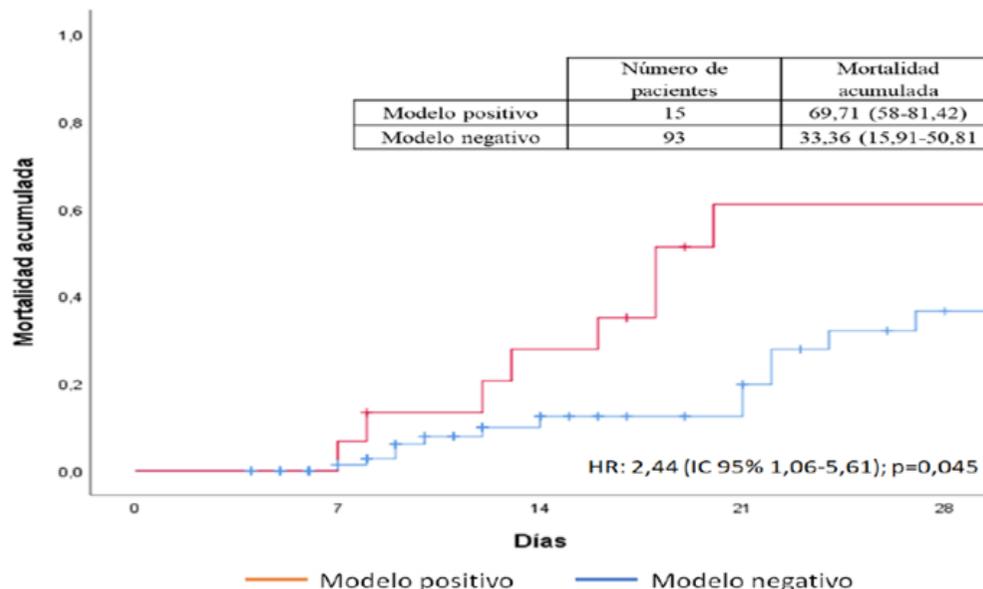


Figura 2: Curva de Kaplan-Meier por mortalidad para el modelo multivariante durante los primeros 28 días de ingreso.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Yang L, Xie X, Tu Z, Fu J, Xu D, Zhou Y. The signal pathways and treatment of cytokine storm in COVID-19. Signal Transduct. Target. Ther. 2021;6.
- Mulchandani R, Lyngdoh T, Kakkar AK. Deciphering the COVID-19 cytokine storm: Systematic review and meta-analysis. Eur. J. Clin. Invest. 2021;51.
- Malik P, Patel U, Mehta D, Patel N, Kelkar R, Akrmah M, et al. Biomarkers and outcomes of COVID-19 hospitalisations: systematic review and meta-analysis. BMJ Evidence-Based Med. 2021;26:107-8.

**ANEXOS: MATERIAL SUPLEMENTARIO**

## GLOSARIO DE TÉRMINOS

- BDNF: brain-derived neurotrophic factor
- BT: bilirrubina total
- CID: coagulación intravascular diseminada
- COVID-19: Novel Coronavirus Infectious Disease – 2019
- DM: diabetes mellitus
- ECA2: enzima convertidora de angiotensina 2
- EGF: Epidermal growth factor
- EOTAXINA: proteína quimioatrayente de los eosinófilos
- EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica
- ERC: enfermedad renal crónica
- FGF-2: Fibroblast growth factor-2
- GMCSF: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
- GRO-a: Growth-Related Oncogene type a
- HGF: Hepatocyte Growth Factor
- HTA: hipertensión arterial
- IFN-a/γ: Interferón-a/γ
- IL-: Interleucina-
- IL-1RA: Interleukin-1 receptor antagonist
- IP-1b/10: interferon gamma inducible protein-1b/10
- LDH: lactato deshidrogenasa
- LIF: Leukemia inhibitory factor
- Linfocitos NK: linfocitos natural killer
- MCP-1: Monocyte Chemoattractant Protein-1
- MIP-1a: Macrophage Inflammatory Protein-1a
- NGF-b: nerve growth factor-b
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- PCR: proteína-C reactiva/polimerase chain reaction
- PCT: procalcitonina
- PDGF-BB: Platelet-derived growth factor-BB
- PIGF-1: Placental Growing Factor-1
- RANTES: Regulated upon Activation, Normal T Cell Expressed and Presumably Secreted
- RNA: ácido ribonucleico
- SARS-CoV-2: severe acute respiratory syndrome coronavirus – 2
- SCF: Stem cell factor
- SDF-1a: Stromal Cell-Derived Factor-1a
- SDRA: síndrome de distrés respiratorio agudo
- sFlt-1: forma soluble de la tirosina quinasa-1
- TNF-a/b: Tumor Necrosis Factor-a/b
- VEGF-A/B: Vascular Endothelial Growth Factor-A/B

**Tabla S1:** Comparación de los perfiles de citocinas entre pacientes supervivientes y fallecidos a los 28 días de seguimiento.

