



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo  
Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas  
"Dr. Ignacio Chávez"  
División de Posgrado  
Maestría en Ciencias de la Salud



TESIS:

**“EL FACTOR VON WILLEBRAND COMO BIOMARCADOR DE RIESGO  
TROMBÓTICO POR DAÑO ENDOTELIAL EN INFECCIÓN POR SARS-COV-2 O  
CÁNCER DE PULMÓN”**

Para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS DE LA SALUD**

Presenta:

**Q.F.B KENIA IRAÍ BLANCAS AYALA**

Director de tesis:

**D.C. MARTHA EVA VIVEROS SANDOVAL**

Morelia, Michoacán; Mayo 2021.



El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Hemostasia y Biología Vascular de la División de estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo en colaboración con el Centro Estatal de Atención Oncológica del Estado de Michoacán y el Hospital General “Dr. Miguel Silva” de la Secretaría de Salud (SSA) de la ciudad de Morelia, Michoacán y bajo la dirección de la D.C Martha Eva Viveros Sandoval.

Se contó con el apoyo de CONACYT mediante la beca nacional para realización del proyecto.



“El primer sorbo de la copa de la ciencia te vuelve ateo, pero en el fondo del vaso Dios te está esperando.”

Werner Heisenberg



## AGRADECIMIENTOS

A mi asesora, **Martha Eva Viveros Sandoval** que me ha impulsado a realizar mis metas y sueños, las palabras que pueda plasmar jamás podrán expresar toda la gratitud y admiración que tengo para usted, en los momentos de duda fue la persona que inspiró mi lucha.

A mi comité tutorial, **Sergio Gutiérrez Castellanos** por la oportunidad de aprender a su lado, **Daniel Godínez Hernández** por su apoyo y disposición, **Virginia Robinson fuentes** por sus valiosas aportaciones además de su paciencia y **Víctor Hugo Mercado Gómez** por la oportunidad de colaboración para la realización de este proyecto. Cada uno me ha brindado la oportunidad de mejorar y estoy profundamente agradecida por su participación en mi formación académica.

A **mis compañeros del Laboratorio de Hemostasia y Biología Vascular**, me hicieron sentir parte de un segundo hogar y me enseñaron el valor del trabajo en equipo, no tengo más que gratitud para todos y cada uno.

A **mi familia**, porque son la motivación que me mueve a continuar en este camino. **Madre** eres mi pilar, fuerza y ejemplo a seguir; no estaría donde estoy sino fuera por tu instrucción, mi mayor orgullo es ser tu hija. **Miguel** me impulsas a perder mis miedos y me haces sentir protegida, que sepas que esto ha marcado la diferencia. **Selenne** porque siempre tuviste el consejo adecuado.

A **mis amigas y compañeros de generación:**

**Diana Villalpando y Ariadna Mondragón** las charlas existenciales fueron cambiando con el tiempo, pero la amistad permaneció. Lo diré siempre, la mejor parte de este viaje fue encontrarlas, estuvieron ahí en los días que tenía todo para decir y se quedaron en silencio conmigo cuando no. Sin importar los caminos por los que la vida nos lleve estarán en mi corazón. **Itzel** no pude encontrar mejor compañera de experimentos, aunque fueron más los días fallidos nunca faltaron las risas. **Yeslie** de alguna forma siempre estabas presente.

A **las personas que formaron parte del camino**, no tengo la forma de decir lo mucho que agradezco haberlas encontrado. Siempre había alguien con las palabras adecuadas o un gesto de apoyo por lo que jamás me sentí sola a lo largo de este proyecto; no haría justicia a todos los que me han apoyado sin embargo no quiero dejarlo pasar, gracias.



## ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| 1. RESUMEN.....  | 9  |
| 2. ABTRACT .....   | 10 |
| 3. MARCO TEÓRICO .....   | 11 |
| A. El Factor de von Willebrand como biomarcador de disfunción endotelial.... | 11 |
| B. Cáncer Pulmonar.....  | 14 |
| C. Epidemiología en Cáncer Pulmonar .....                                    | 14 |
| D. Clasificación de Cáncer Pulmonar.....                                     | 15 |
| E. Diagnóstico de Pacientes con Cáncer.....                                  | 17 |
| F. Tratamiento de Pacientes con Cáncer Pulmonar. ....                        | 17 |
| G. Enfermedad Tromboembólica Venosa y su relación con el Cáncer .....        | 18 |
| H. Hemostasia asociada al Cáncer.....  | 19 |
| I. Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS- CoV-2).....                     | 22 |
| J. Epidemiología de COVID-19. ....   | 23 |
| K. COVID-19 y su relación con la disfunción endotelial .....                 | 23 |
| 4. JUSTIFICACIÓN.....  | 27 |
| 5. HIPÓTESIS.....  | 28 |
| 6. OBJETIVOS.....  | 28 |
| 7. METODOLOGÍA .....   | 29 |
| 8. RESULTADOS .....  | 40 |
| 9. DISCUSIÓN.....  | 56 |
| 10. RESUMEN DE RESULTADOS POR OBJETIVOS .....                                | 60 |
| 11. CONCLUSIONES.....  | 62 |
| 12. REFERENCIAS.....   | 63 |



## ABREVIATURAS

|                                |   |
|--------------------------------|---|
| <b>ACE-2</b>                   | Receptor de la enzima convertidora de angiotensina-2                            |
| <b>ADAMTS-13</b>               | A disintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type 1               |
| <b>ADN</b>                     | Ácido desoxirribonucleico   |
| <b>CEAO</b>                    | Centro Estatal de Atención Oncológica del Estado de Michoacán                   |
| <b>COVID-19</b>                | Enfermedad causada por el nuevo coronavirus conocido como SARS-CoV-2.           |
| <b>CPCNP</b>                   | Cáncer pulmonar de células no pequeñas  |
| <b>CPCP</b>                    | Cáncer pulmonar de células pequeñas   |
| <b>ELISA</b>                   | Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) |
| <b>ETV</b>                     | Enfermedad tromboembólica venosa  |
| <b>FT</b>                      | Factor tisular  |
| <b>FvW</b>                     | Factor von Willebrand   |
| <b>G-CSF</b>                   | Factor estimulante de colonias granulocíticas                                   |
| <b>IL</b>                      | Interleucina.   |
| <b>INF</b>                     | Interferón  |
| <b>KDa</b>                     | Kilodalton  |
| <b>MAPM</b>                    | Multímeros de alto peso molecular   |
| <b>MBPM</b>                    | Multímeros de bajo peso molecular   |
| <b>NETs</b>                    | Trampas extracelulares derivadas de neutrófilos.                                |
| <b>NF-<math>\kappa</math>B</b> | Factor de transcripción Kappa-Beta  |
| <b>PAI</b>                     | Inhibidor del activador de plasminógeno   |
| <b>SARS-CoV-2</b>              | Síndrome respiratorio agudo severo  |
| <b>SDRA</b>                    | Síndrome de dificultad respiratoria aguda                                       |
| <b>TEP</b>                     | Tromboembolismo pulmonar  |
| <b>TFPI</b>                    | Inhibidor de la ruta del factor tisular   |
| <b>TNF-<math>\alpha</math></b> | Factor de necrosis tumoral alfa   |
| <b>TNF-<math>\alpha</math></b> | Factor de Necrosis Tumoral TNF- $\alpha$  |
| <b>t-PA</b>                    | Activador de plasminógeno tisular   |
| <b>TVP</b>                     | Trombosis venosa profunda   |
| <b>VEGF</b>                    | Factor de crecimiento del Endotelio Vascular VEGF                               |
| <b>VPM</b>                     | Volumen plaquetario medio   |



## ÍNDICE DE TABLAS

|  |           |
|--|-----------|
| Tabla 1: Factores de Riesgo asociados a Trombosis.   | <b>13</b> |
| Tabla 2: Clasificación TNM para cáncer de pulmón.  | <b>16</b> |
| Tabla 3: Criterios de Wells para el diagnóstico de la TVP.   | <b>18</b> |
| Tabla 4: Factores de riesgo de ETV en pacientes oncológicos.                                       | <b>19</b> |
| Tabla 5: Comorbilidades asociadas por grupo de estudio.  | <b>41</b> |
| Tabla 6: Características bioquímicas por grupo de estudio.   | <b>43</b> |
| Tabla 7: Concentraciones plasmáticas FvW UI/dL entre grupos de estudio.                            | <b>46</b> |
| Tabla 8: Análisis densitométrico de la estructura multimérica de FvW en unidades arbitrarias (UA). | <b>48</b> |
| Tabla 9: Concentraciones plasmáticas ADAMTS-13 entre los grupos de estudio expresados en ng/mL.    | <b>52</b> |
| Tabla 10: Análisis del índice FvW / ADAMTS-13 entre grupos de estudio.                             | <b>53</b> |
| Tabla 11: Correlaciones entre FvW, densidad multimérica, Neutrófilos % y VPM.                      | <b>54</b> |



## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1: Estructura molecular del dominio proteico del FvW maduro.   | 12 |
| Figura 2: Clasificación por estadios de acuerdo con American Thoracic Society, donde se muestra la evolución del tumor, en tamaño, localización e invasión. | 16 |
| Figura 3: Estructura coronavirus.   | 22 |
| Figura 4: Mecanismos de activación endotelial en COVID-19.  | 24 |
| Figura 5: Endotelitis en COVID-19   | 25 |
| Figura 6: Media densitométrica obtenida por medio de ImageJ.  | 36 |
| Figura 7: Detección de bandas y creación de densitogramas por medio de Image Lab.   | 38 |
| Figura 8: Gráfico de distribución de acuerdo con el grupo.  | 40 |
| Figura 9: Gráfico de sectores que muestra la distribución de la población total de acuerdo con el género.   | 41 |
| Figura 10: Descripción gráfica de las comorbilidades asociadas de todos los pacientes incluidos en el estudio.  | 42 |
| Figura 11: Gráfico comparativo entre la población de estudio de acuerdo con el tabaquismo.  | 42 |
| Figura 12: Diferencias en la cuenta de leucocitos entre grupos de estudio.  | 44 |
| Figura 13: Conteo de neutrófilos entre grupos de estudio.   | 44 |
| Figura 14: Gráfico comparativo del VPM entre los grupos de estudio.   | 45 |
| Figura 15: Gráfico comparativo de la concentración de glucosa entre los grupos de estudio.  | 45 |
| Figura 16: Gráfico comparativo entre el cáncer pulmonar localizado y metastásico.   | 46 |
| Figura 17: Clasificación por gravedad de los pacientes con SARS-CoV-2.  | 46 |
| Figura 18: Gráfico comparativo de las concentraciones plasmáticas de FvW entre los grupos de estudio.   | 47 |
| Figura 19: Gráfico comparativo del análisis densitométrico de FvW entre los grupos de estudio.  | 48 |
| Figura 20: Análisis densitométrico de la estructura multimérica del FvW donde predomina la presencia marcada de estructuras de alto peso (MAPM).            | 50 |
| Figura 21: Análisis densitométrico de la estructura multimérica del FvW donde existe una distribución multimérica normal en sujetos aparentemente sanos.    | 50 |
| Figura 22: Comparativa de los patrones de bandeado obtenidos por grupo de estudio.  | 51 |
| Figura 23: Análisis densitométrico de la estructura multimérica del FvW por grupo de estudio.   | 51 |
| Figura 24: Gráfico comparativo entre las concentraciones plasmáticas de ADAMTS-13 entre los grupos de estudio.  | 52 |
| Figura 25: Ratio FvW / ADAMTS-13.   | 53 |
| Figura 26: Asociación entre las concentraciones plasmáticas y las estructuras multiméricas del FvW.   | 54 |
| Figura 27: Asociación de las concentraciones plasmáticas de FvW con activación plaquetaria.   | 55 |
| Figura 28: Asociación de las concentraciones plasmáticas de FvW con el conteo de neutrófilos.   | 55 |
| Figura 29: Asociación entre la activación plaquetaria y el incremento de neutrófilos.   | 55 |





## 1. RESUMEN

**Antecedentes:** El riesgo trombótico aumenta en los pacientes con enfermedades respiratorias como cáncer pulmonar e infección por SARS-Cov-2, debido a la disfunción endotelial que se desarrolla por la activación de procesos trombóticos e inflamatorios. El Factor von Willebrand mantiene numerosas interacciones hemostáticas; además, es un biomarcador de disfunción endotelial, el daño vascular causa la liberación de FvW de los cuerpos de Weibel- Palade, el incremento en su concentración plasmática está relacionada con el riesgo trombótico. El desarrollo de procesos inflamatorios acompañados de los mecanismos de evasión a la respuesta inmune de estas patologías respiratorias, contribuyen directamente a la liberación constitutiva de estructuras de elevado peso molecular de FvW; así como el incremento en las concentraciones plasmáticas y la disminución de su enzima reguladora ADAMTS-13 favorecen un estado procoagulante que mantiene cascadas de retroalimentación provocando las alteraciones hemodinámicas hasta convertirlas en patológicas. **Objetivo:** Establecer la variación de las concentraciones plasmáticas de la proteína FvW y enzima ADAMTS 13 como biomarcadores de riesgo trombótico en Cáncer pulmonar e infección por SARS-CoV-2. **Materiales y métodos:** Pacientes con cáncer pulmonar, pacientes con infección por SARS-CoV-2 (COVID-19) y sujetos sanos. Determinación de la concentración plasmática de FvW y ADAMTS-13 por medio de inmunoensayo ligado a enzima (ELISA) y análisis de la estructura multimérica mediante técnica de Western blot. **Resultados:** Se incluyeron un total de 49 pacientes distribuidos de la siguiente manera; pacientes con cáncer de pulmón (n=8), pacientes con COVID-19 (n=25), sujetos sanos (n=16). Obteniendo una edad promedio de 52 años y donde el 61.2% pertenece al género masculino y un 38.8% al género femenino. Se observó un incremento en las concentraciones plasmáticas del FvW en el grupo con cáncer pulmonar (p=0.002) y grupo con COVID-19 (p=0.000) en comparación al grupo control, así como un incremento en la media densitométrica de (p=0.006) y (p=0.001) respectivamente. Las concentraciones plasmáticas de ADAMTS-13 se observaron disminuidas en el grupo con COVID-19 (p=0.006) y se encontró un incremento del índice FvW/ADAMTS-13 (p=0.000) en comparación con los sujetos sanos. Existe una asociación entre la concentración de FvW con la densidad multimérica (p=0.000), la activación plaquetaria (p=0.000) y el % de neutrófilos (p=0.000). **Conclusiones:** El incremento de las concentraciones plasmáticas de FvW y la disminución de los niveles de ADAMTS-13, así como la presencia de estructuras de elevado peso molecular (MAPM) son biomarcadores que ayudan la identificación de riesgo trombótico en enfermedades pulmonares como COVID-19 y cáncer pulmonar. **Palabras clave:** Factor von Willebrand, ADAMTS-13, Endotelitis, Eventos trombóticos, Netosis.



## 2. ABTRACT

**Background:** Thrombotic risk increases in patients with respiratory diseases such as lung cancer and SARS-Cov-2 infection, due to endothelial dysfunction that develops due to the activation of thrombotic and inflammatory processes. The von Willebrand Factor maintains hemostatic interactions, in addition; it is a biomarker of endothelial dysfunction, vascular damage causes the release of VWF from the Weibel-Palade bodies, the increase in its plasma concentration is related to thrombotic risk. The development of inflammatory processes accompanied by the mechanisms of evasion to the immune response of these respiratory pathologies, directly to the constitutive release of high molecular weight structures of VWF; as well as the increase in plasma concentrations and the decrease of its regulatory enzyme ADAMTS-13 favor a procoagulant state that maintains feedback cascades causing hemodynamic alterations until they become pathological. **Objective:** To establish the usefulness of plasma concentrations of VWF protein and ADAMTS 13 enzyme as biomarkers of thrombotic risk in lung cancer and SARS-CoV-2 infection. **Materials and methods:** Patients with lung cancer, patients with SARS-CoV-2 (COVID-19) infection and healthy subjects. Determination of plasma concentration of VWF and ADAMTS-13 by means of enzyme-linked immunoassay (ELISA) and analysis of multimeric structure by Western blot technique. **Results:** A total of 49 patients were included, distributed as follows; lung cancer patients (n = 8), COVID-19 patients (n = 25), healthy subjects (n = 16). Obtaining an average age of 52 years and where 61.2% belong to the male gender and 38.8% to the female gender. An increase in plasma VWF concentrations was observed in the group with lung cancer (p = 0.002) and the group with COVID-19 (p = 0.000) compared to the control group, as well as an increase in the densitometric mean of (p = 0.006) and (p = 0.001) respectively. Plasma concentrations of ADAMTS-13 were observed decreased in the group with COVID-19 (p = 0.006) and an increase in VWF / ADAMTS-13 index (p = 0.000) was found in comparison with healthy subjects. There is an association between VWF concentration with multimeric density (p = 0.000), platelet activation (p = 0.000) and % neutrophils (p = 0.000). **Conclusions:** The increase in plasma concentrations of VWF and the decrease in ADAMTS-13 levels, as well as the presence of high molecular weight structures (MAPM) represent an important thrombotic risk in lung diseases such as COVID-19 and lung cancer. **Key words:** von Willebrand factor, ADAMTS-13, Endothelial dysfunction, Thrombotic events.



### 3. MARCO TEÓRICO

#### A. El Factor de von Willebrand como biomarcador de disfunción endotelial.

El endotelio es un órgano dinámico altamente selectivo involucrado en numerosos procesos fisiológicos como el control del tráfico celular, la regulación del tono vasomotor, el mantenimiento de la fluidez de la sangre y la angiogénesis. Las células endoteliales en estado basal expresan actividad anticoagulante, anti adhesiva y vasodilatadora, mientras que la célula endotelial activada expresa actividad procoagulante, proadhesiva y vasoconstrictora (1).

La disfunción endotelial se define como el conjunto de cambios en la estructura y función en la célula endotelial que ocasionan un desequilibrio entre los factores vasodilatadores y vasoconstrictores, siendo el estado vasoconstrictor el que conlleva a cambios patofisiológicos progresivos proinflamatorios, prooxidantes, proliferativas, procoagulantes y de adhesión vascular (2).

Un importante biomarcador de disfunción endotelial es el Factor von Willebrand (FvW); una glicoproteína plasmática multimérica procoagulante con un papel primordial en la hemostasia, sintetizado y almacenado en plaquetas (megacariocitos) y células endoteliales, circula en el plasma en forma de multímeros de diversos tamaños que van desde 800 a 20,000 KDa, debido a esto es considerada la proteína soluble más grande en el plasma sanguíneo (3).

Después del daño endotelial ocurre una activación de las células endoteliales, y consecuente exposición de células subendoteliales; el colágeno se expone a la sangre e interviene como mediador de la adhesión inicial de las plaquetas circulantes a la superficie expuesta del colágeno utilizando al Factor von Willebrand como intermediario (4).

Una vez liberado el FvW desde los cuerpos de Weibel-Palade, la CE expresa factor tisular que activa el sistema de coagulación amplificando la capacidad enzimática de los factores VII y X, generando trombina. Además, se produce inhibidor del activador de plasminógeno (PAI-1), que puede antagonizar el papel fibrinolítico endógeno del endotelio y tromboxano, una prostaglandina pro-agregante plaquetaria y vasoconstrictora (5).

La estructura del FvW (figura 1), tiene dominios D1, D2, D' y D3 que interactúan en el proceso de formación de los multímeros, además las regiones D' y D3 median la unión con el FVIII. El dominio A1 y A3 tienen propiedades de unión al colágeno. Los sitios donde el Factor von Willebrand se une a las plaquetas son: dominio A1 con el receptor plaquetario Gp Ib/IX y en el dominio C2 al receptor Gp IIb/IIIa (6).

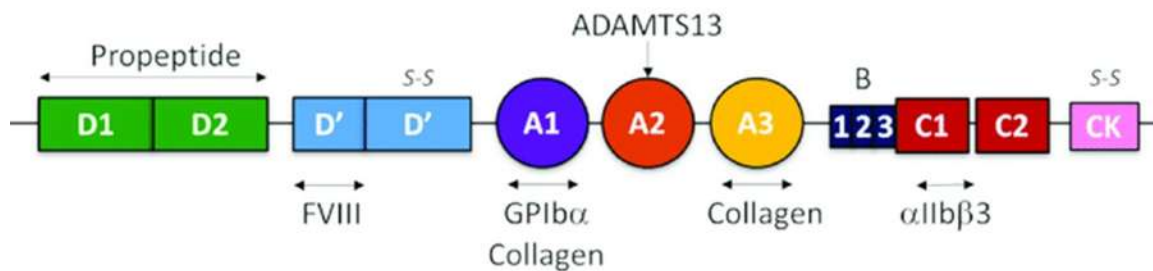


Figura 1: Estructura molecular del dominio proteico del FvW maduro (7).

Cada dominio del FvW que tiene un sitio de unión a receptores plaquetarios, ello explica en parte la relación directa entre el tamaño multimérico y la capacidad de agregación plaquetaria, especialmente en sitios donde actúan altas fuerzas de cizallamiento (shear stress) que conducen a que el FvW se despliegue y exponga sus sitios activos (8).

Existen tres tipos de FvW en el cuerpo humano: plasmático, de la membrana basal (FvW de la matriz extracelular) y celular. El FvW existe en varios tamaños de acuerdo con su peso molecular:

- Multímeros de bajo peso (500-2 500 kDa).
- Multímeros de peso intermedio (3 000-5 000 kDa).
- Multímeros de alto (5 500-10 000 kDa) y ultra-alto peso (>10 000 kDa).

Los multímeros de peso alto y ultra-alto son almacenados en plaquetas y células endoteliales, al ser liberados pasan por una reducción fisiológica del tamaño de los multímeros mediante una fragmentación proteolítica controlada (5).

El nivel medio en plasma de FvW en sujetos sanos obtuvo como resultado la concentración de 55-136 UI/dL, con una vida media de 12 horas. El FvW se ve afectado de acuerdo con la raza, edad, grupo sanguíneo ABO (Los pacientes con tipo sanguíneo O presentan concentraciones plasmáticas disminuidas, debido a una proteólisis acelerada), mediadores inflamatorios y hormonas endocrinas (durante el embarazo, el FvW se incrementa de 3 a 5 veces) (9,10).

El FvW tiene potencial trombogénico y su actividad es directamente proporcional a sus concentraciones plasmáticas y el tamaño de sus multímeros, que se encuentran regulados por la metaloproteasa específica ADAMTS13 que escinde las cadenas multiméricas del Factor von Willebrand en subunidades más pequeñas y menos activas, controlando su función hemostática (11).

ADAMTS13 actúa a nivel del dominio A2 del FvW escindiendo los multímeros ultragrandes limitando su interacción plaquetaria. La actividad de ADAMTS13 es dependiente de la presencia de cationes divalentes como calcio y zinc, tiene una vida media de 2-4 días y una concentración plasmática de 740-1420 ng/mL (12,13).



Existen condiciones patológicas asociadas con niveles elevados de FvW, debido posiblemente a varias causas: cambio en su conformación estructural, alteraciones en la secreción endotelial (mayor liberación de FvW), procesamiento o eliminación de FvW (ADAMTS-13) o aumento de las fuerzas por cizallamiento. Incluso el aumento de los niveles activos de FvW también se ven asociadas a procesos infecciosos e inflamatorios (7).

