



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ALTERACIONES ERITROCITARIAS Y PLAQUETARIAS INDUCIDAS POR  
SARS-CoV-2**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO  
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AUTORA: VALENTINA MORALES MARIN  
PROFESOR GUÍA: TM. Mg. Cs. SIMON NAVARRETE**

**TALCA-CHILE  
2021**

## CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2022



*Dedicatoria*

*A mis padres, Yanet y Manuel por su amor y apoyo incondicional, por haber sido mi motor todos estos años para seguir adelante y por acompañarme en los momentos más difíciles de mi vida, a mi pareja Felipe por creer en mí, darme amor y confianza desde el primer día. Finalmente, a toda mi familia y amigos por todas las enseñanzas a lo largo de los años y por darme palabras de aliento sobre todo en aquellos momentos que pensé darme por vencida.*

### *Agradecimientos*

*A mis docentes de la Escuela de Tecnología Médica, por haberme entregado sus conocimientos, enseñarme todas las aristas de un Tecnólogo Médico y las herramientas para ser un profesional integro, de manera especial, al TM. Mg. Cs Simón Navarrete, profesor guía de esta memoria, y al TM Dr. Diego Arauna quienes con su apoyo, paciencia y enseñanzas me permitieron lograr el desarrollo de este trabajo. Por último, a la Universidad de Talca por ser sede de todas mis aventuras, conocimientos y experiencias en estos años.*

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

	<b>Pág.</b>
<b>RESUMEN</b>	7
<b>INTRODUCCIÓN</b>	8
<b>OBJETIVOS</b>	10
<b>1. OBJETIVO GENERAL</b>	10
<b>2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	10
<b>METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN</b>	11
<b>MARCO TEÓRICO</b>	12
<b>1. INTRODUCCIÓN ENFERMEDAD COVID-19</b>	12
1.1 Epidemiología y relevancia de la pandemia SARS-CoV-2 en Chile y el mundo	12
1.2 Taxonomía del virus SARS-CoV-2	14
1.3 Características infección por SARS-CoV-2	16
<b>2. SÍNDROME RESPIRATORIO AGUDO INDUCIDO POR SARS-COV-2 (COVID – 19): DEFINICIÓN CLÍNICA Y ROL DEL LABORATORIO CLÍNICO EN EL DIAGNÓSTICO</b>	22
<b>3. ALTERACIONES ERITROCITARIAS DESCRITAS EN PACIENTES COVID-19</b>	25
3.1 Alteraciones cuantitativas eritrocitarias	25
3.1.1 Anemia en pacientes con COVID-19	25
3.2 Alteraciones cualitativas y funcionales de glóbulos rojos	31
3.2.1 Ancho de distribución de los glóbulos rojos en pacientes con COVID-19	31

3.2.2 Cambios en la membrana del glóbulo rojo en pacientes con COVID-19	33
<b>4. ALTERACIONES PLAQUETARIAS DESCRITAS EN PACIENTES COVID-19</b>	<b>35</b>
4.1 Alteraciones cuantitativas de plaquetas	35
4.1.1 Trombocitopenia por COVID-19	35
4.2 Alteraciones cualitativas y funciones de plaquetas	44
4.2.1 Tamaño plaquetario	44
4.2.2 Hiperactividad plaquetaria	45
<b>5. ALTERACIONES DE LA COAGULACIÓN DESCRITAS EN PACIENTES COVID-19</b>	<b>49</b>
5.1 Alteraciones de la vía extrínseca e intrínseca de la coagulación	51
5.2 Alteraciones en vía común de la coagulación	54
5.3 Alteraciones en los anticoagulantes naturales	58
5.4 Alteraciones en la Fibrinólisis	60
5.5 Mecanismos asociados al estado de hipercoagulabilidad en COVID-19	61
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>70</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>72</b>