	<b>EXITUS 28 DÍAS (n=20)</b>	<b>SUPERVIVIENTES (n=88)</b>	<b>p-valor</b>
BDNF	56,33 (77,63)	63 (179,78)	0,462
EGF	2,16 (10,52)	2,25 (7,55)	0,918
EOTAXINA	13,65 (9,98)	14,28 (9,97)	0,629
FGF-2	0,69 (1,86)	1,031 (2,63)	0,522
GM-CSF	9,53 (7,56)	12,86 (31,34)	0,110
GRO- $\alpha$	2,48 (4,19)	3,25 (4,24)	0,393
HGF	214 (323,5)	144,97 (140,15)	<b>0,035</b>
IFN- $\alpha$	0,43 (1,83)	0,51 (1,65)	0,931
IFN- $\gamma$	7,63 (11,83)	8,99 (6,67)	0,893
IL-1 $\alpha$	7,52 (11,12)	1,83 (7,44)	<b>0,040</b>
IL-1 $\beta$	5,70 (5,85)	7,01 (10,62)	0,103
IL-10	1,4 (2,54)	1,79 (2,56)	0,253
IL-12p70	3,10 (2,43)	3,71 (3,21)	0,443
IL-13	1,59 (1,55)	2,33 (3,1)	0,296
IL-15	7,12 (17,09)	13,83 (19,10)	<b>0,033</b>
IL-17 $\alpha$	3,87 (10,08)	7,36 (15,68)	0,054
IL-18	58,98 (57,68)	45,58 (50,74)	0,319
IL-1RA	627,42 (1358,75)	604,75 (992,85)	0,906
IL-2	8,02 (10,85)	15,3 (21)	<b>0,037</b>
IL-21	1,69 (6,18)	4,18 (13,04)	0,091
IL-22	4,66 (46,68)	3,64 (20,56)	0,788
IL-23	6,20 (6,64)	7,89 (9,84)	0,279
IL-27	11,78 (20,91)	20,62 (38,20)	0,380
IL-31	4,25 (6,3)	5,51 (8,45)	0,347
IL-4	5,07 (4,84)	5,84 (7,43)	0,504
IL-5	3,55 (6,10)	7,39 (20,88)	0,179
IL-6	11,64 (30,23)	13,07 (21,79)	0,382
IL-7	1,13 (2,64)	1,81 (3,03)	0,522
IL-8	1,45 (4,66)	2,14 (3,57)	0,566
IL-9	1,59 (2,23)	2,29 (3,97)	0,187
IP-1 $\beta$	43,68 (34,18)	49,78 (46,85)	0,506
IP-10	48,78 (53,21)	45,4 (42,51)	0,710
LIF	11,26 (12,89)	16,15 (16,84)	0,329
MCP-1	36,15 (68,25)	36,05 (29,65)	0,214
MIP-1 $\alpha$	3,35 (11,01)	3,39 (11,96)	0,443
NGF- $\beta$	3,61 (2,72)	4,366 (3,47)	0,275
PDGFBB	219,75 (426,56)	274 (541,47)	0,711
PIGF-1	13,68 (91,06)	3,15 (6,51)	0,077
RANTES	23,43 (21,09)	22,15 (17,66)	0,731
SCF	9,06 (9,55)	6,46 (6,8)	0,319
SDF-1 $\alpha$	649,25 (927,63)	669,5 (603)	0,943
TNF- $\alpha$	6,14 (7,58)	6,13 (11,42)	0,424
TNF- $\beta$	2,48 (2,93)	3,41 (4,92)	0,176
VEGF-A	240 (195,17)	101,85 (107,6)	<b>0,000</b>
VEGF-D	6,72 (18,1)	12,75 (12,86)	0,192

Las variables continuas están representadas como [mediana (rango intercuartílico-RIC)]. BDNF- factor neurotrófico derivado del cerebro; EGF- factor de crecimiento epidérmico; FGF- factor de crecimiento de fibroblastos; GMCSF- factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos. GRO- $\alpha$ - growth-regulated oncogen o ligando de la quimiocina 1; HGF- factor de crecimiento de hepatocitos; IP- proteína inducida por el interferón gamma; LIF- factor inhibidor de la leucemia; MCP- proteína quimioatrayente de monocitos; MIP- proteína inflamatoria de macrófagos; NGF- factor de crecimiento nervioso; PDGFBB- factor de crecimiento derivado de plaquetas; PIGF- factor de crecimiento placentario; RANTES- Regulated upon Activation, Normal T Cell Expressed and Presumably Secreted; SCF- factor de células madre; SDF- factor derivado de las células estromales; VEGF- factor de crecimiento endotelial vascular.

**Tabla S2.** Modelo de regresión logística univariante para cada una de las características clínicas y analíticas, corregido por edad y sexo.