La trombosis es la formación de un coágulo en un vaso sanguíneo, que obstruye parcial o totalmente el flujo de sangre. La ETV comprende la trombosis venosa profunda (TVP) debida a la formación de un trombo en el sistema venoso y el tromboembolismo pulmonar (TEP), producido por el desprendimiento del mismo que viaja a través del sistema venoso hasta alojarse en el pulmón (14).

Por ser una patología multifactorial, la ETV está asociada a distintos factores de riesgo. A su vez, cada factor de riesgo puede estar asociado a uno o más mecanismos de acción involucrados en la formación del trombo; como las alteraciones en la pared vascular, y cambios en las características del flujo sanguíneo (15).

Los eventos trombóticos se relacionan a factores de riesgo como cirugía, hospitalización, infección, trastornos genéticos de la coagulación y por factores específicos del cáncer que incluyen el tipo, histología y la etapa de la neoplasia, el tratamiento oncológico y ciertos biomarcadores protrombóticos que se resumen en la Tabla 1(16).

**Tabla 1: Factores de Riesgo asociados a Trombosis (17,18).**

|  |
|--|
| • <b>Edad &gt;60 años</b>  |
| • <b>Sobrepeso / Obesidad</b>  |
| • <b>Cáncer</b>  |
| • <b>Inmovilidad Prolongada</b>  |
| • <b>Cirugía</b>   |
| • <b>Aumento de los Factores de la coagulación (VII, VIII, II, fibrinógeno y Factor de von Willebrand)</b> |
| • <b>Dispositivos intravasculares (catéter)</b>  |
| • <b>Tabaquismo</b>  |
| • <b>Estasis</b>   |
| • <b>Embarazo y puerperio</b>  |
| • <b>Insuficiencia Cardíaca</b>  |
| • <b>Insuficiencia Renal / Respiratoria</b>  |
| • <b>Traumatismo</b>   |
| • <b>Antecedentes de Trombosis</b>   |
| • <b>Diabetes</b>  |



## B. Cáncer Pulmonar

El cáncer consiste en un crecimiento descontrolado junto con una diseminación de células anormales en el organismo perdiendo su capacidad de diferenciación; estas células invaden logrando un daño en tejidos y órganos. El cáncer es el resultado del proceso de transformación de una célula sana en una célula tumoral (19).

El cáncer pulmonar se origina en los tejidos del pulmón, generalmente en las células que recubren los conductos de aire, en estructuras del árbol respiratorio como la tráquea, los bronquios, los bronquiolos o los alvéolos (20).

La clasificación anatomopatológica aceptada por la Organización Mundial de la Salud y la Asociación Internacional para el Estudio del Cáncer de Pulmón divide al cáncer pulmonar en dos grandes grupos: carcinoma no micro celular o cáncer pulmonar de células no pequeñas (CPCNP) y carcinoma pulmonar de células pequeñas (CPCP) (21).

Dentro del cáncer pulmonar de células no pequeñas (CPCNP) supone el 80-85% incluye 3 tipos histológicos principalmente: carcinoma epidermoide que se origina en células escamosas con aspecto plano y delgado (como escamas de pescado), adenocarcinoma que tiene su origen en las células que recubren los alvéolos y carcinoma de células grandes (22,23).

Alrededor del 15% de los casos pertenece al tipo de células pequeñas, siendo menos frecuente, aunque más agresivo con tendencia a diseminar fácilmente y relacionado con el consumo del tabaco. Hay dos tipos principales de (CPCP) denominados según el tipo de células: Carcinoma de células pequeñas (cáncer de células en grano de avena) y Carcinoma combinado de células pequeñas. La mayoría de los casos de cáncer pulmonares de células pequeñas corresponden al primer tipo (24,25).

## C. Epidemiología en Cáncer Pulmonar

El cáncer de manera general, es la principal causa de muerte a nivel mundial; se estima alrededor de 8.8 millones de defunciones (2015) y se identifican cinco tipos de cáncer responsables del mayor número de fallecimientos colocándose en primer lugar el cáncer pulmonar con 1.69 millones de muertes (26,27).

En México, el cáncer de pulmón es la neoplasia más letal, siendo la primera causa de muerte por cáncer. Cada año fallecen cerca de 8 mil mexicanos por este padecimiento (28).

La enfermedad tromboembólica venosa (ETV) se encuentra entre las principales causas de muerte en pacientes oncológicos de diferentes tipos histológicos ambulatorios como hospitalizados, asociado a múltiples factores como el propio estado del paciente tras la progresión de la enfermedad oncológica, el tumor y el tipo de tratamiento (29).



La ETV tiene una incidencia de 1-2 por 1000 personas anualmente. Los pacientes hospitalizados, especialmente los pacientes oncológicos tienen una serie de factores de riesgo trombótico que aumenta aún más la estadística de muertes en esta neoplasia (30).

Aunado a esto, de manera general, 1 de cada 10 afectados por cáncer, muere a consecuencia de una trombosis, esto se encuentra relacionado al aumento de riesgo vascular a causa de varios factores entre ellos la propia enfermedad neoplásica, edad, inmovilidad, los tratamientos como la quimioterapia y el uso de catéteres centrales también elevan el riesgo de trombosis (31).

Entre los pacientes oncológicos que tienen mayor riesgo de desarrollar trombosis destacan el cáncer de pulmón, aunque es importante mencionar que cualquier neoplasia es de riesgo (32).

El cáncer de pulmón se presenta en ambos sexos de manera indistinta, se manifiesta con una frecuencia más elevada en personas entre los 50 a 60 años, teniendo al tabaquismo como el factor de riesgo más asociado al desarrollo de esta neoplasia (33).

#### D. Clasificación de Cáncer Pulmonar.

Su clasificación depende de la evaluación del tumor tomando en consideración su localización, tamaño y la invasión de estructuras adyacentes. La estadificación del cáncer de pulmón ayuda a decidir el tipo de terapia que se debe utilizar determinando los riesgos y beneficios de los diferentes procedimientos y/o tratamientos dependiendo de las condiciones de cada paciente (21).

Estadio I, el cáncer sólo se encuentra en el pulmón y rodeado de tejido normal, no se encuentran afectados los ganglios linfáticos, no hay presencia de metástasis. Estadio II, el cáncer ha diseminado a ganglios linfáticos cercanos o puede afectar a la pleura visceral. Se divide en etapa IIA y IIB, según el tamaño del tumor y la afectación de los ganglios linfáticos. Estadio III, el cáncer ha diseminado a los ganglios linfáticos en el mediastino o a los ganglios linfáticos del pulmón contrario o los ganglios del cuello, puede verse afectadas estructuras del tórax como el diafragma, pleura mediastínica o pericardio; también se divide en etapas IIIA y IIIB. Estadio IV, se presenta metástasis a distancia (Figura 2) (19).

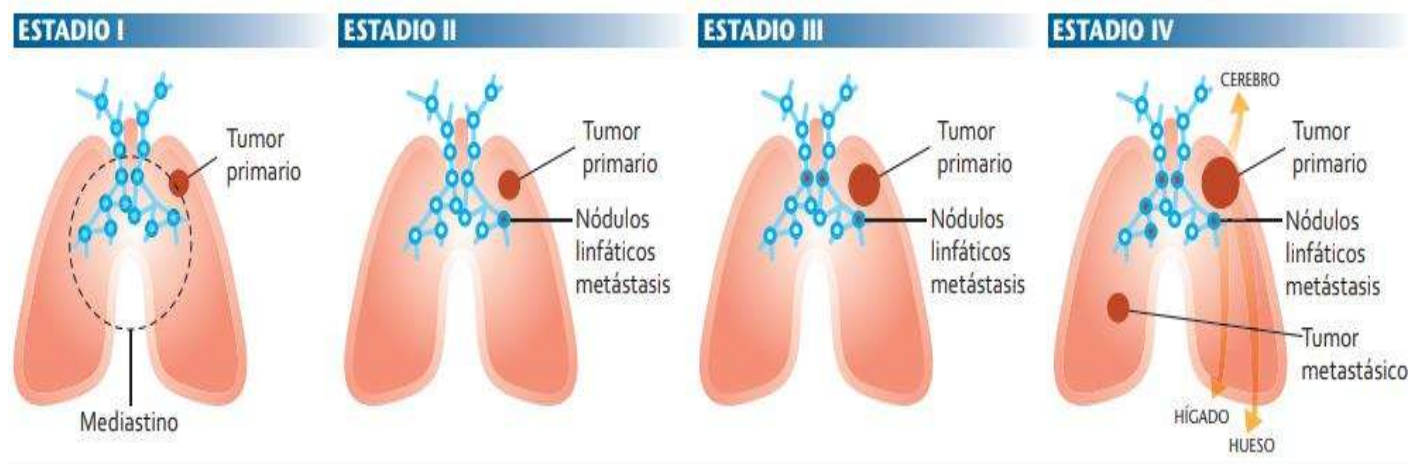


Figura 2: Clasificación por estadios de acuerdo con American Thoracic Society, donde se muestra la evolución del tumor, en tamaño, localización e invasión (34).

En la estadificación de cáncer de pulmón también se utiliza el sistema de TNM. Donde las iniciales representan el tamaño y la ubicación del Tumor (T), la ubicación de cáncer en los Nódulos linfáticos (N), y si el cáncer se ha diseminado en forma de Metástasis (M) (34).

La clasificación TNM y la estadificación por estadios toman en cuenta las nuevas técnicas de estudios por imágenes, aspectos moleculares, aspectos genéticos y las nuevas opciones terapéuticas (Tabla 2) (33).

**Tabla 2: Clasificación TNM para cáncer de pulmón (15).**

|                                 | N0   | N1   | N2   | N3   |
|---------------------------------|------|------|------|------|
| T1 (<2cm)                       | IA   | IIA  | IIIA | IIIB |
| T1 (>2cm≤3cm)                   | IA   | IIA  | IIIA | IIIB |
| T2 (>3cm≤5cm)                   | IB   | IIA  | IIIA | IIIB |
| T2 (>5cm<7cm)                   | IIB  | IIB  | IIIA | IIIB |
| T2 (≥7cm)                       | IIB  | IIIA | IIIA | IIIB |
| T3 (invasión directa)           | IIB  | IIIA | IIIA | IIIB |
| T3 (nódulos en el mismo lóbulo) | IIB  | IIIA | IIIA | IIIB |
| T4 (extensión)                  | IIIA | IIIA | IIIB | IIIB |
| T4 (nódulos ipsilaterales)      | IIIA | IIIA | IIIB | IIIB |
| M1a (efusión pleural)           | IV   | IV   | IV   | IV   |
| M1a (nódulos contralaterales)   | IV   | IV   | IV   | IV   |
| M1b (metástasis a distancia)    | IV   | IV   | IV   | IV   |

T: Tamaño del tumor, N: Nódulos linfáticos afectados  
M: Metástasis.





### E. Diagnóstico de Pacientes con Cáncer

No existe un diagnóstico preciso para el cáncer de pulmón dado que el cuadro clínico es inespecífico; incluso, puede mostrarse en pacientes asintomáticos. Entre los signos y síntomas de esta neoplasia destacan: tos que avanza a crónica principalmente, dolor de pecho, tos con sangre, dolor crónico del hombro, ronquera en la voz, pérdida de peso, fatiga. Los síntomas típicos del cáncer pulmonar dependen de la ubicación y extensión del cáncer (35).

El examen clínico, la realización de una radiografía o tomografía computarizada (TC), o la obtención de imágenes por resonancia magnética (IRM) ayudan a evaluar la situación y el grado de extensión del cáncer. Una biopsia (células o tejido extraídos del tumor) confirmará el diagnóstico de Cáncer Pulmonar (23).

### F. Tratamiento de Pacientes con Cáncer Pulmonar.

Los pacientes oncológicos en tratamiento activo tienen hasta 4 veces mayor riesgo de desarrollar eventos trombóticos incluso en los pacientes tratados con quimioterapia, el riesgo aumenta hasta 6 veces más (36).

El tratamiento difiere entre cada paciente dependiendo del tipo de cáncer de pulmón, ya sea cáncer de pulmón de células pequeñas (CPCP) o cáncer de células no pequeñas (CPCNP); otro aspecto importante a considerar para el tratamiento de la enfermedad es el estadio de la neoplasia. Dentro del tratamiento se encuentra la cirugía, quimioterapia y/o radioterapia (37).

El CPCNP con diagnóstico temprano, tiene buena supervivencia y alta tasa de curación con cirugía. Los estadios clínicos I y II son elegibles para cirugía; los estadios IIIA cuentan con un tratamiento multidisciplinario con quimioterapia, radioterapia local y regional del tumor; seguida de cirugía en aquellos que demuestren buena respuesta terapéutica. En estadio IIIB, normalmente el tratamiento es paliativo y, en algunos casos la cirugía. En estadio IV su tratamiento es paliativo ya sea con quimioterapia, radioterapia o ambos (38).

En el caso del CPCP el tratamiento puede incluir indicación quirúrgica en micronódulos o nódulos solitarios sin evidencia de metástasis. La administración de quimioterapia convencional en casos con metástasis regional en el estudio patológico también puede ser utilizada. La radioterapia como tratamiento neoadyuvante o adyuvante; o bien como tratamiento primario en enfermedad, médicamente inoperable; y como terapia paliativa (39).

Incluso, el uso de catéter para la administración de fármacos en pacientes oncológicos, es considerado uno de los factores que favorecen la aparición de trombosis venosa debido a la localización de la punta que condiciona el roce continuo con la pared vascular y lesión del vaso durante el procedimiento de inserción (40).



### G. Enfermedad Tromboembólica Venosa y su relación con el Cáncer

Existen síndromes paraneoplásicos asociados con eventos trombóticos como el síndrome de Trousseau que puede originarse tras el desarrollo de una enfermedad neoplásica (41). Por su parte, la Enfermedad Tromboembólica Venosa (ETV) está relacionada con patologías como el cáncer por la elevada prevalencia que se presenta en el paciente oncológico favoreciendo un estado de hipercoagulabilidad provocado por el tumor favoreciendo la aparición de trombos (42).

Actualmente, dentro de los puntajes de predicción de riesgo, existe la utilización de la prueba de probabilidad clínica de Wells (Tabla 3) que tiene una fuerte base en el diagnóstico y ha permitido la estratificación de pacientes con riesgo a sufrir una TVP y TEP, aunque también se conocen los modelos de Padua y Khorana (43).

**Tabla 3: Criterios de Wells para el diagnóstico de la TVP (43).**

| <b>FACTORES</b>  | <b>ESCALA</b> |
|--|---------------|
| <b>Cáncer activo (tratamiento en últimos 6 meses o paliativo)</b>                    | 1             |
| <b>Inflamación pantorrilla &gt;3cm</b>   | 1             |
| <b>Venas superficiales colaterales, no varicosas</b>                                 | 1             |
| <b>Edema con fóvea limitado a la pierna sintomática</b>                              | 1             |
| <b>Hinchazón global en una pierna</b>  | 1             |
| <b>Sensibilidad a la palpación localizado a lo largo del sistema venoso profundo</b> | 1             |
| <b>Parálisis o reciente inmovilización con férula de los miembros inferiores</b>     | 1             |
| <b>Inmovilización en cama &gt;3días (reciente)</b>                                   | 1             |
| <b>Cirugía mayor con anestesia general o regional en las últimas 12 semanas</b>      | 1             |

El modelo de Khorana (Tabla 4) describe diferentes puntajes de acuerdo con los factores de riesgo que pueden contribuir al desarrollo de ETV principalmente en pacientes oncológicos, siendo la escala predictiva más utilizada. Donde interpreta para cada criterio un valor, estableciendo como: Alto riesgo  $\geq 3$  puntos, Riesgo intermedio= 1-2 puntos, Bajo riesgo= 0 (44).



**Tabla 4: Factores de riesgo de ETV en pacientes oncológicos (44).**

| Factor de Riesgo                                   | Puntos |
|--|--------|
| Muy Alto Riesgo (estómago, páncreas)               | 2      |
| Alto Riesgo (pulmón, linfoma, vesical, testicular) | 1      |
| Conteo Plaquetario >350.000/ul                     | 1      |
| Conteo Leucocitario >11.000/ul                     | 1      |
| Hemoglobina <10g/dL                                | 1      |
| Índice de Masa Corporal >35 kg/m <sup>2</sup>      | 1      |

dL: decilitro, ul: microlitro, Kg: kilogramo, m<sup>2</sup>: metro cuadrado.

#### H. Hemostasia asociada al Cáncer.

La forma en que la presencia de cáncer provoca trombosis es muy compleja e inicia cuando el linaje celular macrocítico interactúa con las células tumorales; provocando un microambiente protrombótico provocando daño endotelial, activación plaquetaria y de los factores de la coagulación (45).

La interacción entre las células tumorales y los componentes del sistema hemostático (pared vascular, plaquetas, leucocitos y el sistema fibrinolítico), se da por dos mecanismos; 1) la producción y liberación de mediadores procoagulantes como: citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6 TNF- $\alpha$ ), factores proangiogénicos como Factor de crecimiento del Endotelio Vascular (VEGF) y agonistas plaquetarios (ADP, trombina) y 2) la expresión de moléculas de adhesión o de sus receptores (46).

Las células tumorales interactúan con las plaquetas y la pared del vaso para extravasarse de la circulación; por lo tanto, el FvW es un mediador de las interacciones entre células tumorales y plaquetas. Se han identificado varios receptores potenciales para el FvW en la superficie de las células tumorales, como la glucoproteína Ib y las integrinas  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 y  $\alpha$ V $\beta$ 3; aunque también se han descrito interacciones directas entre el FvW y células tumorales (47).

Los factores extrínsecos como la cirugía, quimioterapia y la implantación de catéter venoso también promueven un estado de procoagulante. Pacientes oncológicos producen activación de la coagulación, supresión de agentes anticoagulantes y daño endotelial que llevan a un estado de hipercoagulabilidad (48).

Por ejemplo, el daño endotelial causado por el uso de catéter venoso central provoca la liberación de Factor de Necrosis Tumoral (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 (IL-1) e interleucina 6 (IL-6), convirtiendo la superficie vascular en trombogénica lo que puede activar plaquetas y proteasas de serinas, así como al factor XII y X, generando la producción de trombina y trombosis (32).



Las células tumorales pueden liberar sustancias procoagulantes; como el Factor Tisular que se expresa normalmente en respuesta a citocinas, proteínas del complemento e inmunocomplejos. Las células tumorales no necesitan este tipo de estímulos y expresan constitutivamente el FT lo que favorece un estado protrombótico en pacientes oncológicos y ha sido asociado a la progresión tumoral por su efecto angiogénico (46).

Otra sustancia procoagulante, es una cisteína proteinasa de 68 kD llamada el “procoagulante del cáncer” que ha sido encontrada solamente en tejidos malignos y fetales. Se ha demostrado que este activa al factor X independientemente del factor VII mediante el reconocimiento de la unión peptídica Tyr21 y Asp22 lo que lleva a una iniciación de la coagulación (49).

Los pacientes con presencia de trombos venosos son propensos sufrir una embolia pulmonar debido a la alta disponibilidad del activador de plasminógeno tisular (t-PA) en el sistema venoso, además de ser ricos en fibrina y glóbulos rojos, “Coágulo rojo”. Por su parte un coágulo arterial formado después de la ruptura de la placa aterosclerótica es rico en plaquetas, “coágulo blanco” (50).

El cáncer de pulmón puede sintetizar y liberar Interleucina 6 (IL-6), la cual estimula la síntesis hepática de trombotocina aumentando la proliferación de megacariocitos y la liberación de plaquetas incrementando la trombopoyesis (51).

La liberación del Factor estimulante de colonias granulocíticas (G-CSF) por células tumorales favorece el incremento de neutrófilos circulantes e induce su activación; provocando NETosis donde el ADN liberado se asocia con enzimas (catepsina G y elastasa), que inactivan TFPI, aumentando la actividad de FT. La neutrofilia es un hallazgo frecuente en pacientes con cáncer pulmonar (52).

Las células tumorales también interactúan con otras células como las plaquetas a través de una variedad de ligandos y receptores, como el complejo GP Ib/IX plaquetario; esto gracias a la exposición del FvW ligado al colágeno y las células endoteliales en la matriz vascular tras la invasión tumoral (53).

Todos aquellos factores de riesgo sobre la pared de los vasos sanguíneos determinan un daño al endotelio que provoca la elevación de las concentraciones plasmáticas de FvW. Además, debido a la capacidad de FvW para promover adhesión y agregación plaquetaria lo convierte en un componente crítico en patologías oncológicas (2,54).

La demostración de que la mayoría de los tumores malignos expresan receptores de adhesión que pueden unirse con ligandos en el endotelio, así como el hallazgo de niveles elevados de marcadores endoteliales plasmáticos como el Factor von Willebrand (FvW), indican que existe una activación de la hemostasia al nivel del endotelio vascular (49).



En estudios recientes, se ha encontrado una asociación clara entre los niveles elevados de FvW y los niveles disminuidos de la relación ADAMTS-13 / FvW y la aparición de Enfermedad Tromboembólica Venosa; esto puede identificar al FvW como una posible herramienta de laboratorio para la estratificación de riesgo de pacientes con cáncer propensos a desarrollar ETV (55).

En un estudio donde se incluyeron 795 pacientes con varios tipos de tumores, se encontró en pacientes con cáncer pulmonar niveles disminuidos de ADAMTS-13 y un incremento en los valores de FvW, inclusive hubo un incremento importante de FvW en pacientes con metástasis lo cual también lo convierte en un biomarcador pronóstico para la evolución de la enfermedad. Incluso, se ha planteado la hipótesis sobre la relación de la ETV con el cáncer puede basarse en la agregación plaquetaria mediada por FvW. Además, la liberación de FvW y disminución de ADAMTS-13 local en el tejido tumoral probablemente cause un medio procoagulante. Una limitación de este estudio fue medir los niveles plasmáticos de FvW sin tomar en cuenta su estructura multimérica para evaluar su función hemostática (55).

El nivel plasmático de FvW, actualmente considerado como un marcador de activación de células endoteliales, aumenta en cáncer colorrectal, de mama y de ovario; sin embargo, no hay estudios suficientes en cáncer pulmonar que aborden la relación FvW/ADAMTS-13. Se ha sugerido que el nivel plasmático de FvW puede estar asociado con la etapa tumoral y tiene importancia pronóstica en pacientes con cáncer (47).

## I. Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS- CoV-2).

Son un grupo de virus de la familia Coronaviridae conocidos por su capacidad para infectar una variedad de huéspedes debido a su mutagénesis, tropismo tisular y patogenicidad. El SARS-CoV-2 fue identificado como el agente causante de una serie de enfermedades respiratorias atípicas, declarada como COVID-19 (56).