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1.</b> Taxonomía de SARS-CoV-2	15
<b>Figura 1.</b> Estructura del coronavirus síndrome respiratorio agudo severo 2.	16
<b>Figura 2.</b> Ciclo de replicación del SARS-CoV-2.	21
<b>Figura 3.</b> Esquema de los principales mecanismos causantes de anemia asociada a COVID-19.	31
<b>Tabla 2.</b> Incidencia de trombocitopenia en enfermedades infecciosas.	36
<b>Figura 4.</b> Esquema de los principales mecanismos de trombocitopenia asociada a COVID-19.	43
<b>Figura 5.</b> Representación esquemática de la cascada de la coagulación.	50
<b>Tabla 3.</b> Diferencia en los parámetros de coagulación entre CID/CIS y COVID-19.	62
<b>Figura 6.</b> Fisiopatología del estado de hipercoagulabilidad en COVID-19.	67



## RESUMEN

La enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) es una infección respiratoria causada por el virus SARS-CoV-2 identificado por primera vez en Wuhan, China. En el ser humano puede transmitirse a través del contacto con secreciones contaminadas con el virus, la entrada en la célula es a través del receptor ECA2 el cual desencadena el ingreso, replicación y posterior salida en la célula infectada. El daño producido por el coronavirus se da principalmente a nivel del sistema respiratorio, gastrointestinal, nervioso y hematológico. Por lo que el objetivo de este trabajo fue investigar las alteraciones producidas por SARS-CoV-2 en eritrocitos, plaquetas y coagulación a través de la búsqueda y selección de artículos de PUBMED, los cuales pertenecen a bases de datos WoS y SCOPUS. Pacientes con COVID-19 manifiestan diferentes afecciones eritrocitarias tales como anemia, aumento del ancho de distribución del glóbulo rojo y alteraciones en la vía de degradación de proteínas y vía glucolítica, las cuales pueden ser causada por daño directo del SARS-CoV-2, desregulación del metabolismo del hierro y formación autoanticuerpos y complejos inmunes que conllevan a la desbalance en la producción y destrucción de eritrocitos. Además, la infección por SARS-CoV-2 puede ocasionar alteraciones plaquetarias como trombocitopenia, aumento del tamaño y actividad plaquetaria, las cuales son causadas por daño directo del virus en la medula ósea, producción de autoanticuerpos y complejos inmunes y daño pulmonar causado por SARS-CoV-2 que produce un desequilibrio entre la producción, consumo y destrucción de plaquetas. Pacientes con COVID-19 desarrollan una coagulopatía caracterizada por un desequilibrio en las concentraciones de factores procoagulantes y anticoagulantes, representada por la alteración del TP y TTPA, elevación de dímero D, fibrinógeno y niveles de anticoagulantes naturales disminuidos que resultan en un estado de hipercoagulabilidad producto de las respuestas hemostáticas e inflamatorias resultantes de la infección que conllevan al aumento de eventos trombóticos.

Palabras claves: SARS-CoV-2, ECA2, anemia, trombocitopenia, coagulopatía.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad la enfermedad coronavirus declarada pandemia por la organización mundial de la salud ha provocado contagios y muertes alrededor de todo el mundo, causado por un nuevo virus llamado SARS-CoV-2 el cual tiene como origen la ciudad de Wuhan, China (1). Esta enfermedad es un desafío para las comunidades científicas y para el planteamiento de nuevas políticas, los países afectados han adoptado un enfoque heterogéneo y evolutivo para el diagnóstico de infección. Por lo que se ha vuelto imperativo el estudio del SARS-CoV-2 para mejorar la comprensión de la inmunología de esta enfermedad, así como también de la patogenicidad, formulando estrategias globales con el fin de contener la pandemia mediante el desarrollo de vacunas y medicamentos para la prevención y el tratamiento de los pacientes.

El virus SARS-CoV-2 es miembro de la familia *Coronaviridae* la infección se puede contraer en animales y entre los seres humanos, es por esto y por el parecido con coronavirus de murciélago se piensa que el origen fue proveniente de este animal (3). La entrada del virus al organismo humano a través de contacto persona – persona, aerosoles, animales intermediarios entre otros conlleva a la interacción con el receptor de la enzima convertidora angiotensina humana 2, para posteriormente replicarse y producir diferentes afecciones, entre los síntomas más comunes esta; fiebre, tos y disnea, entre otros (4).