CARACTERÍSTICAS CLINICAS	p-valor	OR	IC 95%	
			INFERIOR	SUPERIOR
<b>GRUPO SANGUÍNEO</b>				
GRUPO SANGUÍNEO 0	0,099	0,324	0,085	1,238
<b>COMORBILIDADES</b>				
FUMADOR	0,043	4,985	1,051	23,657
CARDIOPATÍA CORONARIA	0,705	0,720	0,132	3,933
CARDIOPATÍA FIBRILACIÓN AURICULAR	0,922	1,080	0,233	5,012
DM	0,241	2,070	0,614	6,976
ENFERMEDAD NEUROLÓGICA	0,820	1,312	0,126	13,643
ICTUS	1,000	0,000	0,000	
HIPERTENSIÓN	0,921	1,055	0,371	2,998
HEPATOPATÍA	0,348	3,970	0,223	70,564
OBESIDAD	0,629	1,521	0,277	8,353
EPOC	0,528	1,750	0,308	9,936
ERC	0,113	7,720	0,618	96,470
<b>LABORATORIO</b>				
GLUCEMIA (mg/dl)	0,000	1,012	1,006	1,019
CREATININA (mg/dL)	0,010	2,383	1,230	4,618
BT (mg/dL)	0,206	1,497	0,801	2,799
LEUCOCITOS (x 10 <sup>9</sup> /L)	0,922	1,000	1,000	1,000
LINFOCITOS (x 10 <sup>9</sup> /L)	0,785	1,000	1,000	1,000
NEUTRÓFILOS (x 10 <sup>9</sup> /L)	0,484	1,000	1,000	1,000
PLAQUETAS (x 10 <sup>9</sup> /L)	0,227	1,000	1,000	1,000
PCT (ng/mL)	0,115	1,374	0,926	2,039
PCR (mg/L)	0,001	1,011	1,005	1,017
FERRITINA (µg/L)	0,039	1,001	1,000	1,001
DIMERO-D (mg/L)	0,029	1,000	1,000	1,000
LDH (mmol/L)	0,001	1,007	1,003	1,012

OR-Odds ratio; IC- Intervalo de Confianza.

**Tabla S3.** Modelo de regresión logística univariante para cada una de las citocinas, ajustado por edad y sexo.

CITOCINA	p-valor	OR	IC 95%	
			INFERIOR	SUPERIOR
BDNF	0,235	0,852	0,653	1,110
EGF	0,657	0,955	0,780	1,170
EOTAXINA	0,737	0,890	0,451	1,755
FGF-2	0,614	0,944	0,753	1,182
GMCSF	0,081	0,767	0,570	1,033
GRO- $\alpha$	0,330	0,841	0,594	1,192
HGF	0,015	1,550	1,088	2,209
IFN- $\alpha$	0,775	1,027	0,854	1,237
IFN- $\gamma$	0,862	1,044	0,641	1,700
IL-1 $\alpha$	0,073	1,143	0,988	1,323
IL-1 $\beta$	0,064	0,687	0,462	1,022
IL-10	0,486	0,843	0,521	1,363
IL-12p70	0,656	0,869	0,467	1,615
IL-13	0,359	0,874	0,655	1,165
IL-15	0,014	0,592	0,391	0,897
IL-17 $\alpha$	0,045	0,715	0,515	0,992
IL-18	0,741	1,067	0,725	1,571
IL-1RA	0,944	0,991	0,780	1,260
IL-2	0,016	0,539	0,326	0,893
IL-21	0,151	0,882	0,743	1,047
IL-22	0,791	1,016	0,905	1,139
IL-23	0,358	0,826	0,550	1,241
IL-27	0,428	0,924	0,761	1,123
IL-31	0,383	0,855	0,600	1,216
IL-4	0,538	0,889	0,611	1,293
IL-5	0,255	0,899	0,749	1,080
IL-6	0,278	0,838	0,609	1,153
IL-7	0,417	0,868	0,618	1,221
IL-8	0,374	0,902	0,719	1,132
IL-9	0,376	0,845	0,583	1,226
IP-1 $\beta$	0,295	0,777	0,485	1,246
IP-10	0,791	0,945	0,622	1,437
LIF	0,402	0,839	0,557	1,265
MCP-1	0,094	1,513	0,931	2,458
MIP-1 $\alpha$	0,293	0,878	0,689	1,119
NGF- $\beta$	0,847	0,940	0,501	1,762
PDGFBB	0,756	0,964	0,765	1,214
PIGF-1	0,840	1,012	0,902	1,135
RANTES	0,711	0,906	0,537	1,528
SCF	0,649	1,109	0,711	1,729
SDF-1 $\alpha$	0,816	0,970	0,751	1,254
TNF- $\alpha$	0,210	0,796	0,558	1,137
TNF- $\beta$	0,374	0,821	0,532	1,268
VEGF-A	0,048	1,313	1,002	1,722
VEGF-D	0,040	0,598	0,366	0,977

OR-Odds Ratio; IC-Intervalo de Confianza