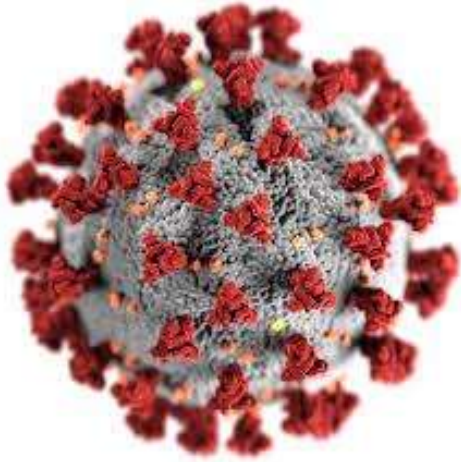


Figura 3: Estructura coronavirus. Instituto de Salud Global de Barcelona (ISGlobal), 2018.

Los coronavirus son viriones redondos con envoltura de aproximadamente 80–220 nm de diámetro que contienen un genoma de ARN monocatenario de sentido positivo de ~26–32 kb rodeado por una membrana extracelular que contiene una cubierta de glicoproteínas en punta (estructura en forma de corona) (Figura 3) (57).

El SARS-CoV S es una glicoproteína de 1255 residuos y su genoma viral codifica cuatro proteínas estructurales: la glicoproteína de envoltura, membrana, nucleocápside y espiga, que desempeñan un papel tanto en la caracterización molecular como en la entrada

de la célula huésped, así como 16 proteínas no estructurales y 9 proteínas accesorias necesarias para la replicación y patogénesis (58).

Los coronavirus (CoV) están clasificados en cuatro géneros:  $\alpha$ -CoV,  $\beta$ -CoV,  $\gamma$ -CoV y  $\delta$ -CoV. Entre estos géneros, solo se sabe que  $\alpha$ -CoV y  $\beta$ -CoV causan enfermedades en mamíferos. Se sabía que los  $\beta$ -CoV causaban terribles trastornos respiratorios potencialmente mortales, como el síndrome respiratorio agudo severo (SARS) (59).

Se han caracterizado siete cepas de coronavirus humanos, cuatro de las cuales se sabe que infectan el tracto respiratorio superior y causan síntomas leves, mientras que las otras tres son conocidas por sus características graves en enfermedades del tracto respiratorio inferior, incluidas las siguientes: SARS-CoV (síndrome respiratorio agudo severo), MERS-CoV (síndrome respiratorio de Oriente Medio) y SARS-CoV-2 (COVID-19) (57).

El virus ingresa mediante una regulación positiva del receptor de la enzima convertidora de angiotensina-2 (ACE2) al sistema pulmonar que se encuentran en la superficie de las células huésped, lo que causa neumonía viral, seguida de una fase inflamatoria sistémica caracterizada por insuficiencia respiratoria. ACE-2 se encuentra en epitelio nasal, pulmón, corazón, riñón e intestino, lo que se relaciona con el fallo multiorgánico en estos pacientes (60).



En casos graves, la fisiopatología de COVID-19 incluye destrucción de células epiteliales pulmonares, trombosis, hipercoagulación y fuga vascular. Estos eventos llevan al síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) y fibrosis pulmonar posterior en los pacientes (61).

#### J. Epidemiología de COVID-19.

Las cifras registradas por la OMS hasta enero del 2021 para COVID-19 presentan a más de 83 millones de casos notificados y más de 1,8 millones de muertes en todo el mundo desde el inicio de la pandemia. En México, el número de nuevos casos semanales presento más de 1,9 millones y 32,000 nuevas muertes (62).

Para Michoacán, se han reportado hasta el 09 de enero del 2021, 34,779 casos confirmados y 2,835 defunciones de acuerdo con cifras de la Secretaría de Salud (63).

Existen comorbilidades específicas que aumentan el riesgo de infección por SARS-CoV-2 debido a su fuerte expresión del receptor ACE-2 y una mayor liberación de convertasa que facilita la entrada viral provocando una peor lesión pulmonar incluso la muerte. Encontrando hipertensión, enfermedades cardiovasculares y diabetes como principales; sin embargo, también aparecen VIH, EPOC, asma, neoplasias malignas entre otras (64).

Se ha observado que existe mayor susceptibilidad a infectarse por COVID-19 en relación con el grupo sanguíneo ABO, donde los pacientes con el grupo O tenían menos probabilidades de infectarse, en comparación con individuos que pertenecen al grupo sanguíneo no O; registrando al grupo A como el de mayor riesgo (65).

#### K. COVID-19 y su relación con la disfunción endotelial

Las alteraciones en el equilibrio trombótico/ fibrinolítico del endotelio pueden contribuir a la trombosis *in situ* en la vasculatura pulmonar, debido al incremento de proteínas en el espacio alveolar, la acumulación de líquido y la hipoxia favoreciendo las complicaciones por SARS-CoV-2 (61).

La presencia de endotelitis e inclusiones virales en las células endoteliales, junto con la identificación del receptor ACE2 en las células endoteliales vasculares, ha establecido una relación entre la lesión o activación de las células en la coagulopatía asociada a COVID-19 y podrían desempeñar un papel clave en la progresión de la enfermedad (66).

El papel trombótico del endotelio se activa por señales inflamatorias o por patrones moleculares asociados a patógenos como puede ser por un virus. Las citocinas proinflamatorias provocan en las células endoteliales un cambio en su función

homeostática que pueden contribuir a la trombosis y lesión tisular local, potenciando procesos patológicos (Figura 4) (61).

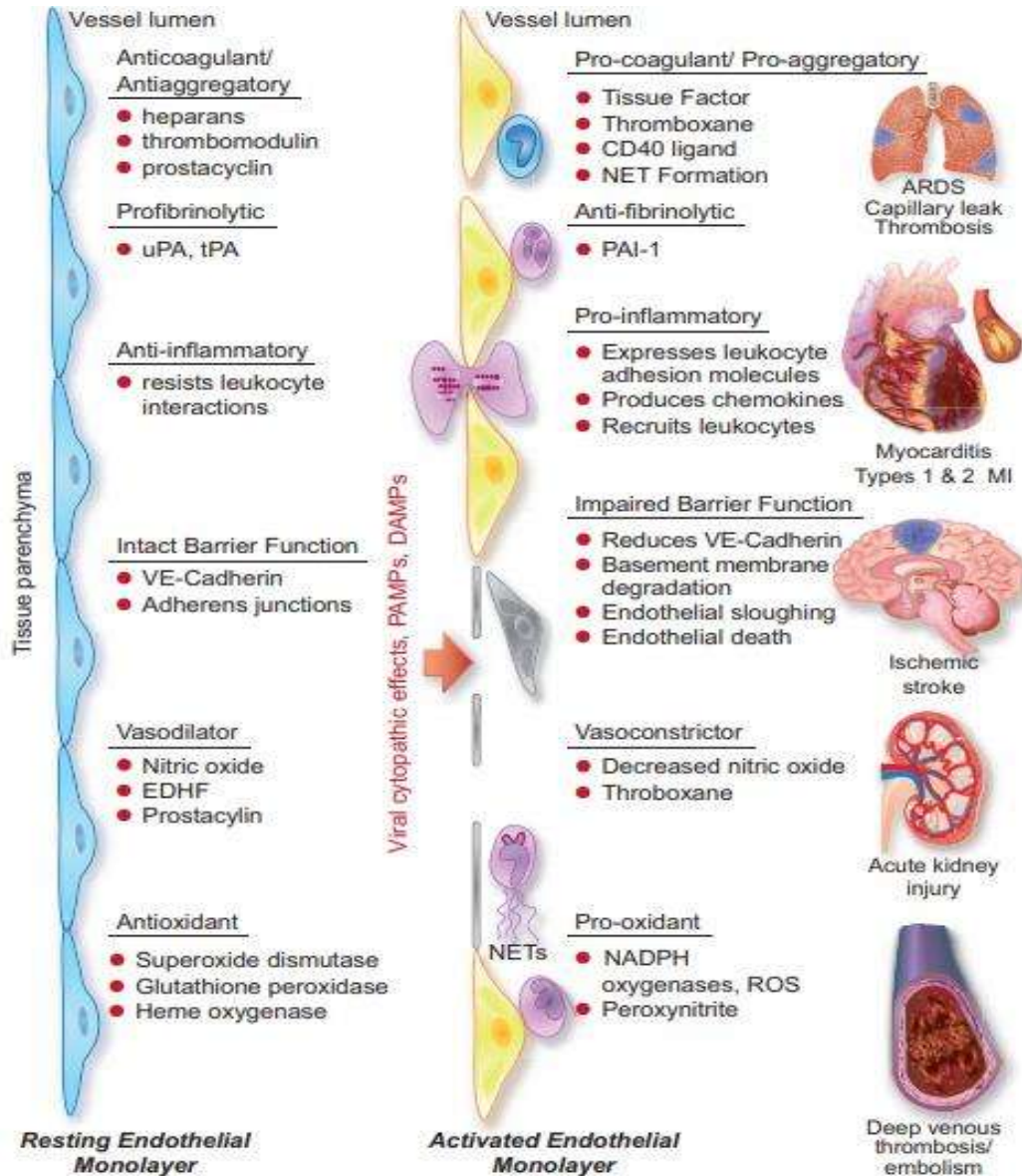


Figura 4: Mecanismos de activación endotelial en COVID-19 (61).

Los receptores de reconocimiento de patrones detectan ácidos nucleicos virales, induciendo la producción de IFN, como respuesta antiviral; cuando este mecanismo no es óptimo, ocurre una respuesta inflamatoria impulsada por el factor de transcripción NF-κB y una alta producción de TNF-α e IL-6 (66).



Se ha propuesto que la coagulopatía asociada a COVID-19 es una endotelopatía que produce un aumento de la liberación de FvW, activación plaquetaria e hipercoagulabilidad, lo que conduce a las manifestaciones protrombóticas clínicas que puede incluir trombosis venosa, arterial y microvascular (67).

En condiciones fisiológicas, el endotelio regula la entrada de leucocitos a los tejidos para combatir patógenos y para ayudar a reparar lesiones. La elevada expresión de moléculas de adhesión endotelio-leucocitario dependen principalmente de citocinas proinflamatorias como la interleucina-1 (IL-1a / IL-1b) o el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) (68).

La célula endotelial produce IL-1, esta citocina proinflamatoria puede inducir su propia expresión génica, así como la de otras citocinas como TNF- $\alpha$  y provocar la producción de moléculas quimioatrayentes, que median la penetración de las células inflamatorias en los tejidos; proporcionando un bucle de amplificación que puede propiciar una tormenta de citocinas (4).

La estimulación de IL-1 reduce VE-cadherina, apodado el guardián de la integridad del endotelio. Este hallazgo vincula una tormenta de citocinas directamente con la fuga capilar, y agravamiento del cuadro respiratorio agudo (SDRA) que se presenta en pacientes con COVID-19 avanzado (61).

La endotelopatía que se manifiesta en los pacientes con COVID-19 se ha relacionado con los niveles elevados de PAI-1 e IL-6 sugiriendo que su asociación desempeña un papel importante en el síndrome de dificultad respiratoria aguda grave en pacientes críticamente enfermos y no críticamente enfermos con COVID-19, dado el papel de las células endoteliales como la fuente principal de PAI-1 (69).

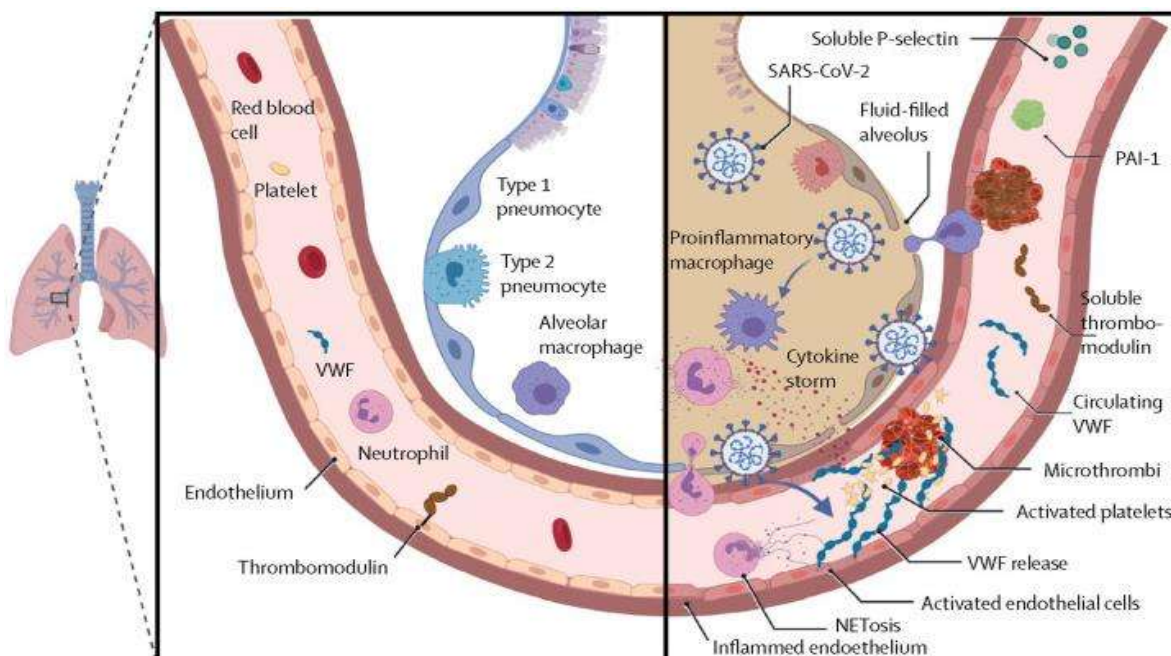


Figura 5: Endotelitis alveolar en COVID-19 (70).



El desequilibrio provocado por la tormenta de citocinas, por lo tanto, no solo afecta a la función del endotelio local sino también puede provocar un estado protrombótico y antifibrinolítico que favorece eventos trombóticos como una de las complicaciones por COVID-19 (71).

Las altas concentraciones plasmáticas de FvW asociadas con COVID-19 sugieren, por tanto, una activación fulminante de las células endoteliales que incluso se ha relacionado con la progresión de la enfermedad, sin embargo, es importante señalar que estas concentraciones también se encuentran elevadas en pacientes no críticos (69).

Esto permite un nuevo enfoque sobre dianas terapéuticas, considerando que las células epiteliales alveolares tipo II sintetizan y secretan componentes que regulan la tensión superficial alveolar en los pulmones; desempeñando un papel activo en la mejora del aclaramiento del líquido alveolar y la reducción de la inflamación pulmonar; además, pueden proliferar y diferenciarse en células epiteliales alveolares tipo I, contribuyendo así a la reparación epitelial pulmonar (72).



## 4. JUSTIFICACIÓN

El daño en el endotelio vascular pulmonar ha sido asociado con la severidad de diversas patologías como cáncer y COVID-19. Este daño involucra una activación que está caracterizada por la liberación a la circulación de diversas proteínas procoagulantes.

Ya que los multímeros de alto peso molecular de FvW son hemostáticamente activos como mediadores de la adhesión y agregación plaquetaria, existe una asociación entre la activación de la coagulación y el riesgo de trombosis en enfermedades pulmonares.

Se ha encontrado una asociación entre los niveles elevados de FvW y disminuidos de ADAMTS-13 en la aparición de Enfermedad Tromboembólica Venosa; por ello, es indispensable la identificación de biomarcadores que permitan la estratificación del riesgo trombótico en pacientes con estas enfermedades pulmonares.



## 5. HIPÓTESIS

El Factor von Willebrand presenta concentraciones plasmáticas aumentadas y presencia de multímeros de alto peso molecular, así como concentraciones disminuidas de ADAMTS-13 incrementando el riesgo trombótico en pacientes afectados por enfermedades pulmonares como Cáncer pulmonar e infección por SARS-CoV-2.

## 6. OBJETIVOS

- Objetivo general:  
Establecer la variación de las concentraciones plasmáticas de la proteína FvW y enzima ADAMTS 13 como biomarcadores de riesgo trombótico en Cáncer pulmonar e infección por SARS-CoV-2.
  
- Objetivos particulares:
  - I. Comparar las concentraciones plasmáticas y la estructura multimérica de FvW, así como la concentración de ADAMTS 13 en los pacientes con COVID-19 y cáncer pulmonar.
  - II. Analizar el índice FvW/ADAMTS13 en los pacientes incluidos en el estudio.
  - III. Correlacionar las concentraciones y la distribución multimérica de FvW con los datos clínicos de los pacientes incluidos en el estudio y con la severidad de la enfermedad.
  - IV. Efectuar un análisis comparativo entre ambas patologías.



## 7. METODOLOGÍA

- **Diseño Experimental:** Tipo y clasificación del estudio.

**Estudio exploratorio**, descriptivo, observacional, analítico, prospectivo y transversal.

- **Sedes de estudio:**

El desarrollo experimental se realizó en el Laboratorio de Hemostasia y Biología Vascular. División de estudios de posgrado. Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH).

El proceso de reclutamiento de pacientes se llevó a cabo en las siguientes instituciones:

- Centro Estatal de Atención Oncológica de Morelia. Servicio de Salud de Michoacán.
- Hospital General “Dr. Miguel Silva” de Morelia.

- **Universo o población.**

Se integró un grupo de estudio de pacientes con cáncer pulmonar, un grupo con COVID-19 y un grupo control de sujetos aparentemente sanos, pareados por edad y género.

- I. Grupo de pacientes con cáncer pulmonar.
- II. Grupo de pacientes con diagnóstico confirmado por SARS-CoV-2.
- III. Grupo Control

### **Criterios de inclusión:**

- Género indistinto.
- Edad >18 años.
- Grupo I: Pacientes con diagnóstico de cáncer pulmonar localizado, localmente avanzado o metastásico.
- Grupo II: Pacientes con diagnóstico confirmado por SARS-CoV-2 que requieran de hospitalización.



- Grupo III: Sujetos aparentemente sanos (de acuerdo con entrevista clínica, IMC, biometría hemática y química sanguínea), pareados por edad +/- 3 años y género.

#### **Criterios de exclusión:**

- Pacientes con expediente clínico incompleto.
- Pacientes que hayan presentado un evento trombótico en un periodo de 3 meses previo a su inclusión en el estudio.
- Pacientes con terapia anticoagulante 15 días previos a su inclusión en el estudio.

#### **Criterios de eliminación:**

- Pacientes que decidan retirarse en cualquier momento del ensayo clínico.
- Pacientes cuyas muestras sanguíneas resulten lipémicas o hemolizadas.

#### **Cálculo de la muestra:**

Debido a que es un estudio exploratorio se realizó estadística no probabilística con una muestra a conveniencia durante el periodo comprendido entre Enero – Diciembre del 2020.

#### **Descripción operativa del estudio:**

Se incluyó en el estudio todos los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión y aceptaron participar en el estudio. Una vez que firmaron la carta de consentimiento informado, se realizó:

##### Valoración Antropométrica

- Peso
- Talla
- Índice de Masa Corporal (IMC)

##### Toma de signos vitales

- Presión arterial sistólica

##### Historia clínica completa

- Uso previo de fármacos anticoagulantes



- Uso previo de antiagregantes plaquetarios
- Enfermedades concomitantes: hipertensión arterial, diabetes mellitus y/o sobrepeso/obesidad.
- Presencia/ ausencia de hemorragia en los últimos 3 meses
- Grupo sanguíneo: ABO

Tratamiento de la muestra:

1. Se realizó recolección de sangre periférica mediante venopunción en antebrazo (con ayuno mínimo de 4 horas), en tubos Vacutainer con citrato de sodio, cerrados al vacío para procesamiento de muestras sanguíneas.
2. Las muestras fueron centrifugadas a 3500rpm durante 15 minutos para la recolección de plasma y debidamente etiquetadas para ser almacenadas posteriormente en crioviales Eppendorf y congeladas a -80°C en ultracongelador.
3. Los desechos de plasma fueron inactivados con una solución de hipoclorito de sodio al 5% por 30 minutos y se desecharon de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002 utilizando contenedor de polipropileno color rojo.

- Consideraciones éticas

En el presente estudio se respetaron las disposiciones contenidas en el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud que clasifica este tipo de investigación como investigación de riesgo mínimo, así como los principios éticos para la investigación médica en seres humanos numerados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (AMM).

Este proyecto de investigación fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación y el Comité de Investigación del Hospital General “Dr. Miguel Silva” (SSM) y el Comité de Investigación y Ética en Investigación de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la UMSNH



## Definición de variables:

- **Edad:** Tiempo transcurrido desde el nacimiento del individuo hasta el momento del estudio.
- **Sexo:** Condición que distingue de ser hombre o mujer.
- **Talla:** La estatura o talla humana designa la altura de un individuo.
- **Peso:** Es la masa del cuerpo expresada en kilogramos.
- **Presión arterial sistólica:** Valor de la presión arterial cuando el corazón se encuentra en fase sístole (fase de contracción del músculo cardiaco). Su valor normal es entre 90-120 mmHg.
- **Factor von Willebrand:** Es una glicoproteína multimérica sintetizada y almacenada en células endoteliales y plaquetas. El 80% de FvW circulante total es derivado del endotelio FvW por lo que es un biomarcador de daño o disfunción endotelial, el 20% restante reside en las plaquetas circulantes. El intervalo de su concentración en plasma es de 55-136 UI/dL
- **Multímeros del Factor von Willebrand:** El factor von Willebrand circula en el plasma en forma de multímeros variando en tamaño desde 800 a 20,000 KDa, su potencial trombogénico es directamente proporcional al tamaño de sus multímeros, estos se subdividen de acuerdo con el peso molecular (multímeros de bajo, intermedio y alto peso). Cada multímero está compuesto por dímeros y éstos por monómeros; cada monómero posee una serie de dominios que le permiten al FvW interactuar con FVIII, colágeno y glicoproteínas plaquetarias.
- **ADAMTS-13:** Metaloproteasa multidominio que se sintetiza en las células estrelladas del hígado. ADAMTS-13 es secretada en la circulación plasmática de manera constitutiva como enzima activa, regula el tamaño de los multímeros del FvW, generando cambios conformacionales en la estructura del FvW transformándolo de una forma globular a una forma elongada, exponiendo sitios escindibles específicos para que se lleve a cabo la proteólisis. Su concentración en plasma es de 700 ng/ml.
- **IMC:** Es un indicador de la relación entre el peso y la talla del individuo. Se utiliza para clasificar el estado ponderal de una persona en sobrepeso y la obesidad en los adultos, y se calcula a partir de la fórmula: peso (kg)/talla (m<sup>2</sup>). Es la misma medida en ambos sexos y se establece que existe sobrepeso cuando IMC  $\geq$ 25, y obesidad si el IMC  $\geq$ 30.
- **Diabetes:** Enfermedad del metabolismo crónica e irreversible debida a una disminución de la secreción de la hormona insulina o a una deficiencia de su acción y se establece por la presencia de los signos de hiperglucemia y una prueba sanguínea anormal con una glucosa >126 mg/dL y/o hemoglobina glucosilada (HbA1C)  $\geq$  7 mmol/L.
- **Tratamiento:** Dentro del tratamiento de pacientes oncológicos se encuentra la cirugía, quimioterapia y/o radioterapia; dependiendo del estado de cada paciente y el estadio de la neoplasia.