El laboratorio de hematología cumple un función esencial en la infección por SARS-CoV-2, diversos estudios demuestran la importancia del sistema inmune en el actuar frente al coronavirus, ya que permite dar un curso frente al diagnóstico y las consecuencias de la enfermedad como también el manejo de los pacientes y posibles tratamientos (5). El daño producido por el coronavirus se da principalmente a nivel del sistema respiratorio, gastrointestinal, nervioso y hematológico, en cuanto a este ultimo las características más

destacadas presentadas en pacientes contagiados se encuentra linfopenia, leucocitosis, trombocitopenia y neutrofilia, así como también afecciones en la coagulación (2). Es por esto, que el presente trabajo tiene como objetivo describir las alteraciones eritrocitarias, plaquetarias y de coagulación en pacientes contagiados con COVID-19, enfocándose en rol en la fisiopatología de la enfermedad y su valor como factor pronostico y de severidad.

## **OBJETIVOS**

### **1. OBJETIVO GENERAL**

1.1 Explicar las alteraciones eritrocitarias, plaquetarias y de coagulación en pacientes contagiados con COVID-19 y su rol en la fisiopatología y pronóstico de la enfermedad.

### **2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

2.1 Caracterizar epidemiológicamente la infección de COVID-19 en Chile

2.2 Describir las alteraciones eritrocitarias, plaquetarias y de coagulación en pacientes contagiados con COVID-19 y los mecanismos moleculares asociados.

2.3 Evaluar el rol fisiopatológico de las alteraciones descritas en la progresión de la enfermedad.

## **METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN**

La búsqueda y selección de artículos se realizó mediante repositorio científico/médico de PUBMED. En este caso debido a que la enfermedad COVID-19 es una situación emergente y dinámica, todo tipo de investigación y artículo científico estaban dispuestos de forma gratuita para su lectura y uso. Todo los artículos seleccionados pertenecen a revistas de corriente principal e indexadas en las bases de datos principales: WoS y SCOPUS. Para corroborar la pertinencia del artículo, se realizó revisión de estos mediante la plataforma SCImago Journal Rank, el cual es un portal que permite conocer tanto la indexación, cuartil, ranking y factor de impacto de cada revista. Finalizada la evaluación, se procede clasificar los artículos científicos recolectado en base a los distintos temas abordados en esta revisión, para su abordaje pertinente en cada sección.

## MARCO TEÓRICO

### 1. INTRODUCCIÓN ENFERMEDAD COVID-19

#### 1.1 Epidemiología y relevancia de la pandemia SARS-Cov-2 en Chile y el mundo.

En diciembre de 2019, se identificó un grupo de casos de neumonía viral inexplicable en Wuhan, una ciudad metropolitana en la provincia de Hubei, China, la mayoría de los casos confirmados estaban relacionados con el mercado de mariscos de Huanan en Wuhan, donde se venden numerosos tipos de animales salvajes vivos, incluidas aves de corral, murciélagos, marmotas y serpientes (6). El 11 de febrero de 2020, la organización mundial de la salud (OMS) anunció la designación oficial de la enfermedad actual asociada a CoV como COVID-19, causada por el SARS-CoV-2, declarándola pandemia el 11 de marzo del 2020 (7, 8). Hasta el 13 de mayo de 2020, se han notificado un total de 4.170.424 casos confirmados de COVID-19 (con 287.399 muertes) en más de 210 países afectados en todo el mundo siendo inicialmente el epicentro de la pandemia en China que informó un número significativo de muertes asociadas con COVID-19, con 84,458 casos confirmados por laboratorio y 4,644 muertes al 13 de mayo de 2020 (7). Se informaron brotes en cruceros como Diamond Princess, donde infectó a 712 (19%) de los 3700 pasajeros y tripulación, en enero de 2020, el SARS-CoV-2 se propagó a Europa, con la mayoría de los casos confirmados notificados en Italia, España, Alemania, Francia y el Reino Unido (9). En Estados Unidos, el primer caso se detectó en Washington informado el 20 de enero y tenía un historial de viajes a Wuhan (10). Italia fue durante muchas semanas el foco de preocupación por la gran cantidad de casos, con 221.216 casos y 30.911 muertes, posteriormente el foco paso a Estados Unidos con mayor número de casos, al 26 de junio ha habido más de 2,422,312 casos confirmados

en los EE. UU. y 9,635 millones de casos en todo el mundo que han contribuido a más de 124,415 muertes en los EE. UU. y 489,922 muertes en todo el mundo (7, 9).