- **Estadio de la neoplasia:** Dependiendo de la, localización, tamaño y afectación de estructuras adyacentes puede clasificarse: Etapa I, el cáncer se encuentra en el pulmón y rodeado de tejido normal. Etapa II, el cáncer ha diseminado a ganglios linfáticos cercanos o puede afectar a la pleura visceral. Se divide en etapa IIA y IIB. Etapa III, el cáncer ha diseminado a los ganglios linfáticos en el mediastino o a los ganglios linfáticos del pulmón contrario o los ganglios del cuello, puede verse afectadas estructuras del tórax como el diafragma, pleura mediastínica o pericardio; también se divide en etapas IIIA y IIIB. Etapa IV, se presencia de metástasis.
- **Tipo de cáncer pulmonar:** La clasificación anatomopatológica aceptada por la Organización Mundial de la Salud divide al cáncer pulmonar en dos grupos: carcinoma no micro celular o cáncer pulmonar de células no pequeñas (CPCNP) y carcinoma pulmonar de células pequeñas (CPCP).
- **Grupo ABO:** Es una clasificación de la sangre de acuerdo con las características presentes en la superficie de los glóbulos rojos y en el suero de la sangre. Los pacientes con tipo sanguíneo O presentan concentraciones plasmáticas disminuidas de FvW.

| Objetivo específico  | Variable de estudio                   | Clasificación de variable | Unidades de medida           |
|--|---------------------------------------|---------------------------|------------------------------|
| Comparar las concentraciones plasmáticas de FvW y ADAMTS-13 entre los grupos de estudio. | Concentración plasmática de FvW       | Cuantitativa<br>Continúa  | UI/dL                        |
|  | Concentración plasmática de ADAMTS-13 | Cuantitativa<br>Continúa  | ng/dL                        |
| Analizar la estructura multimérica del FvW.  | Observación de patrones de bandedo    | Cualitativa<br>Ordinal    | Bajo, Intermedio y Alto peso |

|  |       |                                      |                                 |
|--|-------|--------------------------------------|---------------------------------|
| Analizar la correlación de concentración plasmática y estructura del FvW con marcadores clínicos | Edad  | Cuantitativa<br>Discreta             | Años cumplidos                  |
|  | Sexo  | Cualitativa<br>Nominal<br>Dicotómica | Masculino<br>Femenino           |
|  | Talla | Cuantitativa<br>Discreta             | cm                              |
|  | Peso  | Cuantitativa<br>Discreta             | Kg                              |
|  | IMC   | Cualitativa<br>Ordinal               | Normal<br>Sobrepeso<br>Obesidad |



❖ **Métodos:**

**DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE FvW Y ADAMTS-13.**

- **Determinación de la concentración plasmática de FvW mediante inmunoensayo ligado a enzima (ELISA):** este procedimiento se realizó mediante un kit de ELISA IMUBIND® FvW de BioMEDICA Diagnostics y fue llevado a cabo para cada muestra siguiendo las instrucciones del fabricante:
  1. Reconstituir los estándares de FvW (0.5, 1, 2, 5 y 10 mU/mL) con 1 mL de agua desionizada filtrada y 2 mL para 0 mU/mL
  2. Diluir plasma 1:100 en buffer de muestra (5µL plasma + 495µL buffer de muestra)
  3. Añadir 100µL de estándares y muestras diluidas en cada pozo de acuerdo con el mapa
  4. Incubar 1 hora a T ambiente
  5. Lavar 4 veces con solución de lavado (250µL)
  6. Preparar anticuerpo de detección
  7. Añadir 100µL de anticuerpo de detección diluido en cada pozo
  8. Incubar 1 hora a T ambiente
  9. Lavar 4 veces con solución de lavado (250µL)
  10. Añadir 100µL de sustrato en cada pozo
  11. Incubar 20 minutos T ambiente (azul)
  12. Añadir 50µL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5M en cada pozo (Amarillo)
  13. Leer inmediatamente a 450 nm.
  
- **Determinación de la concentración plasmática de ADAMTS-13 mediante Inmunoensayo ligado a enzima (ELISA):** este procedimiento se realizó mediante un kit de ELISA IMUBIND® ADAMTS-13 de BioMEDICA Diagnostics y fue llevado a cabo para cada muestra siguiendo las instrucciones del fabricante:
  1. Reconstituir el estándar de ADAMTS-13 (100ng/mL) con 0.6mL de buffer de ensayo. Realizar 5 diluciones seriadas (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12 y 0 ng/mL)
  2. Diluir plasma 1:20 en buffer de ensayo (10µL plasma + 190µL buffer de ensayo)
  3. Añadir 100 µL de control positivo y muestras diluidas en cada pozo de acuerdo con el mapa



4. Incubar 1 hora a 37°C
5. Descartar y lavar 4 veces con solución de lavado (200µL)
6. Añadir 100µL de anticuerpo de detección en cada pozo
7. Incubar 30 minutos a T ambiente en agitación (500 rpm)
8. Descartar y lavar 4 veces con solución de lavado (200 µL)
9. Añadir 100 µL de conjugado enzimático en cada pozo
10. Incubar 30 minutos a T ambiente en agitación (500 rpm)
11. Descartar y lavar 4 veces con solución de lavado (200 µL)
12. Añadir 100µL de Sustrato en cada pozo
13. Incubar 5 minutos T ambiente (azul)
14. Añadir 50 µL de solución de paro en cada pozo (Amarillo)
15. Leer a 450 nm dentro de los primeros 10 minutos.

### **WESTERN BLOT PARA ANÁLISIS ESTRUCTURAL DEL FACTOR VON WILLEBRAND.**

- **Electroforesis vertical discontinua en geles de agarosa 1-1.8%:**  
Se utilizó plasma pobre en plaquetas (ppp) obtenido con citrato de sodio al 3.2%, centrifugado a 3500 rpm durante 15 minutos.
  1. Preparar previamente todas las soluciones necesarias
  2. Limpiar los cristales primero con SDS 1% y después con etanol
  3. Ensamblar los cristales en las bases y atemperarlos ligeramente con ventilador
  4. Hacer el gel de corrimiento 1.8% una noche antes del experimento y guardar a -4°C
  5. El día del experimento hacer el gel concentrador 1% (colocar peine)
  6. Preparación de la muestra: (10 µL Azul de bromofenol 3%, 80 µL solución de dilución de la muestra y 20 µL plasma)
  7. Incubar la mezcla en baño maría a 70°C 15 minutos
  8. Montar los cristales en la cámara de electroforesis y llenar el espacio entre ellos con buffer regulador de electroforesis
  9. Colocar 15 µL de muestra preparada en cada pozo
  10. Una vez colocada la muestra, llenar la cámara con buffer regulador de electroforesis, tapar y conectar a la fuente de poder



11. Iniciar corrimiento a 30 V hasta que el frente de corrimiento llegue al final del gel a  $-4^{\circ}\text{C}$  (aproximadamente 10 h)

- **Transferencia en semi-seco:**

12. Preparar previamente todas las soluciones necesarias
13. Desmontar el gel de la cámara de electroforesis
14. Separar y desechar el gel concentrador
15. Hacer una marca en la esquina superior derecha del gel de corrimiento
16. Colocar el gel en buffer de transferencia por 10-20 minutos
17. Recortar la membrana de PVDF (5.2cm X 8cm) y hacer marca en la esquina superior derecha
18. Humedecer la membrana en metanol 5 minutos
19. Colocar la membrana en buffer de transferencia 10 minutos
20. Humedecer papel filtro en buffer de transferencia
21. Armar sándwich: papel filtro, membrana, gel, papel filtro (evitar la formación de burbujas)
22. Transferir a 18 V 1 hora

Consideración: es posible detener el Western blot después de la transferencia guardando la membrana en TBS sin Tween a  $-4^{\circ}\text{C}$  hasta por 72 horas.

- **Bloqueo**

23. Colocar la membrana en solución de bloqueo (10mL de TBS-T 0.15M +0.03 g albúmina)
24. Mantener durante 30 minutos en agitación constante.

- **Inmunodetección y revelado**

25. Incubar con el anticuerpo primario en proporción 1:2000 2 horas a T ambiente en agitación constante
26. Realizar 4 lavados con TBS-T 0.15M 5min c/u con cantidad suficiente para que se tape la membrana
27. Incubar con el anticuerpo secundario en proporción 1:4000 una hora en agitación constante a T ambiente
28. Realizar 4 lavados con TBS-T 0.15M 5 min c/u con cantidad suficiente para que se tape la membrana
29. Preparar el luminol Immuno Cruz de Santa Cruz Biotechnology: 0.5 mL de reactivo 1 + 0.5 mL de reactivo 2
30. Exponer la membrana 10 segundos al luminol preparado
31. Visualizar por quimioluminiscencia.



### ❖ Materiales

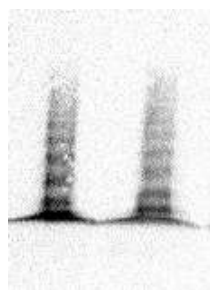
| REACTIVOS                      | DISTRIBUIDOR   |
|--------------------------------|--|
| Ácido sulfúrico,               | J.T.BAKER, Catalogo #9681-02   |
| Agarosa                        | SeaKem® HGT, Lonza, Catalog#50040 125G   |
| Albúmina Sérica Bovina         | Research Organics, Catalog#1331A   |
| Anticuerpo primario            | (anticuerpo de conejo anti-FvW humano Dako Denmark) A0082                      |
| Anticuerpo secundario          | (conjugado de cabra anti IgG de conejo, IgG-HRP peroxidasa Dako Denmark) P0217 |
| Azul de bromofenol             | Sigma-Aldrich  |
| Cloruro de sodio               | J.T.BAKER, Catalog#3624-01   |
| Dodecil Sulfato de Sodio (SDS) | BIO-RAD, Catalog#161-0301  |
| EDTA,                          | J.T.BAKER, Catalog#8993-01   |
| Etanol                         |  |
| Glicina                        | BIO-RAD, Catalog#161-0724  |
| Luminol Immuno Cruz            | Santa Cruz Biotechnology, SC-2048  |
| Metanol                        | J.T. Baker, Cat # 9070-03  |
| Trizma® base                   | Sigma, T6066-500G  |
| Tween® 20                      | BIO-RAD, Cat # 170-6531  |
| Urea                           | Sigma, U5378-500G  |

### ❖ Equipos

|   |
|---|
| Espectrofotómetro de placa para ELISA.                        |
| balanza analítica,  |
| Cámara para electroforesis vertical                           |
| centrífuga.   |
| Equipo de Transferencia en semi-seco                          |
| Fuente de poder (Bio Rad)                                     |
| Jeringa Hamilton 50µL   |
| medidor de pH,  |
| Membranas PVDF  |
| Micropipeta de 5mL  |
| Papel filtro  |
| Ultra congelador Thermo Scientific de -80°C TSX Series (230V) |

## ANÁLISIS DENSITOMÉTRICO DE LA ESTRUCTURA MULTIMÉRICA DEL FvW.

El análisis densitométrico de la estructura multimérica de FvW se realizó mediante los programas ImageJ 1.50b e Image Lab 5.2.1 de BIO-RAD, a través de los cuales se obtuvo una media en unidades arbitrarias de la intensidad de las bandas que componen el patrón de bandeo (Figura 6) y un densitograma representativo del volumen de cada banda que permitió su clasificación en alto/bajo peso molecular que coincide con la distribución multimérica resultante de la movilidad electroforética del patrón de bandeo obtenido mediante western blot (Figura 7).



| File | Edit | Font   | Results |
|------|------|--------|---------|
| 1    | 1332 | 86.432 | 0 223   |

Figura 6: Media densitométrica obtenida por medio de ImageJ. Selección del patrón de bandeo para analizar (izquierda). Tabla de análisis por patrón (derecha).

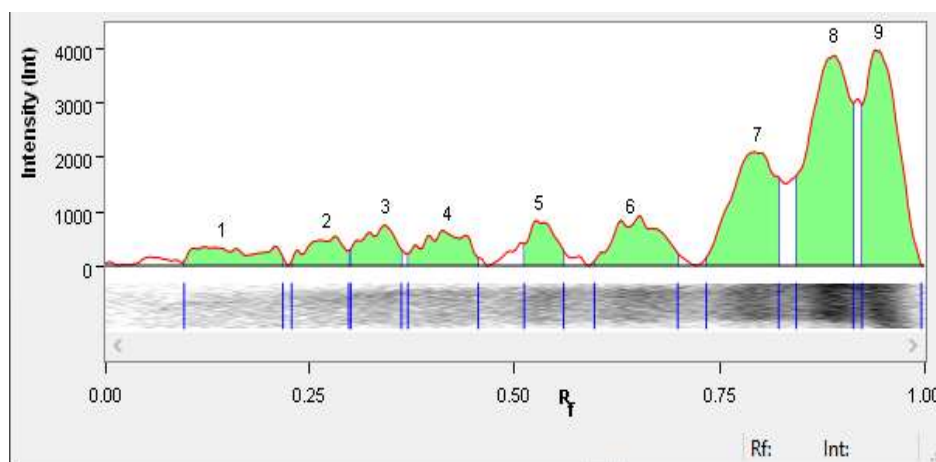
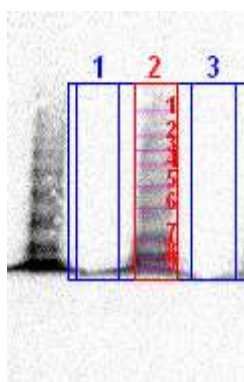


Figura 7: Detección de bandas (izquierda) y creación de densitogramas por medio de Image Lab (derecha).



## **PROCESAMIENTO DE DATOS**

Los datos obtenidos de la historia clínica, parámetros de laboratorio, concentraciones plasmáticas (FvW, ADAMTS-13) y distribución multimérica del FvW se documentaron en una base de datos, donde se utilizó el programa SPSS software versión 22 para análisis estadístico y descriptivo.

### **Análisis Estadístico**

- Se realizó estadística descriptiva utilizando medidas de tendencia central (media) y de dispersión (desviación estándar).
- Se realizó la prueba de Shapiro- Wilk para evaluar la normalidad de los datos y la prueba de Levine para la homocedasticidad de la varianza y de acuerdo con su comportamiento las variables cuantitativas se reportaron con medias y desviación estándar, por su parte las variables cualitativas se reportaron con frecuencias y porcentajes.
- Para el análisis de las variables clínicas y bioquímicas, el análisis densitométrico de la estructura multimérica de FvW así como sus concentraciones plasmáticas FvW/ ADAMTS-13 entre grupos se realizó ANOVA de una vía con post hoc Tukey o Kruskal Wallis para muestras independientes de acuerdo a la normalidad de los datos
- Para estimar la asociación del análisis densitométrico de la estructura multimérica y las concentraciones de FvW/ADAMTS-13 con variables clínicas y bioquímicas se realizó correlación de Pearson y Spearman.



## 8. RESULTADOS

Se revisó la base de datos del Centro Estatal de Atención Oncológica del Estado de Michoacán (CEAO), obteniendo 232 expedientes de pacientes con cáncer de pulmón registrados en un periodo comprendido entre enero de 2015 a marzo de 2020; de los cuales se llevó a cabo la revisión expedientes, tomando en cuenta aquellos casos con diagnóstico confirmado por imagen, biopsia o marcadores clínicos y que cumplieran con los criterios de inclusión antes mencionados. De lo anterior se incluyeron un total de 8 pacientes con cáncer de pulmón para el estudio.

Para la integración de los pacientes con COVID-19 se revisaron las bases de datos del Hospital General “Dr. Miguel Silva”, de los 398 expedientes de pacientes registrados; se consideraron los casos con diagnóstico confirmado por prueba de RT-PCR positiva, imagen o marcadores clínicos y que cumplieran con los criterios de inclusión, reclutando un total de 25 pacientes.

Para el grupo control se consideraron aquellos sujetos aparentemente sanos pareados por edad +/- 3 años y género, que cumplieran con los criterios de inclusión y obtuvieran valores normales en biomarcadores clínicos (química sanguínea de 6 elementos y biometría hemática).

De acuerdo lo anterior, se incluyeron un total de 49 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión en este estudio distribuidos en los siguientes 3 grupos (figura 8):

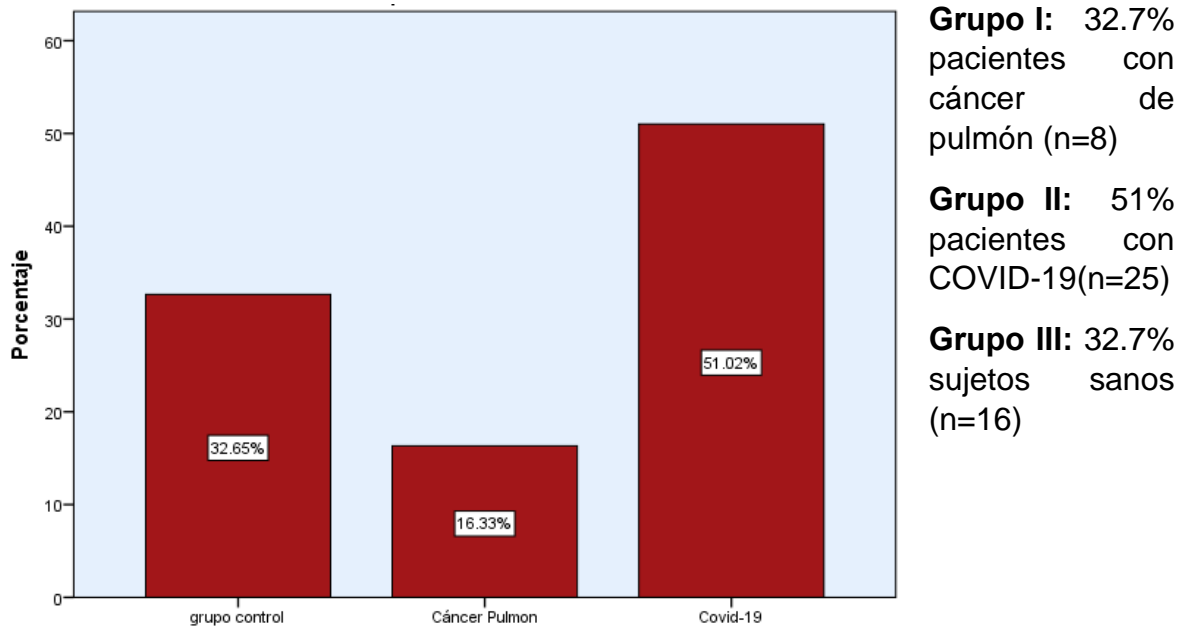


Figura 8: Gráfico de distribución de acuerdo con el grupo.





El total de los participantes incluidos en el estudio mostró predominio por el género masculino con un 61.2% mientras que el 38.8% corresponde al género femenino, como se muestra en la Figura 9, con una edad promedio de 52 años obteniendo un valor mínimo de 23 y un máximo de 76 años.

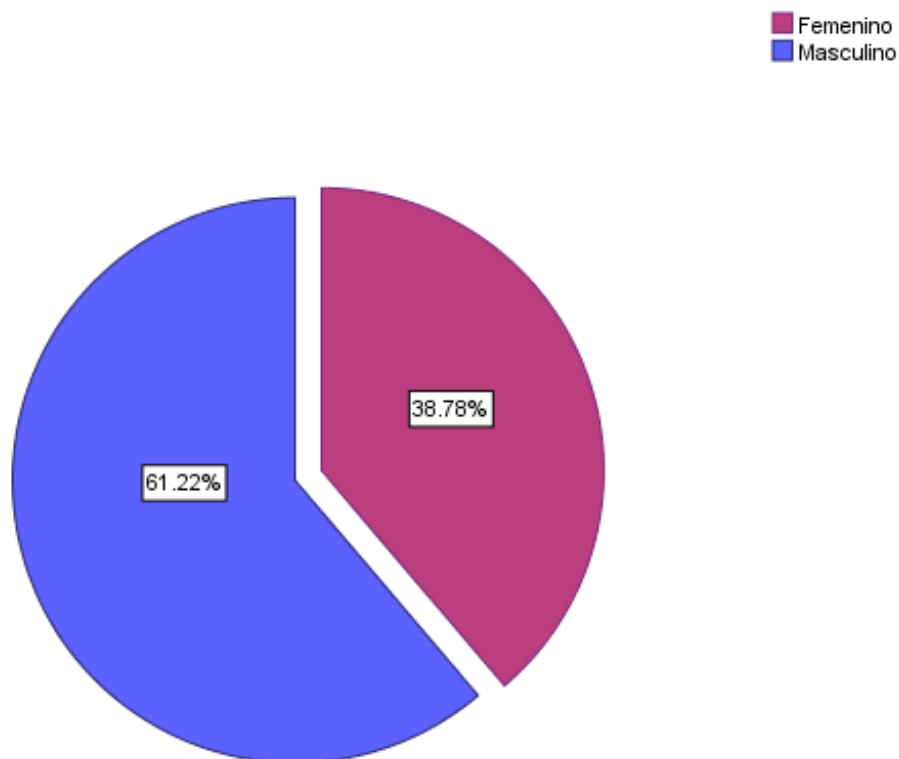


Figura 9: Gráfico de sectores que muestra la distribución de la población total de acuerdo con el género.

Las características demográficas por grupo de los pacientes incluidos en el estudio se encuentran distribuidas en la siguiente tabla 5:

**Tabla 5: Comorbilidades asociadas por grupo de estudio.**

| Variable   | Cáncer Pulmón (n=8) | COVID-19 (n=25) |
|------------|---------------------|-----------------|
| DM         | 5 (62.5%)           | 12 (48%)        |
| HAS        | 2 (25%)             | 6 (24%)         |
| Tabaquismo | 5 (62.5%)           | 3 (12%)         |
| Obesidad   | 1 (12.5%)           | 4 (16%)         |

HAS: hipertensión arterial sistémica. DM: diabetes mellitus.



Diabetes mellitus se posicionó como la comorbilidad más frecuente en los pacientes del estudio, seguido por un sobrepeso/ obesidad y dejando en último lugar hipertensión y tabaquismo respectivamente (figura 10).

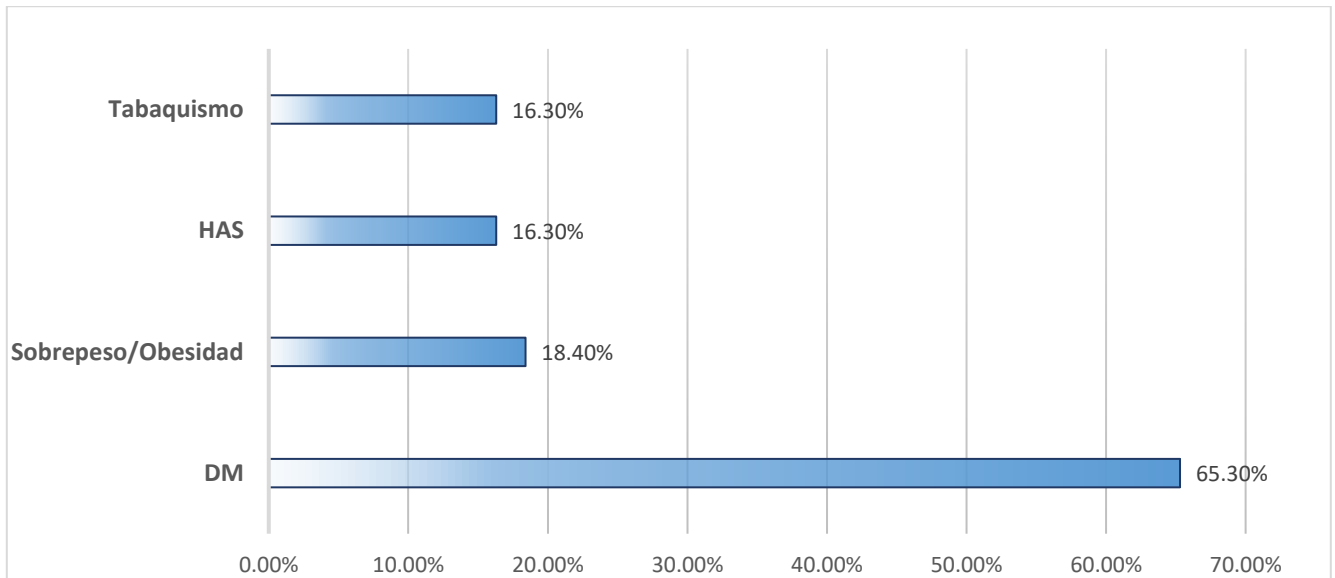


Figura 10: Descripción gráfica de las comorbilidades asociadas de todos los pacientes incluidos en el estudio.

La asociación del cáncer pulmonar con el tabaquismo en nuestro grupo de estudio existe con un 62.5%, mientras que los No Fumadores representan el 37.5% como se muestra en la figura 11.

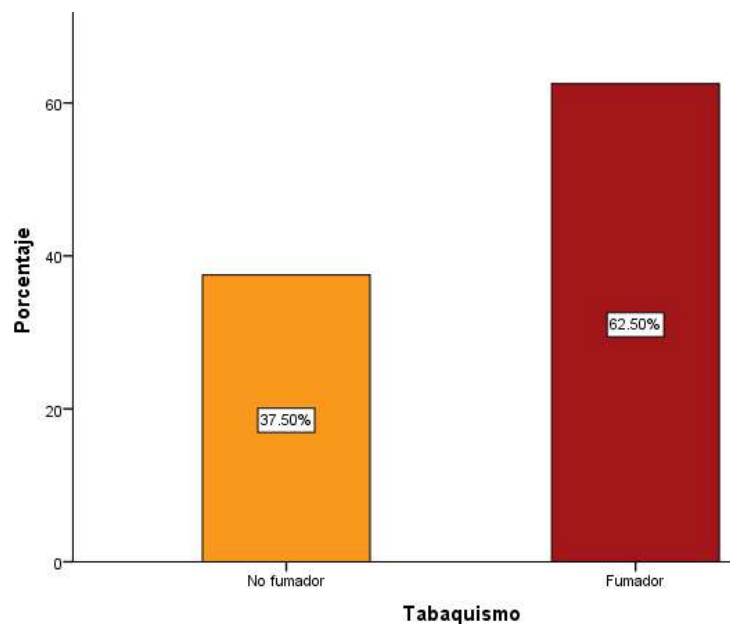


Figura 11: Gráfico comparativo entre la población de estudio de acuerdo con el tabaquismo.



En la tabla 6 se encuentran expresadas las variables bioquímicas de acuerdo con el grupo de estudio y sus valores de referencia.

**Tabla 6: Características bioquímicas.**

| Variable                         | Grupo control   | Cáncer pulmón | COVID-19      | REFERENCIA                    |
|----------------------------------|-----------------|---------------|---------------|-------------------------------|
| <b>Leucocitos (Leucocitos/L)</b> | 5.99 ± 1.41     | 7.31±2.30     | 11.08±6.05    | 5-10 10 <sup>3</sup> /uL      |
| <b>Plaquetas (Plaquetas/L)</b>   | 245.54 ± 77.81  | 280.13±122.63 | 294.36 ±78.53 | 150 – 400 10 <sup>3</sup> /uL |
| <b>VPM (fL)</b>                  | 8.80 ± 1.77     | 10.03±0.47    | 13.92± 16.28  | 7.5- 10 fL                    |
| <b>Hematocrito (%)</b>           | 42.75 ± 5.48    | 37.23±7.69    | 40.71 ±4.79   | 36 – 48 %                     |
| <b>Neutrófilos (%)</b>           | 56.08±8.52      | 72.20±5.67    | 79.48±8.38    | 40-60%                        |
| <b>Glucosa (mg/dL)</b>           | 90.36±6.65      | 101.67±38.63  | 102.92±75.0   | 70-110 mg/dL                  |
| <b>Colesterol (mg/dL)</b>        | 160.818 ± 45.11 | 232.70±       | 136.971 ±75.0 | 125-200 mg/dL                 |
| <b>Triglicéridos (mg/dL)</b>     | 129.14 ± 45.96  | 141.6±        | 272.50±87.89  | 150-199 mg/dL                 |

Datos expresados en media ± desviación estándar. **VPM**: Volumen Plaquetario Medio. **mg**: Miligramos. **dL**: Decilitro. **%**: Porcentaje. **µL**: microlitro. **fL**: Femtolitros

Para la comparación entre las variables bioquímicas se analizaron ANOVA de una vía con prueba post hoc Tukey y prueba de Kruskal-wallis para muestras independientes tomando una significancia de p≤0.05



Se observaron diferencias en las variables bioquímicas entre los grupos de estudio:

Con respecto al conteo leucocitario, el grupo de pacientes COVID-19 mostró un incremento significativo en comparación al grupo control ( $p= 0.006$ )(Figura 12).

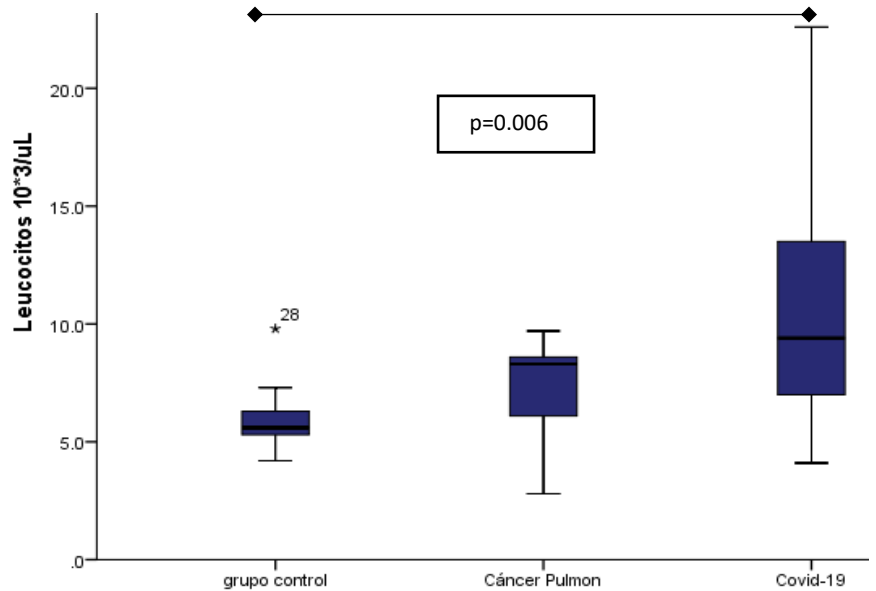


Figura 12: Diferencias en la cuenta de leucocitos entre grupos de estudio.

La neutrofilia (figura 13) mostró una relación estadísticamente significativa entre el grupo control y cáncer de pulmón / COVID-19 respectivamente ( $p=0.00$ ).

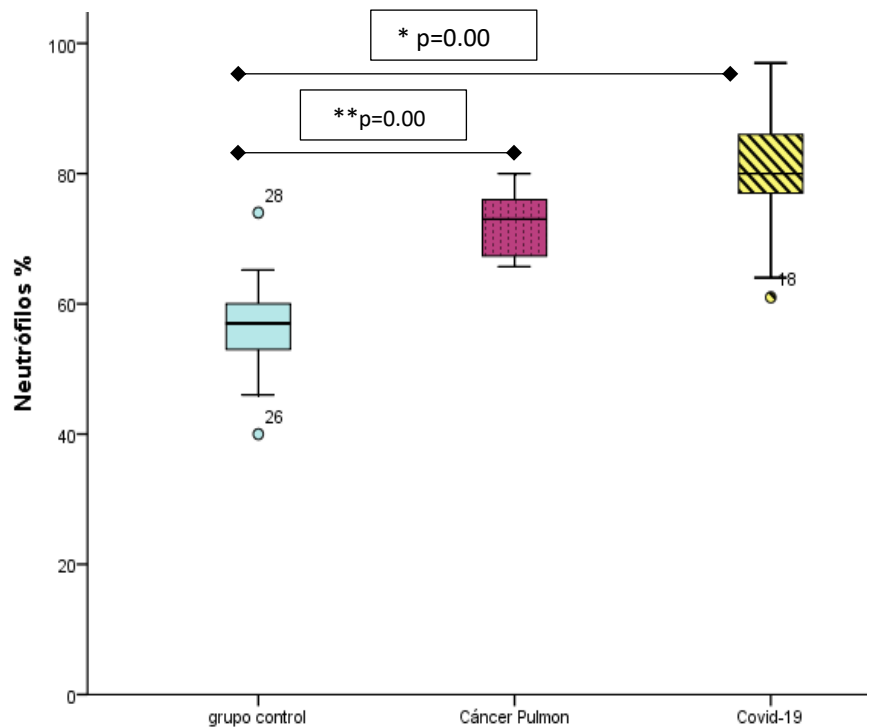


Figura 13: Conteo de neutrófilos entre grupos de estudio.



Incremento en la activación plaquetaria en pacientes con COVID-19 ( $p=0.000$ ). Entre el grupo control y cáncer de pulmón no se encontró diferencia estadísticamente significativa; sin embargo, existe una tendencia visible entre grupos (figura 14).

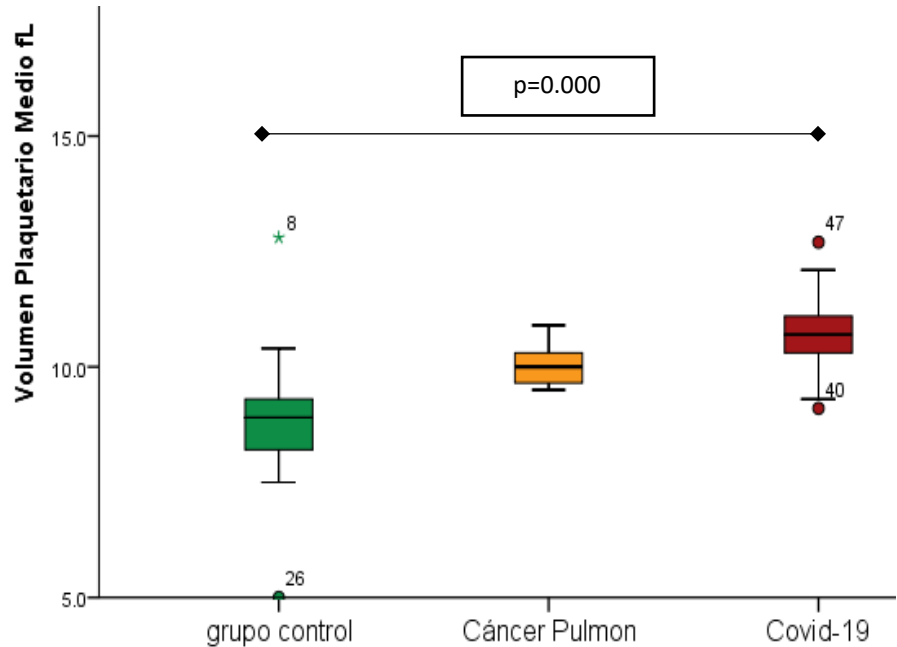


Figura 14: Gráfico comparativo del VPM entre los grupos de estudio.

Se mostró diferencias significativas entre el grupo control comparado al grupo COVID-19 en los niveles basales de glucosa ( $p=0.016$ ) (Figura15).

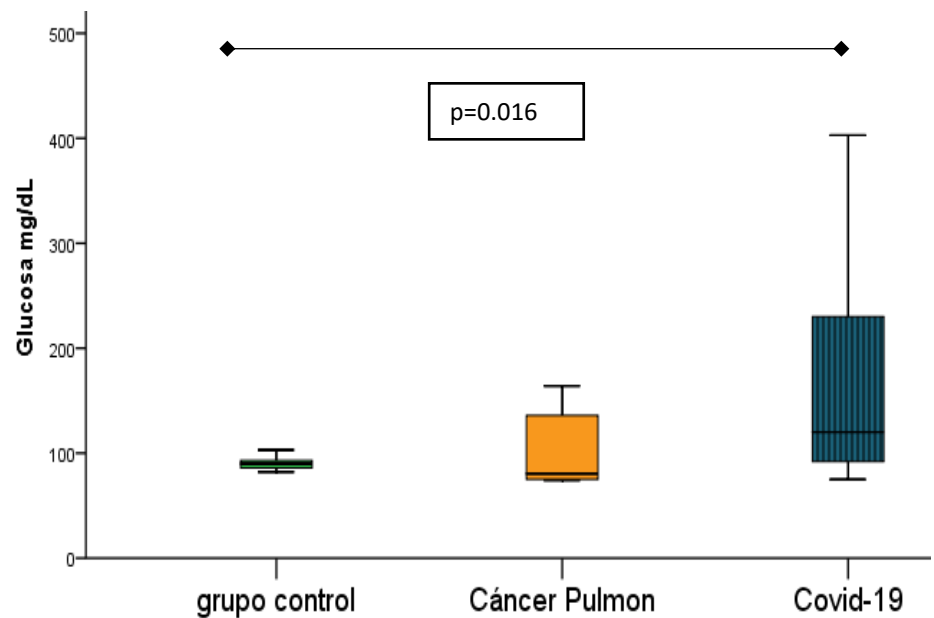


Figura 15: Gráfico comparativo de la concentración de glucosa entre los grupos de estudio.

El 25% de los pacientes con cáncer de pulmón tuvieron presencia de metástasis a distancia en comparación con el 75% que permanecen con una neoplasia localizada (figura 16). Sin embargo, un 50% presentaba derrame pleural y se encontraba sin tratamiento oncológico al momento de la toma de muestra, tan sólo el 28.6% tenía sonda o catéter.

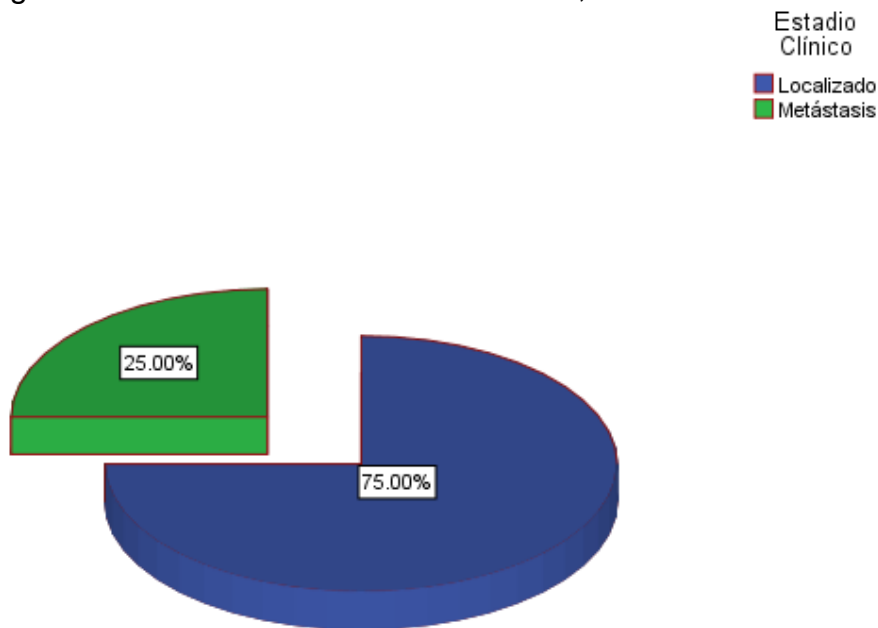


Figura 16: Gráfico comparativo entre el cáncer pulmonar localizado y metastásico.

El 64.29 % de los pacientes con COVID-19 se clasificó como caso grave, el 14.29% se dio de alta por mejoría y el 21.43% se reportó como defunción (figura 17).

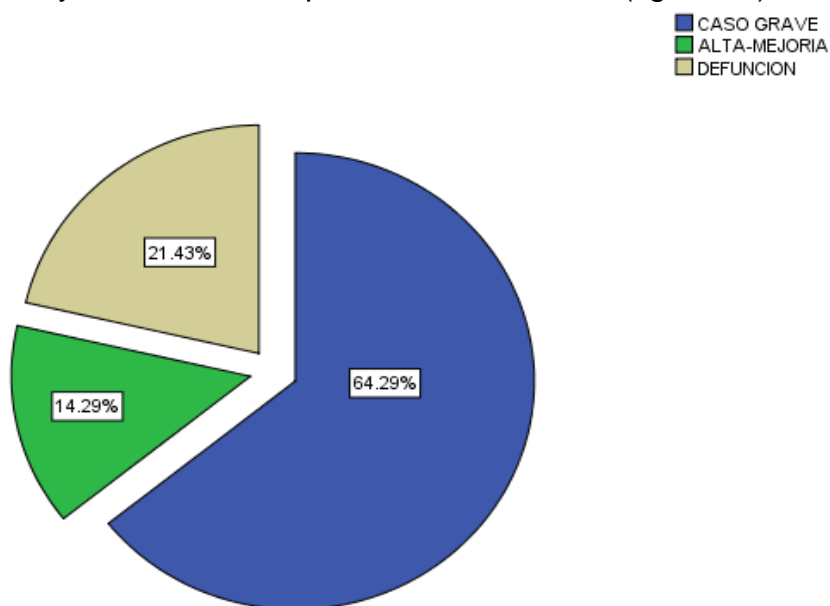


Figura 17: Clasificación por gravedad de los pacientes con SARS-CoV-2.



### Análisis de la concentración plasmática de FvW.

Se observó un incremento en las concentraciones plasmáticas de FvW de los grupos cáncer de pulmón y COVID-19 en comparación al grupo control (Tabla 7, Figura 18).

**Tabla 7: Concentraciones plasmáticas FvW UI/dL entre grupos de estudio.**

| Grupo de estudio | Media  | Máximo | Mínimo | DE    |
|------------------|--------|--------|--------|-------|
| <b>Control</b>   | 97.17  | 139.08 | 31.29  | 30.36 |
| <b>CP</b>        | 135.39 | 160.30 | 114.80 | 16.85 |
| <b>COVID-19</b>  | 153.35 | 212.25 | 111.40 | 20.40 |

CP: Cáncer de pulmón. DE: Desviación estándar.

Se utilizó prueba de ANOVA de una vía post hoc Tukey para analizar las diferencias entre grupo, considerando una significancia de  $p \leq 0.05$ .

El análisis estadístico mostró una diferencia significativa entre el grupo control/cáncer de pulmón de  $p=0.002$  y grupo control/COVID-19 de  $p=0.000$ .

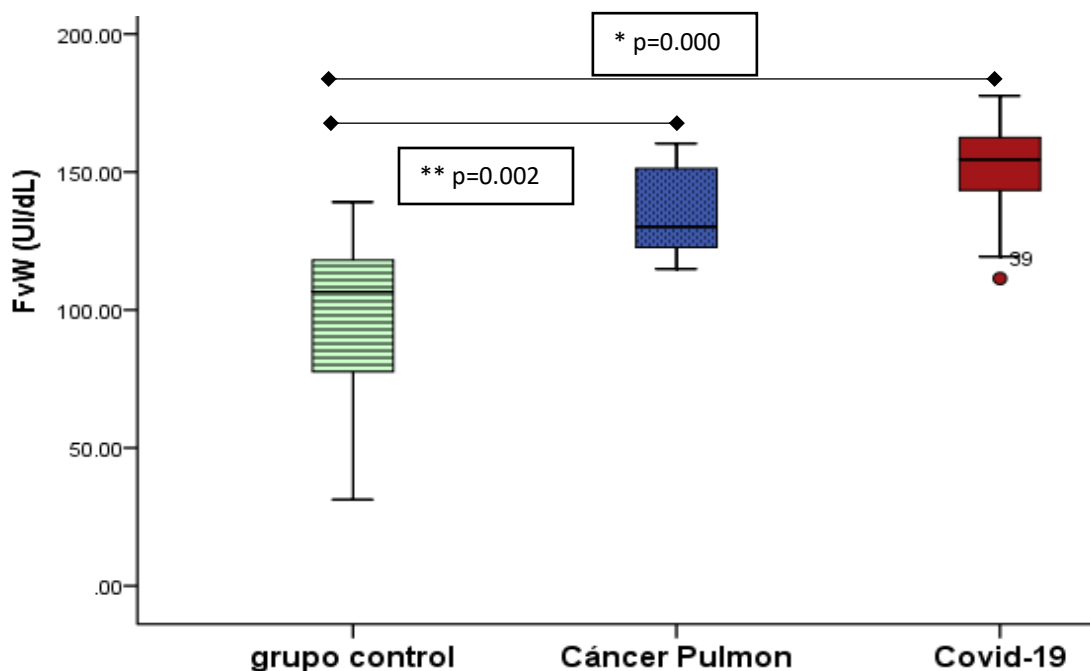


Figura 18: Gráfico comparativo de las concentraciones plasmáticas de FvW entre los grupos de estudio.



### Análisis de la estructura multimérica de FvW.

Se observó un incremento en la composición multimérica del FvW evaluada mediante análisis densitométrico en AU de los grupos de estudio en comparación al grupo control (Tabla 8, Figura 19).

**Tabla 8: Análisis densitométrico de la estructura multimérica de FvW en unidades arbitrarias (UA).**

| Grupo de estudio | Control | Cáncer pulmón | COVID-19 |
|------------------|---------|---------------|----------|
| Media            | 60.35   | 100.17        | 106.37   |
| Máximo           | 68.50   | 143.99        | 144.13   |
| Mínimo           | 47.71   | 62.49         | 77.94    |
| DE               | ± 7.65  | ±28.70        | ±20.00   |

Datos expresados en **UA (unidades arbitrarias)**. **DE**: Desviación estándar.

La prueba ANOVA de una vía post hoc Tukey, muestra una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control/cáncer pulmón ( $p=0.006$ ) y grupo control/COVID -19 ( $p=0.001$ ). Significancia de  $p\leq 0.005$ .

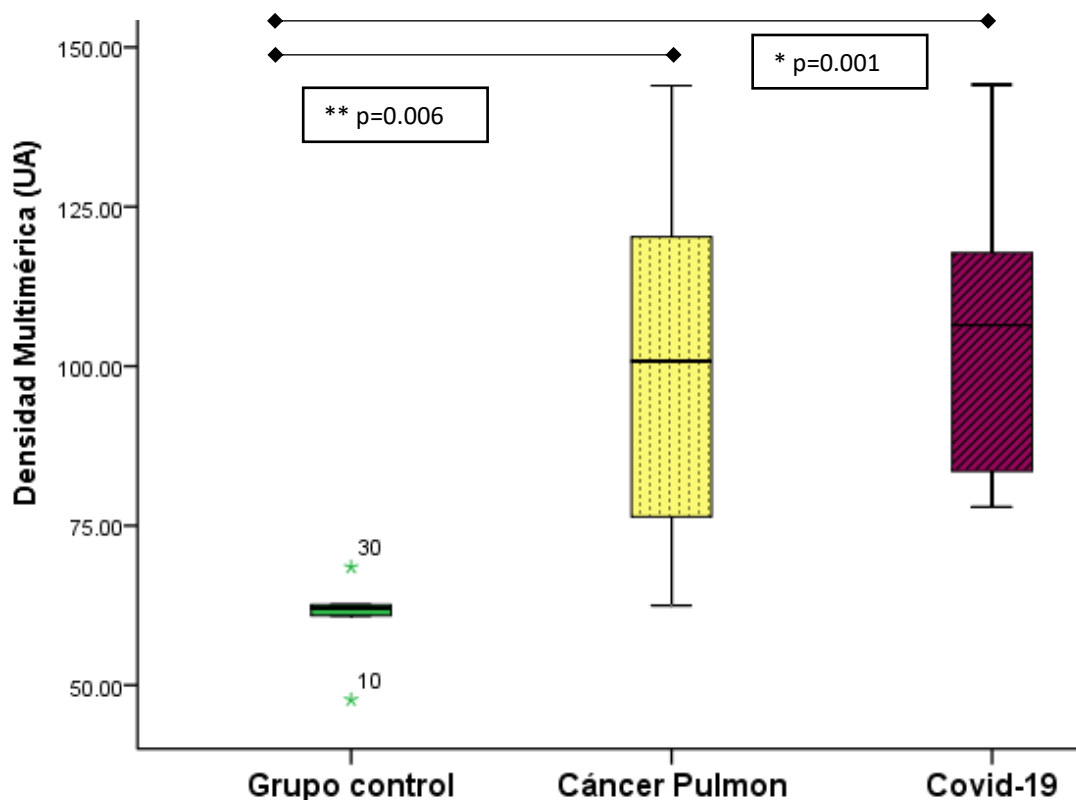


Figura 19: Gráfico comparativo del análisis densitométrico de FvW entre los grupos de estudio.





El análisis densitométrico se realiza sobre patrones multiméricos de FvW obtenidos en condiciones no desnaturalizantes, mediante Western blot con una carga electroforética correspondiente al volumen determinado por las concentraciones plasmáticas obtenidas por técnica de ELISA.

Se realizó el cálculo considerando:

**110 µL** Volumen total utilizado en la preparación de la muestra en electroforesis de FvW.

**20 µL** Cantidad de plasma utilizado en el volumen total de la preparación de la muestra por paciente con [x] FvW UI/dL.

[ ] = Concentración

$$[X] \text{ FvW UI / 1dL} = [X] \text{ FvW UI / 100 000 } \mu\text{L}$$

$$\frac{([\text{Concentración de FvW obtenida por ELISA UI}] * (20\mu\text{L}))}{100\,000\mu\text{L}} = [\text{Y}] \text{ FvW presente en la preparación total de la muestra}$$

$$\frac{([\text{Y}] \text{ FvW UI presente en la preparación total de la muestra})(15\mu\text{L})}{110\mu\text{L}} = [\text{Z}] \text{ FvW UI en los 15}\mu\text{L utilizados en la obtención de patrones de bandeó}$$

$$\frac{(\text{FvW UI}) * (15)}{[\text{Z}] \text{ FvW UI}} = \text{Cantidad en } \mu\text{L a cargar en electroforesis con UI de FvW}$$

Para la determinación de la carga electroforética, a partir de la concentración plasmática determinada por ELISA se calculó una media por grupo de UI FvW obteniendo para el grupo de cáncer pulmonar de 0.0030 UI FvW y para el grupo COVID-19 de 0.0037 UI FvW.

Se analizaron muestras de un paciente con Púrpura Trombocitopénica (PT) como control positivo de estructuras de elevado peso molecular, así como un pool de 10 sujetos aparentemente sanos como control negativo (Figura 20). En el paciente con PT se observó una marcada presencia de estructuras de alto peso molecular (MAPM) como se observa en la figura 21.

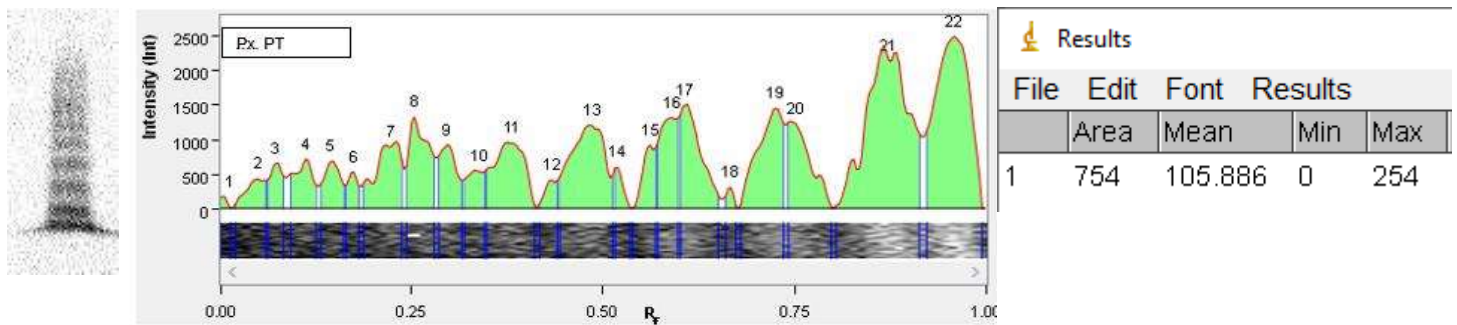


Figura 20: Análisis densitométrico de la estructura multimérica del FvW de un paciente con Púrpura trombocitopénica trombótica donde predomina la presencia marcada de estructuras de alto peso (MAPM).

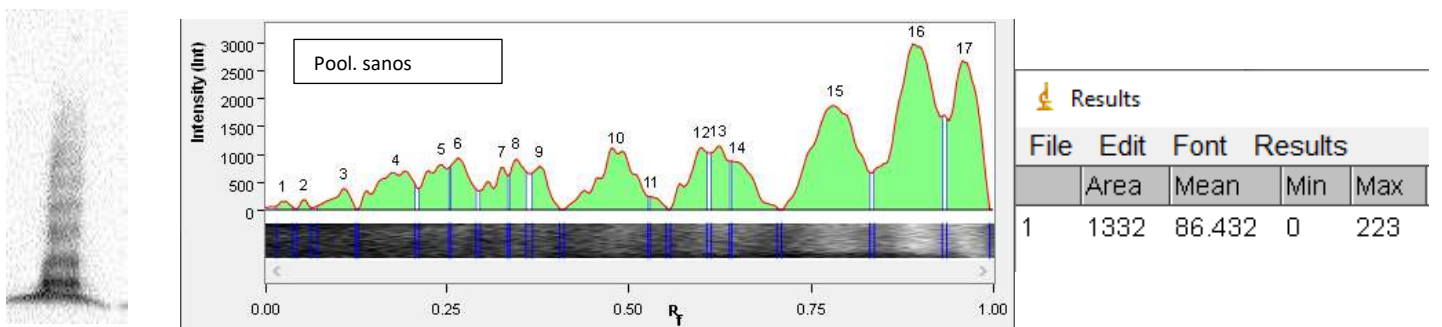


Figura 21: Análisis densitométrico de la estructura multimérica del FvW donde existe una distribución multimérica normal en sujetos aparentemente sanos.

En los grupos de estudio cáncer de pulmón y COVID-19 se observó una marcada presencia de estructuras de alto peso molecular (MAPM) en comparación al grupo control, siendo predominantes en el grupo con COVID-19.

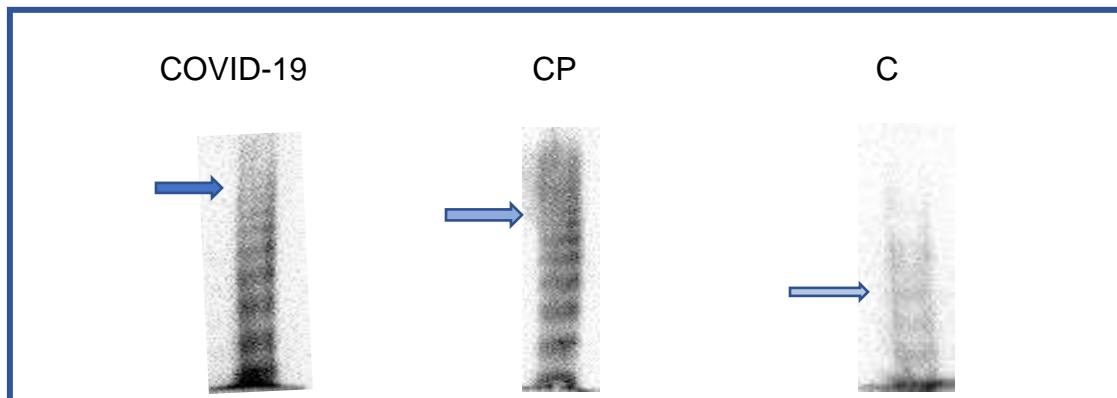


Figura 22: Comparativa de los patrones de bandeo obtenidos por grupo de estudio.

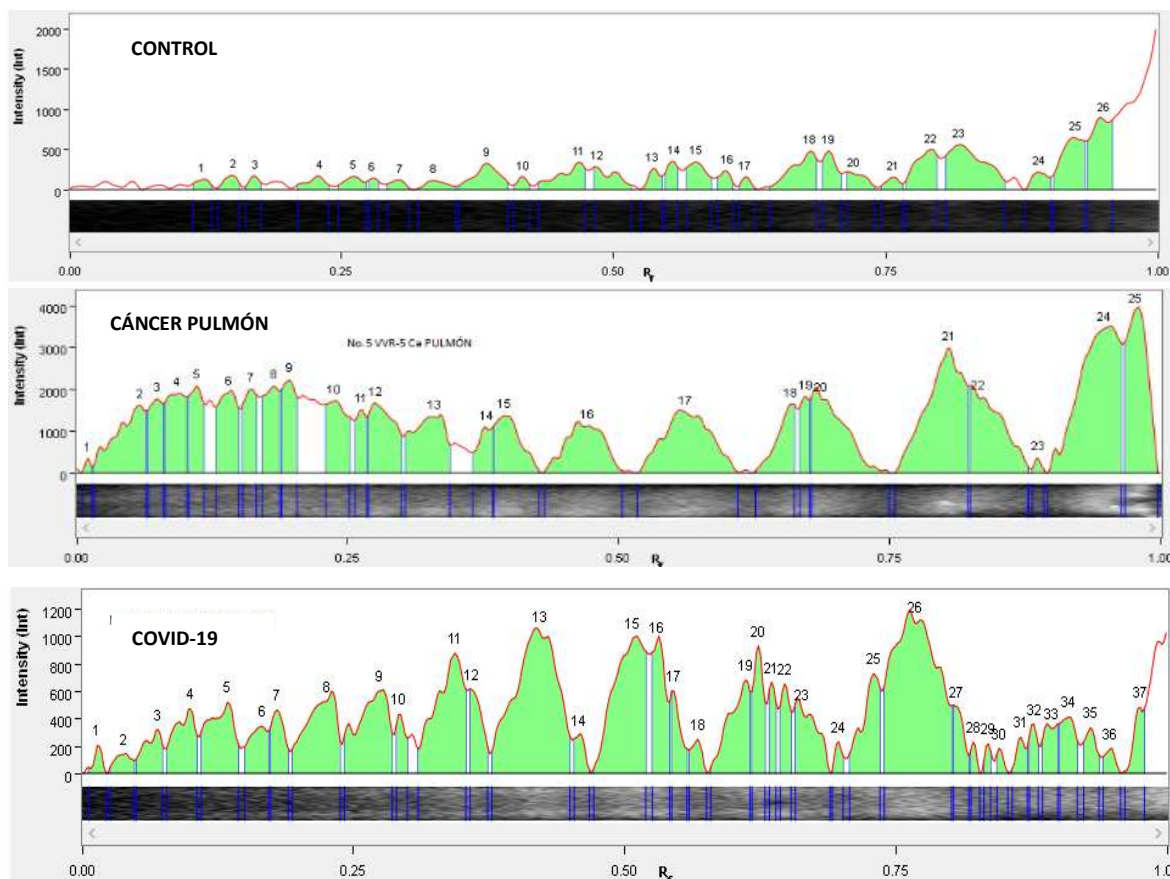


Figura 23: Análisis densitométrico de la estructura multimérica del FvW por grupo de estudio.



### Análisis de la concentración plasmática de ADAMTS-13.

Se observó una disminución en las concentraciones plasmáticas de ADAMTS-13 en los grupos cáncer de pulmón y COVID-19 comparados al grupo control (Tabla 9, Figura 24).

**Tabla 9: Concentraciones plasmáticas ADAMTS-13 entre los grupos de estudio expresados en ng/mL.**

| Grupo de estudio | Media  | Máximo | Mínimo | DE     |
|------------------|--------|--------|--------|--------|
| <b>Control</b>   | 747.41 | 832.71 | 662.12 | 160.07 |
| <b>CP</b>        | 592.12 | 785.80 | 256.80 | 189.59 |
| <b>COVID-19</b>  | 553.66 | 998.40 | 143.00 | 199.91 |

CP: Cáncer de pulmón. DE: Desviación estándar.

Se utilizó prueba de ANOVA de una vía post hoc Tukey para analizar las diferencias entre grupo, considerando una significancia de  $p \leq 0.05$ .

El análisis estadístico mostró una diferencia significativa entre el grupo control/COVID-19 de  $p=0.006$

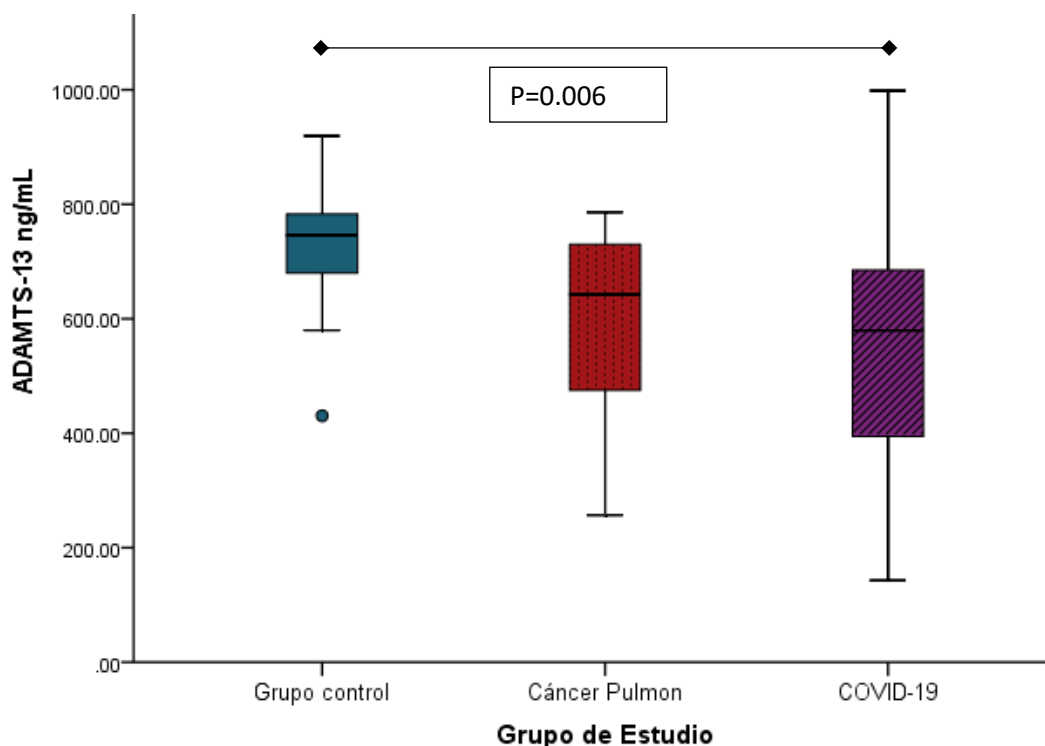


Figura 24: Gráfico comparativo entre las concentraciones plasmáticas de ADAMTS-13 entre los grupos de estudio.



### Índice FvW / ADAMTS-13.

El ratio FvW/ADAMTS-13 mostró una diferencia entre el grupo control al grupo de pacientes con COVID-19 con una  $p=0.000$  (Tabla 10), en comparación al grupo de cáncer de pulmón no se mostró significancia estadística sin embargo muestra una tendencia graficada en la figura 25.

**Tabla 10: Análisis del índice FvW / ADAMTS-13 entre grupos de estudio.**

| Grupo Control             | Cáncer Pulmón             | COVID-19                  |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 0.135<br>(DE $\pm$ 0.054) | 0.255<br>(DE $\pm$ 0.103) | 0.328<br>(DE $\pm$ 0.189) |

Datos expresados en mediana. **DE**: Desviación estándar.

Se utilizó prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes para obtener la significancia y la prueba ANOVA de una vía post hoc Tukey para observar una aproximación en las diferencias entre grupo. Significancia de  $p \leq 0.05$ .

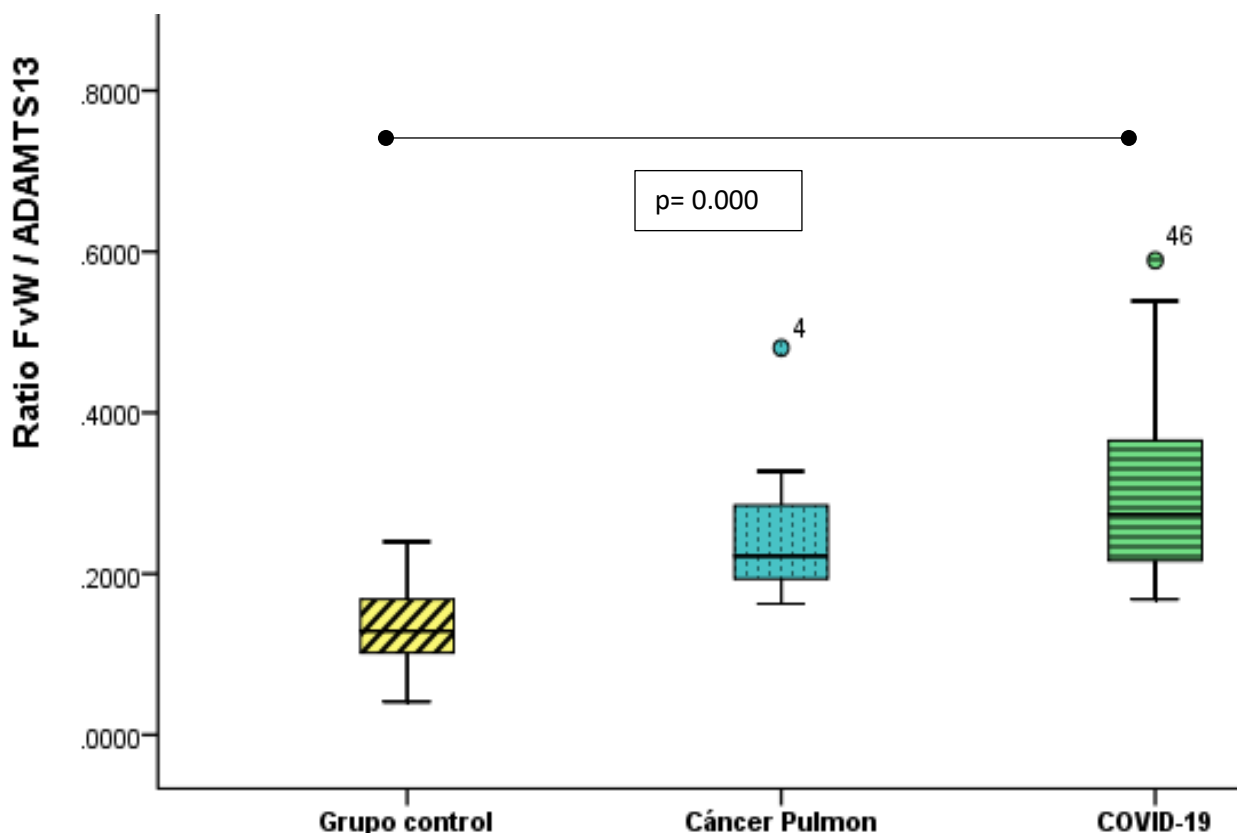


Figura 25: Ratio FvW / ADAMTS-13.



### Correlación de la concentración plasmática y composición multimérica con biomarcadores clínicos.

Se observó asociación de disfunción endotelial y riesgo trombótico en pacientes con cáncer pulmonar y COVID-19 (Tabla 11). Las estructuras multiméricas de alto peso molecular incrementan con las concentraciones elevadas de FvW (figura 26), las concentraciones plasmáticas de FvW se elevan con activación plaquetaria (figura 27). La neutrofilia se relaciona con concentraciones plasmáticas elevadas de FvW (figura 28) y activación plaquetaria (figura 29) observando una asociación de disfunción endotelial y riesgo trombótico.

**Tabla 11: Correlaciones entre FvW, densidad multimérica, Neutrófilos % y VPM.**

|                      | FvW UI       | Densidad Multimérica | Neutrófilos % | VPM fL     |
|----------------------|--------------|----------------------|---------------|------------|
|                      | <b>P</b>     | <b>Rho</b>           | <b>P</b>      | <b>Rho</b> |
| FvW                  | --           | --                   | <b>0.000</b>  | 0.664      |
| Densidad Multimérica | <b>0.000</b> | 0.664                | --            | --         |
| Neutrófilos %        | <b>0.000</b> | *0.715               | <b>0.018</b>  | *0.443     |
| VPM                  | <b>0.000</b> | *0.528               | 0.529         | 0.122      |
|                      |              |                      | <b>0.000*</b> | *0.615     |
|                      |              |                      | --            | --         |

**FvW:** Factor von Willebrand **VPM:** Volumen plaquetario medio.

**Rho:** Coeficiente de correlación Spearman. \*: Coeficiente de correlación de Pearson. Significancia de  $p \leq 0.05$ .

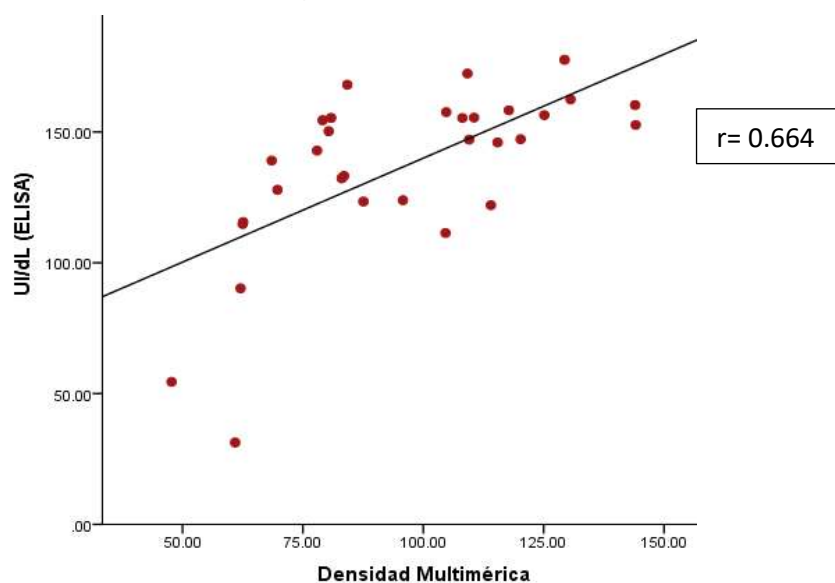
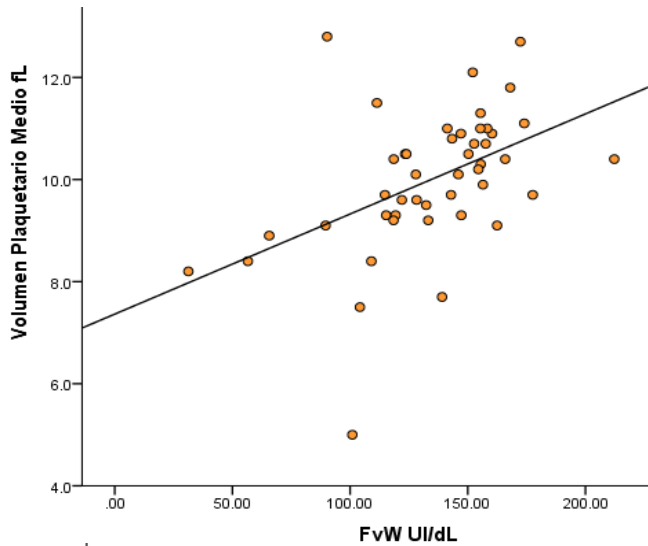


Figura 26: Asociación entre las concentraciones plasmáticas y las estructuras multiméricas del FvW.

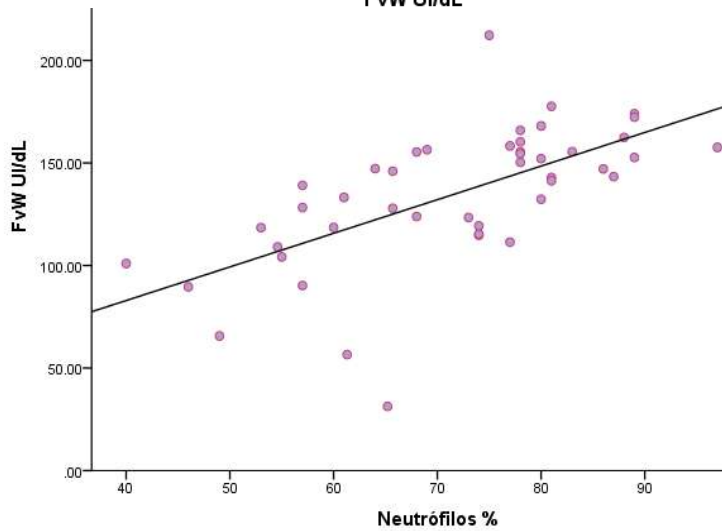


Asociación de disfunción endotelial con incremento de concentración plasmática de FvW, activación plaquetaria y neutrofilia.



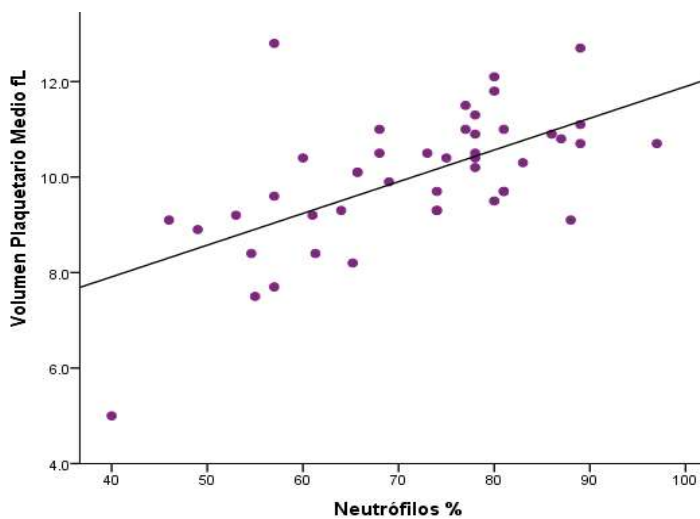
$r=0.528$

Figura 27: Asociación de las concentraciones plasmáticas de FvW con activación plaquetaria.



$r=0.715$

Figura 28: Asociación de las concentraciones plasmáticas de FvW con el conteo de neutrófilos.



$r=0.615$

Figura 29: Asociación entre la activación plaquetaria y el incremento de neutrófilos.



## 9. DISCUSIÓN

En los pacientes con cáncer de pulmón la distribución por sexo mostró un predominio masculino lo que corresponde a lo descrito por Kajatt en 2013; sin embargo, es importante mencionar que en los últimos años se ha registrado un aumento en el número de casos en mujeres debido a la exposición por contaminantes u otros factores de riesgo como el tabaquismo. La edad media al diagnóstico fue de 52 años, dicha cifra respalda los datos obtenidos de la literatura manteniendo que la edad más frecuente se encuentra entre los 50 y 60 años (33). Para el grupo COVID-19, el sexo masculino predominó también con un mayor número de casos, lo cual concuerda con la literatura internacional; esto posiblemente debido a factores genéticos o bien a las vías biológicas relacionadas con la infección por SARS-CoV-2 (73). Las diferencias inmunológicas sugieren que las mujeres desarrollan una respuesta inmune innata rápida y agresiva con mayor producción de células T, mientras que en los hombres se muestra una respuesta antiviral atenuada que podría estar asociada a una mayor susceptibilidad a la enzima convertidora de angiotensina-2 (ACE2), así como niveles plasmáticos más altos de citocinas proinflamatorias (IL-8 e IL-18) (74).

Dentro de las comorbilidades asociadas, Diabetes mellitus se posicionó como la patología más frecuente en los grupos con cáncer pulmonar y COVID-19, representando el 65.3%, lo que corresponde a estadísticas nacionales sobre el impacto de esta comorbilidad en ambas patologías (75). Por su parte hipertensión y sobrepeso/obesidad representaron el 34.7% del total de los pacientes incluidos en el estudio, estas comorbilidades se encuentran relacionadas con mayor riesgo trombótico (76).

La asociación del cáncer pulmonar con el tabaquismo se cumple en nuestro grupo de estudio con un 62.5% perteneciente a los pacientes diagnosticados, lo que relaciona el consumo del tabaco como uno de los principales factores de riesgo asociados a esta neoplasia (CP) (77). La presencia de metástasis a distancia es menor comparada con una neoplasia pulmonar localizada dentro del grupo de estudio. Sin embargo, la presencia de derrame pleural demuestra que los pacientes manifestaban complicaciones relacionadas a estadios superiores a IIB lo cual se ha relacionado a un mal pronóstico (78).

En cuanto a los parámetros bioquímicos, las concentraciones de glucosa muestran una correlación en los pacientes con infección por SARS-Cov-2 mostrando diferencia significativa en comparación al grupo control. Aunque el impacto de este biomarcador aún no está ampliamente descrito, algunos estudios han encontrado una asociación entre los niveles de glucosa controlados con menor mortalidad. Entonces, un incremento en los índices de este biomarcador puede estar asociado a mal pronóstico en la progresión de la enfermedad (79).





La cuenta de leucocitos se encontró incrementada en el grupo COVID-19. Se ha descrito que las formas leves y graves de la infección por SARS-CoV-2 provocan alteraciones en la cuenta de leucocitos circulantes; incluso se ha mencionado que los niveles de estos se incrementan a medida que avanza la enfermedad, como parte del mecanismo de inmunidad contra la infección viral (80). En contraste, el grupo de pacientes con cáncer de pulmón mantuvo la cuenta de leucocitos en parámetros normales que puede deberse a un síndrome paraneoplásico como consecuencia secundaria al tratamiento oncológico (81).

La neutrofilia mostró un incremento interesante en los grupos de cáncer de pulmón y COVID-19 con respecto al grupo control, indicando un incremento que puede favorecer un estado protrombótico relacionado a trampas extracelulares de neutrófilos (NETs). Estas tienen el potencial de propagar la inflamación además de participar en la formación de trombos que favorezcan la oclusión de la microvasculatura o incluso venas y arterias; por lo anterior, la neutrofilia se ha convertido en un importante marcador en el curso de estas patologías pulmonares (82).

El recuento de plaquetas estuvo dentro de los parámetros normales en los tres grupos de estudio; sin embargo, se encontró un incremento en el volumen plaquetario medio (VPM) en el grupo con COVID-19, el cual es un importante marcador de activación plaquetaria, dado que las plaquetas son las principales células efectoras de la hemostasia y tienen una activa participación en la trombosis; el incremento en su activación se relaciona con una respuesta exacerbada de la coagulación, asociada al progreso de la infección, así como a mayor riesgo de mortalidad (83).

Los niveles plasmáticos del Factor von Willebrand se encontraron incrementados en los dos grupos de enfermedad pulmonar, mostrando diferencias significativas en comparación con el grupo control; considerando su función como biomarcador de disfunción endotelial, así como su papel intermediario entre elementos de la coagulación, el incremento en la concentración plasmática de esta proteína apoya la teoría de que los estados de hipercoagulabilidad presente en estas patologías respiratorias pueden deberse a la liberación de factores procoagulantes (FvW) como consecuencia del daño endotelial además de un estado proinflamatorio que redunde en complicaciones trombóticas (84).

El análisis de la estructura del FvW mostró multímeros de alto peso molecular (MAPM) en los grupos cáncer de pulmón y COVID-19, así como una diferencia significativa de las medias densitométricas evaluadas en unidades arbitrarias (UA). La función hemostáticamente activa de las estructuras de elevado peso molecular señalan mayor riesgo trombótico; debido a sus numerosos sitios de unión a plaquetas y colágeno subendotelial que conduce a la formación del trombo. Además, se ha descrito que la estructura multimérica del Factor puede cambiar de



un estado nativo/ inactivo a uno completamente activo generando una barrera de despliegue por lo que el clivaje de ADAMTS-13 se ve afectado favoreciendo la circulación plasmática de multímeros de alto peso molecular (85).

Las concentraciones plasmáticas de ADAMTS-13 se encontraron disminuidas en el grupo de pacientes con COVID-19; lo que respalda las altas concentraciones plasmáticas de FvW, así como la presencia de estructuras multiméricas de elevado peso molecular. Los niveles bajos de esta enzima reguladora pueden deberse al consumo provocado por las altas concentraciones de FvW circulante; este desequilibrio promueve estados procoagulantes que incrementan el riesgo trombótico en pacientes con infección por SARS-CoV-2 (86).

En el grupo de pacientes con cáncer pulmonar no hubo diferencia estadística; sin embargo, se observa una tendencia donde los niveles de ADAMTS-13 disminuyen en comparación al grupo control, esto pudiera ser explicado por el número de pacientes incluidos particularmente en este grupo (n=8). Existen reportes donde se ha descrito que los niveles de ADAMTS-13 disminuyen progresivamente con la evolución del carcinoma de células no pequeñas (CPCNP), acompañado de concentraciones elevadas de FvW (47).

El índice FvW/ADAMTS-13 presenta un incremento significativo en el grupo con COVID-19, demostrando que existe una relación inversa entre los niveles aumentados de FvW así como una disminución de ADAMTS-13. La liberación continua del FvW, por el daño endotelial ocasionado por el ambiente inflamatorio, la internalización del virus a las células y la activación plaquetaria que libera estructuras multiméricas conocidas como UL-FvW, apoyado por la reducción de su enzima reguladora favorecen cascadas de retroalimentación que además, mantienen un estado de hipercoagulabilidad. Se ha reportado que este índice se ha relacionado con la progresión del estado hospitalario del paciente; este antecedente permite identificar de manera independiente y conjunta la utilización de estos biomarcadores en patologías relacionadas con eventos trombóticos (83,85).

En los pacientes con cáncer pulmonar el índice FvW/ADAMTS-13 mostró una tendencia al incremento, aunque no encontramos diferencia estadística en nuestro grupo de estudio. Se ha descrito que este índice se relaciona con la progresión tumoral y disminuye en respuesta a la quimioterapia, estableciendo este parámetro para predecir la respuesta al tratamiento así como para predecir el riesgo trombótico en esta neoplasia (47,86).

Se encontró una correlación positiva entre las concentraciones plasmáticas del FvW y su densidad multimérica (UA). Las estructuras multiméricas de alto peso molecular (MAPM) y su relación en la formación del trombo, plantean que estos parámetros pueden ser considerados como biomarcadores de riesgo trombótico en enfermedades pulmonares (88).



En condiciones homeostáticas el FvW y las plaquetas no interactúan entre sí; sin embargo, esta relación puede modificarse gracias a las concentraciones incrementadas del FvW así como alteraciones en las fuerzas de cizallamiento y las condiciones del microambiente vascular. Encontramos una correlación entre la activación plaquetaria (VPM) y las concentraciones plasmáticas del FvW ( $p=0.000$ ) que respaldan los mecanismos de interacción espontánea entre estos mediante el dominio A1 y los receptores plaquetarios GPIIb/IIIa involucrados en la formación del trombo (89).

Las interacciones entre el FvW y los NETs pueden promover el desarrollo de trombosis e inflamación, debido a la interacción directa entre leucocitos activados y factores de coagulación como parte de la respuesta inmune innata; las redes extracelulares de los neutrófilos contienen histonas y proteínas que pueden unirse a plaquetas y al Factor von Willebrand además de provocar daño tisular; en nuestro estudio, se observó una correlación positiva entre la concentración plasmática de FvW y la cuenta de neutrófilos circulantes. Se ha descrito que los NETs pueden inducir la reducción de ADAMTS-13, favoreciendo niveles elevados de FvW, así como la presencia de estructuras de alto peso molecular (MAPM) (90). Estos NETs pueden provocar trombos al nivel de la microvasculatura, asociándose como cofactor del síndrome respiratorio en enfermedades pulmonares y falla multiorgánica en algunos casos (91).

Los NET son redes extracelulares tridimensionales de cromatina descondensada decoradas con histonas, proteínas y péptidos antimicrobianos que se liberan de los neutrófilos con la estimulación. Los patógenos, incluidos los virus respiratorios, inducen NETosis, lo que lleva a la formación de estas redes que atrapan físicamente y matan microorganismos como parte del sistema inmunológico innato. El fenómeno de NETosis puede también ser inducido por la activación plaquetaria y provocar daño tisular mediado por NET, llevando a hipercoagulabilidad y trombosis (15).

Existe una asociación entre las cuentas elevadas de los neutrófilos con un incremento en la activación plaquetaria (VPM); siendo que las plaquetas expresan factor tisular (TF) como un desencadenante esencial de la coagulación y la trombosis además de modular las respuestas críticas de los leucocitos; como la migración, secreción y liberación de NETs apoya que estas interacciones favorecen la hemostasia y la inflamación presente en ambas enfermedades pulmonares (83).

COVID-19 ha sido descrita como una enfermedad endotelial, debido a la desregulación de citocinas y mediadores proinflamatorios que cambian las funciones endoteliales homeostáticas a funciones de defensa que terminan comprometiendo la función pulmonar (61), comparable con patologías como el cáncer de pulmón, donde ya se ha descrito que esta endotelitis termina desencadenando complicaciones trombóticas y sistémicas que pueden llevar incluso a la muerte (92).



## 10. RESUMEN DE RESULTADOS POR OBJETIVOS

### **Objetivo 1: Comparar las concentraciones plasmáticas y la estructura multimérica de FvW, así como la concentración de ADAMTS 13 en los pacientes con COVID-19 y cáncer pulmonar.**

Se observó un incremento en las concentraciones plasmáticas de FvW en el grupo con cáncer pulmonar ( $p=0.002$ ) así como en el grupo con COVID-19 ( $p=0.000$ ) en comparación al grupo control.

El análisis multimérico del Factor von Willebrand permitió observar la presencia de estructuras de elevado peso molecular en ambos grupos de estudio (Cáncer pulmonar / COVID-19), mostrando una marcada presencia de MAPM en el grupo COVID-19. Su media densitométrica mostró diferencias en el grupo con cáncer pulmonar ( $p=0.006$ ) y en el grupo con COVID-19 ( $p=0.001$ ).

Las concentraciones plasmáticas de ADAMTS-13 se encontraron disminuidas en el grupo con COVID-19 ( $p=0.006$ ) y aunque no se encontró una diferencia estadística se observó una tendencia a disminución en el grupo con pacientes con cáncer pulmonar.

### **Objetivo 2: Analizar el índice FvW/ADAMTS13 en los pacientes incluidos en el estudio.**

Se observó un incremento en el ratio FvW/ADAMTS-13 en el grupo de pacientes con COVID-19 ( $p=0.000$ ) en comparación al grupo control, el grupo con cáncer pulmonar no mostró diferencia estadística.

### **Objetivo 3: Correlacionar las concentraciones y la distribución multimérica de FvW con los datos clínicos de los pacientes incluidos en el estudio y la severidad de la enfermedad.**

Se observó una correlación positiva entre los niveles plasmáticos de FvW con la media densitométrica ( $p=0.000$ ) y un incremento en las concentraciones de FvW con el % de neutrófilos circulantes ( $p=0.000$ ) y VPM ( $p=0.000$ ). Hubo una correlación positiva entre el incremento en el VPM y el porcentaje de neutrófilos ( $p=0.000$ ). Se observaron estructuras de elevado peso molecular en los grupos con cáncer pulmonar y COVID-19, lo que coincide con el incremento en las medias densitométricas (UA) en ambos grupos de estudio por lo que puede sugerirse que el incremento de FvW en la circulación puede estar asociado con el daño endotelial y la activación plaquetaria, lo que promueve la liberación continua de MAPM que participan activamente en la aparición de eventos trombóticos.



La relación entre las concentraciones plasmáticas del FvW y la activación plaquetaria, así como la cuenta de neutrófilos; plantea la posibilidad que la función del Factor von Willebrand no se limite a la hemostasia, sino que también desarrolle un papel en la respuesta inmune como parte de un mecanismo de acción innata que termina en el desarrollo de una inmutrombosis.

#### **Objetivo 4: Efectuar un análisis comparativo entre ambas patologías.**

El conteo leucocitario en el grupo con COVID-19 señaló un incremento significativo en comparación al grupo control ( $p= 0.006$ ), mientras que en el grupo con cáncer pulmonar los valores se mantuvieron dentro de los rangos normales. La neutrofilia se manifestó en ambos grupos de estudio; el grupo con cáncer de pulmón ( $p=0.000$ ) y grupo COVID-19 ( $p=0.000$ ).

La activación plaquetaria se presentó en pacientes con COVID-19 ( $p=0.000$ ) y en cáncer de pulmón no se encontró diferencia estadística; sin embargo, existe una tendencia al incremento visible en comparación al grupo control.

Los niveles basales de glucosa se incrementaron en el grupo de pacientes con COVID-19 ( $p=0.016$ ), por su parte los pacientes con cáncer pulmonar no mostraron incrementos manteniéndose dentro de los valores normales.



## 11. CONCLUSIONES

Las enfermedades pulmonares como cáncer pulmonar y COVID-19 presentan concentraciones plasmáticas de FvW incrementadas y una disminución de los niveles de ADAMTS-13 representando un importante riesgo trombótico.

El incremento en el ratio FvW/ADAMTS-13 en los pacientes con COVID-19 manifiesta un estado de hipercoagulabilidad por una alteración entre los factores procoagulantes como el Factor de von Willebrand y los anticoagulantes como ADAMTS-13; lo que conlleva a desbalance en la hemostasia llevando a la formación de trombos que pueden llegar al nivel de la microvasculatura y desencadenar complicaciones respiratorias que evolucionen hasta la falla multiorgánica. Este ratio puede ser de utilidad para la identificación de pacientes con elevado riesgo trombótico en los que estaría indicado un cuidadoso manejo anticoagulante.



## 12. REFERENCIAS

1. Duboscq C. Vascular endothelium. *Serv Hematol y Hemoter Hosp Británico Bs AS*. 2017;21:19–30.
2. Carvajal Carvajal C. El endotelio: estructura, función y disfunción endotelial. *Med Leg Costa Rica*. 2017;43:1–11.
3. Espitia De La Hoz FJ. A qualitative review of the literature regarding managing Von Willebrand disease in obstetrics and gynaecology. *Rev Colomb Obstet Ginecol*. 2010;61:151–9.
4. W. Yau J, Teoh H, Verma S. Endothelial cell control of thrombosis. *BMC Cardiovasc Disord*. 2015;15:1–15.
5. Gui Ping L, Bing N, Yang X, Yu Zhang W. von Willebrand Factor: More Than a Regulator of Hemostasis and Thrombosis. *Acta Haemato*. 2012;128:158–169.
6. Hernández Zamora E, Zavala Hernández C, Quintana González S, Reyes Maldonado E. Enfermedad de von Willebrand, biología molecular y diagnóstico. *Sciencedirect [Internet]*. 2015;83(3):255–64. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009741115000687>
7. van der Vorm L, Li L, Huskens D, Chayoua W, Kelchtermans H. Analytical characterization and reference interval of an enzyme-linked immunosorbent assay for active von Willebrand factor. *PLoS One*. 2019;14(2).
8. Sánchez Luceros A. Update in Thrombotic Microangiopathies. *HEMATOLOGÍA*. 2015;19:51–8.
9. Muñoz Cortés G, Viveros Sandoval ME, Areán Martínez CA, Vega Gómez HE, López Castañeda SE, Gómez García A. Von Willebrand Factor Plasma Levels Variability In Nonvalvular Atrial Fibrillation. *J Atr Fibrillation*. 2014;7:99–105.
10. Secretaria de Salud. Diagnóstico y tratamiento de la Enfermedad de von Willebrand. CENETEC. 2010; <http://www.cenetec.salud.gob.mx/interior/gpc.html>.
11. Woods AI, Blanco AN, Kempfer AC. Von Willebrand Factor and von Willebrand disease: new approaches to diagnosis. *Acta Bioquímica Clínica Latinoam*. 2016;50:273–89.
12. Contreras E, De la Rubia J, Del Río Garma J, Díaz Ricart M. Diagnostic and therapeutic guidelines of thrombotic microangiopathies of the Spanish Apheresis Group. *ELVISIER*. 2015;144(7):331.
13. Rieger M, Ferrari S, Hovinga J, Konetschny C, Al. E. Relation between ADAMTS13 activity and ADAMTS13 antigen levels in healthy donors and patients with thrombotic microangiopathies. *Thromb Haemost*. 2006;95:212–



- 20.
14. Sociedad Española Oncológica Médica (SEOM). Trombosis en el paciente oncológico. Colección Oncovida. 2013;23:1–7.
  15. Aranda F, Perés Wingeyer S, Larrañaga G. Inmunotrombosis: implicancias de las trampas extracelulares de neutrófilos en el desarrollo y progresión de la enfermedad tromboembólica venosa. HEMATOLOGÍA [Internet]. 2015;19:231–45. Available from: [http://www.sah.org.ar/revista/numeros/09 Inmunotrombosis vol 19 n3.pdf](http://www.sah.org.ar/revista/numeros/09%20Inmunotrombosis%20vol%2019%20n3.pdf)
  16. SETH. Tromboembolismo venoso asociado a cáncer [Internet]. Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia. 2020. p. 1–2. Available from: <https://bit.ly/36UrKwz>
  17. Majluf Cruz A, Espinosa Larrañaga F. Fisiopatología de la trombosis. Medigraphic. 2007;143:1–4.
  18. National Heart Lung and Blood Institute. Trombosis venosa profunda [Internet]. U.S. Department of Health & Human Services. 2019. Available from: <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/espanol/trombosis-venosa-profunda>
  19. Eguino Villegas A, Fernández Sánchez B. Cáncer de pulmón Una Guía práctica. Asoc Española Contra el Cáncer [Internet]. 2018;1–87. Available from: <https://www.aecc.es/sites/default/files/migration/actualidad/publicaciones/documentos/guia-ca-pulmon.pdf>
  20. Acosta I, Remón L, Segura R, Ramírez G, Carralero Á. Risk Factors in the Lung Cancer. scielo. 2016;20:43–55.
  21. Velázquez ÁS. Cáncer de pulmón. Actualización. Estadificación. Neumosur. 2005;46:535–44.
  22. SEDENA, Secretaría de Salud. Guía de referencia rápida para la detección, diagnóstico y tratamiento del Cáncer Pulmonar de células no pequeñas [Internet]. 2015. Available from: [http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/030\\_GPC\\_Ca\\_PulmCP/IMSS\\_030\\_08\\_GRR.pdf](http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/030_GPC_Ca_PulmCP/IMSS_030_08_GRR.pdf)
  23. Donado JR, Paz-Ares L. DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO CÁNCER DE PULMÓN. OncoSur. 2007;(1–49).
  24. U.S. National Library of Medicine. Cáncer pulmonar de células pequeñas [Internet]. MedlinePlus. 2019. p. 1. Available from: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000122.htm>
  25. Instituto Nacional del Cáncer, UU. de los IN de la S de E. Tratamiento del cáncer de pulmón de células pequeñas. hysician Data Query [Internet]. 2019;1:1–4. Available from: <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/pulmon/paciente/tratamiento-pulmon->





celulas-pequenas-pdq

26. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). ESTADÍSTICAS DE DATOS NACIONALES CÁNCER. 2018;13. Available from: [http://www.beta.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2018/cancer2018\\_Nal.pdf](http://www.beta.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2018/cancer2018_Nal.pdf)
27. Hoyos<sup>1\*</sup> N, Montoro<sup>2\*</sup> FJ, J.J.García<sup>3</sup>, Morales<sup>4</sup> B, Pavón<sup>5</sup> MJ. Cáncer de pulmón: ¿qué hay de nuevo? Rev Patol Respir. 2017;20:47–59.
28. Secretaría de Salud. Cada año mueren cerca de ocho mil mexicanos por cáncer de pulmón. Comunicado [Internet]. 2018; Available from: <https://www.gob.mx/salud/prensa/145-cada-ano-mueren-cerca-de-ocho-mil-mexicanos-por-cancer-de-pulmon?idiom=es>
29. Martínez del Prado, Purificación, Martínez de Castro E. Profilaxis y tratamiento de la trombosis asociada a catéter venoso central. Soc Española Oncol Médica [Internet]. 2017;1–28. Available from: [http://www.seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Profilaxis\\_y\\_tratamiento\\_de\\_la\\_trombosis\\_SEOM.pdf](http://www.seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Profilaxis_y_tratamiento_de_la_trombosis_SEOM.pdf)
30. Wong P, Baglin T. Epidemiology, risk factors and sequelae of venous thromboembolism. Phlebology. 2012;27:2–11.
31. Los pacientes oncológicos tienen un mayor riesgo vascular. El médico Interact [Internet]. 2019; Available from: <http://elmedicointeractivo.com/los-pacientes-oncologicos-tienen-un-mayor-riesgo-vascular/?fbclid=IwAR2gCcBKrVOszQmCwdmQ4BeMMoENbpBlkAGIR8wpZ5Md84pPWHsZwA2bPY4>
32. Becerra Puebla S. Cancer and venous thrombosis. Rev Biomédica Medwave. 2007;7:3385.
33. Kajat EA. Cáncer de pulmón, una revisión sobre el conocimiento actual, métodos diagnósticos y perspectivas terapéuticas. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2013;30.
34. American Cancer Society. Staging of lung cancer. Am Thorac Soc [Internet]. 2013;182:1–2. Available from: <https://www.thoracic.org/patients/patient-resources/resources/spanish/staging-of-lung-cancer.pdf>
35. Radiological Society of North America (RSNA). Cáncer pulmonar. RadiologyInfo.org [Internet]. 2019;1–8. Available from: <https://www.radiologyinfo.org/sp/pdf/lung-cancer.pdf>
36. Kramer V, Klein M, Cevallos F, Cárcamo M. Khorama score as a predictive tool for thromboembolic events in high risk patients. Rev Med Chil. 2016;144.
37. Slatore CM. Tratamiento del cáncer de pulmón. Am Thorac Soc. 2014;189:1–3.



38. Radiological Society of North America (RSNA). Tratamiento del cáncer de pulmón. *Am Coll Radiol*. 2018;1:1–9.
39. Noctezuma Velazco CR, Mario PZ. Cáncer de Pulmón. Revisión. *An Radiol México*. 2009;1:33–45.
40. C. Puiggròs<sup>1</sup>, C. Cuerda<sup>2</sup>, N. Virgili<sup>3</sup>, M. L. Chicharro<sup>1</sup>, C. Martínez<sup>4</sup>, C. Garde<sup>5</sup> D de LGN-S. Catheter occlusion and venous thrombosis prevention and incidence in adult home parenteral nutrition (HPN) programme patients. *scielo*. 2012;27.
41. Fariña Casanova X, Rivera Chavarri I, Pérez-Bermejo D, Revilla Calavia A, González Fajardo J, Vaquero Puerta C. Síndrome de Trousseau. *Spanish J Surg Res*. 2012;15(1139–8264):103–8.
42. GRADWELL FPAP. Cáncer y quimioterapia, principales causas de la aparición de trombos. *Cent Eur Time* [Internet]. 2019;(Infosalus). Available from: [https://www.infosalus.com/salud-investigacion/noticia-cancer-quimioterapia-principales-causas-aparicion-trombos-20190516131338.html?fbclid=IwAR00xvRc6i5SRHRg1cNvKGyzbmVxU7fpDbIGxH\\_jgNJrr5VfdYwmERkxmpQ](https://www.infosalus.com/salud-investigacion/noticia-cancer-quimioterapia-principales-causas-aparicion-trombos-20190516131338.html?fbclid=IwAR00xvRc6i5SRHRg1cNvKGyzbmVxU7fpDbIGxH_jgNJrr5VfdYwmERkxmpQ)
43. Nápoles Méndez D, Couto Núñez D. Use of risk factors and clinical predictive models for the diagnosis of the venous thromboembolic disease. *Scielo*. 2015;19:1.
44. Gonzalo Ugarte F, Remedios Otero C, Ferrer Galván M. La escala predictiva de Khorana en pacientes con enfermedad tromboembólica venosa y cáncer. *ELSEVIER*. 2013;141:479–81.
45. López Salvio YM, Herrera Rodríguez LJ, Guzmán Silahua S. Dímero D: papel en patología trombótica. *El Resid* [Internet]. 2018;13(1):12–22. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/residente/rr-2018/rr181c.pdf>
46. Maneyro A. Trombosis asociada a cáncer (TAC). Nuevos desafíos para el hematólogo. *HEMATOLOGÍA*. 23:320–4.
47. Guo R, Yang J, Liu X, Jianping W, Chen Y. Increased von Willebrand factor over decreased ADAMTS-13 activity is associated with poor prognosis in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Lab Anal* [Internet]. 2018;32(1). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcla.22219>
48. Salama P. Thrombosis and cancer. *scielo*. 2004;27(1137–6627).
49. Almagro D. Participación del mecanismo de la coagulación en el cáncer. *Rev Cuba Hematol Inmunol y Hemoter*. 2005;21(1561–2996).
50. Chi J, Chang H, Haraldsen G, Troyanskaya O, Chang D, Wang Z. Endothelial cell diversity revealed by global expression profiling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:10623–8.



51. Mulder F, Candeloro M, Kamphuisen P. The Khorana Score For Prediction Of Venous Thromboembolism In Cancer Patients: A Systematic Review And Meta-Analysis. *Haematologica*. 2019;104:1277–87.
52. Hisada Y, Mackman N. Cancer-associated pathways and biomarkers of venous thrombosis. *Blood*. 2017;130:1499-1506.
53. Rivera J, Palma-Barqueros V, Vicente V, Lozano M. Funciones no hemostáticas de las plaquetas. *HEMATOLOGÍA*. 2018;22:299–303.
54. Virgós Señor B, Nebra Puertas A. Factor de von Willebrand, lesión endotelial y cardiopatía isquémica. *scielo*. 2008;3:103–9.
55. Obermeier HL, Riedl J, Ay C, Koder S, Quehenberger P, Bartsch R, et al. The role of ADAMTS-13 and von Willebrand factor in cancer patients: Results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study. *Res Pract Thromb Haemost*. 2019;3(3):503–14.
56. Pollard CA, Morran MP, Nestor-kalinoski AL. The COVID-19 pandemic : a global health crisis. *Physiol Genomics*. 2021;52:549–57.
57. Lu G, Wang Q, Gao GF. Bat-to-human : spike features determining ‘ host jump ’ of MERS-CoV , and beyond. *Trends Microbiol [Internet]*. 2015;23(8):468–78. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2015.06.003>
58. Chen X, Zhao B, Qu Y, Chen Y, Xiong J, Feng Y, et al. Detectable Serum Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Viral Load (RNAemia) Is Closely Correlated With Drastically Elevated Interleukin 6 Level in Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020;71(8):1937–42.
59. Helms J, Tacquard C, Severac F, Leonard-Lorant I, Ohana M, Delabranche X, et al. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. *Intensive Care Med [Internet]*. 2020;46(6):1089–98. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00134-020-06062-x>
60. Simmons G, Reeves JD, Rennekamp AJ, Amberg SM, Piefer AJ, Bates P. Characterization of severe acute respiratory spike glycoprotein-mediated viral entry. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(12):4240–5.
61. Libby P, Lüscher T. COVID-19 is, in the end, an endothelial disease. *Eur Heart J*. 2020;41(32):3038–44.
62. WHO. COVID-19 Weekly Epidemiological Update. World Health Organization. 2021.
63. Secretaría de Salud. No Title [Internet]. *Epidemiología COVID-19 en Michoacán*. 2021. Available from: <https://michoacancoronavirus.com/>
64. 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* [Internet]. 2020;395(10229):1054–62. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)
65. Acute S, Syndrome R. COVID-19 and the ABO blood group connection. *Transfus Apher Sci* [Internet]. 2020;59(5):102838. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.transci.2020.102838>
66. Brüssow H. Immunology of COVID -19. *Environ Microbiol* [Internet]. 2020 Dec 25;22(12):4895–908. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1462-2920.15302>
67. Jung F, Krüger-Genge A. COVID-19 and the endothelium. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2020;75(1):7–11.
68. Poncelet C1, Fauvet R, Feldmann G, Walker F, Madelenat P DE. Prognostic Value of von Willebrand Factor , CD34 , CD31 , and Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Women With Uterine Leiomyosarcomas. *J Surg Oncol*. 2004;86(March):84–90.
69. Goshua G, Pine AB, Meizlish ML, Chang C, Zhang H, Bahel P, et al. Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: evidence from a single-centre , cross-sectional study. *Lancet Haematol* [Internet]. 2020;7(8):e575–82. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2352-3026\(20\)30216-7](http://dx.doi.org/10.1016/S2352-3026(20)30216-7)
70. O’Sullivan JM, Gonagle DM, Ward SE, Preston RJS, O’Donnell JS. Endothelial cells orchestrate COVID-19 coagulopathy. *Lancet Haematol* [Internet]. 2020;7(8):e553–5. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2352-3026\(20\)30215-5](http://dx.doi.org/10.1016/S2352-3026(20)30215-5)
71. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the ‘Cytokine Storm’ in COVID-19.’ *J Infect* [Internet]. 2020;80(6):607–13. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.037>
72. Zhang H, Cui Y, Zhou Z, Ding Y, Nie H. Alveolar Type 2 Epithelial Cells as Potential Therapeutics for Acute Lung Injury/Acute Respiratory Distress Syndrome. *Curr Pharm Des*. 2019;25(46):4877–82.
73. Haitao T, Vermunt J V., Abeykoon J, Ghamrawi R, Gunaratne M, Jayachandran M, et al. COVID-19 and Sex Differences. *Mayo Clin Proc* [Internet]. 2020 Oct;95(10):2189–203. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025619620308387>
74. Takahashi T, Ellingson MK, Wong P, Israelow B, Lucas C, Klein J, et al. Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. *Nature* [Internet]. 2020 Dec 10;588(7837):315–20. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41586-020-2700-3>
75. Kumar A, Arora A, Sharma P, Anikhindi SA, Bansal N, Singla V, et al. Is diabetes mellitus associated with mortality and severity of COVID-19? A meta-



- analysis. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev* [Internet]. 2020 Jul;14(4):535–45. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871402120301090>
76. Abal Arca J, Parente Lamelas I, Almazán Ortega R, Al. E. Lung Cancer and COPD: a Common Combination. *Arch Bronconeumol*. 2009;45(10):502–7.
77. Pérez Ríos M, Leistikow B, Montes A. Lung cancer as an index of tobacco exposure: association with non-lung cancer mortality. *scielo*. 2009;23:1–4.
78. Jiménez Hiscock L. Diagnóstico y manejo del derrame pleural maligno. *Rev Patol Respir*. 2007;10(3):140–5.
79. Lihua Z, She Z-G, Cheng X. Association of Blood Glucose Control and Outcomes in Patients with COVID-19 and Pre-existing Type 2 Diabetes. *Cell metab*. 2020;31(6):1068–77.
80. Wang J, Jiang M, Chen X, Montaner LJ. Cytokine storm and leukocyte changes in mild versus severe SARS-CoV-2 infection: Review of 3939 COVID-19 patients in China and emerging pathogenesis and therapy concepts. *J Leukoc Biol* [Internet]. 2020 Jul 13;108(1):17–41. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/JLB.3COVR0520-272R>
81. Ochoa Carrillo J, Mac Gregor M, Al. E. Síndromes paraneoplásicos. Su asociación con el carcinoma pulmonar. *Medigraphic*. 2003;71(2):150–61.
82. Zuo Y, Zuo M, Yalavarthi S, Al. E. Neutrophil extracellular traps and thrombosis in COVID-19. *medRxiv*. 2020;5(11):1–16.
83. Hottz ED, Azevedo-Quintanilha IG, Palhinha L, Teixeira L, Barreto EA, Pão CRR, et al. Platelet activation and platelet-monocyte aggregate formation trigger tissue factor expression in patients with severe COVID-19. *Blood* [Internet]. 2020 Sep 10;136(11):1330–41. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/136/11/1330/461421/Platelet-activation-and-plateletmonocyte-aggregate>
84. Panigada M, Bottino N, Tagliabue P, Grasselli G, Novembrino C, Chantarangkul V, et al. Hypercoagulability of COVID-19 patients in intensive care unit: A report of thromboelastography findings and other parameters of hemostasis. *J Thromb Haemost*. 2020;18(7):1738–42.
85. Stocksclaeder M, Schneppenheim R, Budde U. Update on von Willebrand factor multimers. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2014;25(3):206–16.
86. Baronciani L, Artoni A, Colpani P, Biganzoli M, Cozzi G, Novembrino C, et al. The ADAMTS13-von Willebrand factor axis in COVID-19 patients. *J Thromb Haemost*. 2021;19(July 2020):513–21.
87. Patmore S, Pal SD, M.O Sullivan J. Von Willebrand Factor and Cancer; metastasis and coagulopathies. *J Thromb Haemost*. 2020;4(5):0–2.



88. Philippe A, Chocron R, Gendron N, Bory O, Beauvais A, Peron N. Circulating Von Willebrand factor and high molecular weight multimers as markers of endothelial injury predict COVID - 19 in - hospital mortality. *Angiogenesis* [Internet]. 2021;15(0123456789):1–13. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10456-020-09762-6>
89. Lancellotti S, Sacco M, Basso M, Cristofaro R De. Mechanochemistry of von Willebrand factor. *Biomol Concepts*. 2019;10(1):194–208.
90. Yang J, Wu Z, Long Q, Huang J, Hong T, Liu W. Insights Into Immunothrombosis : The Interplay Among Neutrophil Extracellular Trap , von Willebrand Factor , and ADAMTS13. 2020;11(December):1–16.
91. Middleton EA, He X, Denorme F, Campbell RA, Ng D, Salvatore SP, et al. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Blood*. 2020;136(10):1169–79.
92. Nikitenko LL. Vascular endothelium in cancer. *Cell Tissue Res*. 2009;335(1):223–40.



**ANEXOS:**  
**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**  
**SECRETARIA DE SALUD**  
**DIRECCIÓN DEL HOSPITAL GENERAL “DR. MIGUEL SILVA”**  
**COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROTOCOLO DE ESTUDIO:** Comparación de la concentración plasmática y estructura multimérica del Factor von Willebrand en pacientes con cáncer pulmonar.

**INTRODUCCION:** La siguiente información describe el protocolo al cual se le está invitando para participar de forma activa. El investigador deberá responder cualquier duda que surja a partir de la lectura de ésta.

**PROPOSITO DEL ESTUDIO:** Estudiar la concentración plasmática y composición molecular del Factor von Willebrand en pacientes con ETV secundaria a cáncer pulmonar.

**PROCEDIMIENTO:** Ha sido elegido para participar en este estudio, si usted desea participar, contestará un cuestionario y proporcionará una muestra de sangre para determinar los niveles del factor de Von Willebrand y la composición de este.

**BENEFICIOS PARA PARTICIPANTES:** Los resultados aportarán información nueva e importante acerca del estado actual de la enfermedad de los pacientes con ETV secundario a cáncer pulmonar.

**CONFIDENCIALIDAD.** La información obtenida durante el desarrollo de este estudio es absolutamente confidencial y no puede ser utilizada con otro fin. Usted será informado acerca de cualquier hallazgo de importancia para su salud durante el desarrollo de este estudio.

**PARTICIPACION VOLUNTARIA:** Es de mi conocimiento que seré libre de retirarme de la presente investigación en el momento que lo desee. Además, sé que puedo pedir información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en este estudio. Recibiré, si así lo solicito una copia de los resultados de laboratorio de los estudios que se me practiquen. Debo informar, tan pronto como sea posible a los investigadores de cualquier cambio importante que ocurra en mi salud, incluyendo el consumo de medicamentos, suspensión o inicio de algún hábito (p. ej. tabaquismo, alcoholismo) o cambio de domicilio. Sé que las muestras obtenidas sólo podrán ser utilizadas para los fines de este estudio. Los costos del estudio los cubrirán los fondos de la unidad de investigación y el paciente no pagará por los estudios paraclínicos propios del proyecto de investigación.



He comprendido el contenido de esta carta de consentimiento informado, mis dudas han sido resueltas y voluntariamente acepto participar en este estudio.

\_\_\_\_\_

**FIRMA DEL INVESTIGADOR Y FECHA.  
PACIENTE Y FECHA**

**NOMBRE, FIRMA DEL**

\_\_\_\_\_

**FIRMA DE TESTIGO I Y FECHA  
FECHA**

**FIRMA DE TESTIGO II Y**

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS  
“DR. IGNACIO CHAVEZ”  
DIVISION ESTUDIOS DE POSGRADO  
LABORATORIO DE HEMOSTASIA Y BIOLOGIA VASCULAR**

**FECHA:** \_\_\_\_\_

**NOMBRE DEL PACIENTE:** \_\_\_\_\_

**SEXO:**

\_\_\_\_\_ **EDAD:** \_\_\_\_\_ **DIAGNÓSTICO:** \_\_\_\_\_

**TEL:** \_\_\_\_ (\_\_\_\_) \_\_\_\_\_

**No. EXP:** \_\_\_\_\_

**1. Enfermedades concomitantes.**

**Sí No**





- ¿Padece Diabetes Mellitus?
- ¿Padece Hipertensión arterial?
- ¿Ha padecido alteraciones hemostáticas en los últimos 3 meses?
- Tabaquismo
- Procesos inflamatorios
- Otro: \_\_\_\_\_

## 2. Medicamentos.

❖ Anticoagulantes: Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

- ✓ Acenocumarina
- ✓ Warfarina
- ✓ Ribaroxabán
- ✓ Apixabán
- ✓ Dabigatrán
- ✓ Enoxaparina

❖ Antiagregantes plaquetarios: Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

- ✓ Aspirina
- ✓ Clopidogrel

### Formato de recolección de datos.

INICIALES DEL PACIENTE: \_\_\_\_\_

FECHA: \_\_\_\_\_

## 3. Medidas antropométricas.

|             |  |              |  |            |  |
|-------------|--|--------------|--|------------|--|
| <b>Peso</b> |  | <b>Talla</b> |  | <b>IMC</b> |  |
|-------------|--|--------------|--|------------|--|

|                               |                      |
|-------------------------------|----------------------|
| <b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b> | <b>Clasificación</b> |
|-------------------------------|----------------------|



|           |           |
|-----------|-----------|
| 18.5-24.9 | Normal    |
| 25-29.9   | Sobrepeso |
| >30       | obesidad  |

#### 4. Signos vitales.

|  |  |
|--|--|
| <b>Presión arterial sistólica</b><br><b>90-120 mmHg</b>          |  |
| <b>Presión arterial diastólica</b><br><b>60-80 mmHg</b>          |  |
| <b>Frecuencia cardiaca</b><br><b>50-100 latidos/min</b>          |  |
| <b>Frecuencia respiratoria</b><br><b>12-20 respiraciones/min</b> |  |

INICIALES DEL PACIENTE: \_\_\_\_\_

FECHA:

\_\_\_\_\_

#### 5. Grupo sanguíneo.

|                 |
|-----------------|
| <b>HEMOTIPO</b> |
|                 |

#### 6. Marcadores bioquímicos.



|                             |                                  |  |
|-----------------------------|----------------------------------|--|
| <b>Variables de estudio</b> | Concentración de FvW             |  |
|                             | Multímeros del FvW               |  |
|                             | Distribución multimérica del FvW |  |
|                             | Concentración de ADAMTS-13       |  |

## 7. Marcadores Clínicos

|                   |  |
|-------------------|--|
| Tipo de neoplasia |  |
| Estadio           |  |
| Tratamiento       |  |
| Uso de catéter    |  |

## 8. Antecedentes Familiares

¿Tiene algún familiar que haya sido diagnosticado con algún tipo de cáncer? Especificar.

---