Hasta el 5 de abril de 2020, se notificaron 26,259 casos confirmados de COVID-19 en América Latina, 23,622 en América del Sur y 2637 en América Central (11). El primer caso de COVID-19 en América Latina se detectó en Brasil el 26 de febrero de 2020 de un paciente que había viajado recientemente a Italia (12). En Chile se identificó el primer caso confirmado de COVID-19 el 3 de marzo de 2020, en la ciudad de Talca (11).

Hasta el 18 de abril, Chile a través de su Instituto de Salud Pública de Chile ha secuenciado e incorporado un total de siete genomas del SARS-CoV-2 de las ciudades de Talca y Santiago con una divergencia general que va de 5.983 a 7.984 nucleótidos (11). El aislado Chile / Santiago /2020, obtenido de un viajero de 40 años que regresaba de Italia reveló, además, una mutación de un solo nucleótido (C3393T) con una mutación AA, en el gen ORF1a, A1043V, estos genomas muestran múltiples eventos de introducción a Chile (11).

Con fecha 10 de septiembre de 2020 a nivel internacional son 216 países afectados que reportan casos de COVID-19, con un total de 27.973.127 casos confirmados y 905.426 fallecimientos; a la misma fecha según el informe epidemiológico N°50 en Chile han ocurrido 485.277 casos de COVID-19 con una tasa de 2493,9 por 100.000 habitantes, las mayores tasas de incidencia acumulada por 100.000 habitantes, según casos confirmados por laboratorio se encuentran en la región Metropolitana (3837,1), Región de Tarapacá (3178,4) y Región de Arica y Parinacota (2984,4) (13). En cuanto a la edad de la mediana de edad es de 39 años, donde el 5,8% correspondieron a menores de 15 años, el 24,0% a personas de 15- 29 años, el 30,2% a personas de 30-44 años, el 29,1% a personas de 45-64 años, mientras que el 10,9% restante a adultos de 65 y más (13).

Chile ha seguido una vigilancia epidemiológica basada en consulta médica y búsqueda activas de casos, para ambas estrategias se realiza RT-PCR para SARS-CoV-2 y de acuerdo con este resultado se cataloga caso descartado (negativo), caso confirmado (positivo) y caso indeterminado que se puede considerar un caso probable por criterio clínico o por ser contacto estrecho de caso confirmado; en estas últimas dos situaciones se realiza un manejo clínico según estado de paciente, aislamiento de 14 días desde fecha de inicio de síntomas o desde la toma de muestra de la PCR, búsqueda de contactos y cuarentena, esto se realiza con el fin de una detección precoz y gestión oportuna de personas que requieran atención en servicio de salud, así como también tomar medidas de prevención y control de enfermedades a nivel poblacional (13).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha publicado directrices que fomentan el suministro de información a los profesionales de la salud y al público en general; los recursos, la vigilancia intensificada y el desarrollo de capacidades deben priorizarse con urgencia en países con un riesgo moderado que podrían estar mal preparados para detectar casos importados y limitar la transmisión (12).

## **1.2 Taxonomía del virus SARS-CoV-2**

Los coronavirus son un tipo de virus de ARN monocatenarios no segmentados de 26 a 32 kilobases de longitud, que pueden causar infecciones respiratorias, intestinales y del sistema nervioso central en humanos y animales (14). Se han identificado previamente seis tipos de CoV humanos, incluidos el HCoV-NL63 y el HCoV-229E, que pertenecen al género *Alphacoronavirus*, y el HCoV-OC43, el HCoVHKU1, el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) y el coronavirus del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS-CoV), que pertenece al género *Betacoronavirus*, siendo los dos últimos de mayor importancia clínica (15).

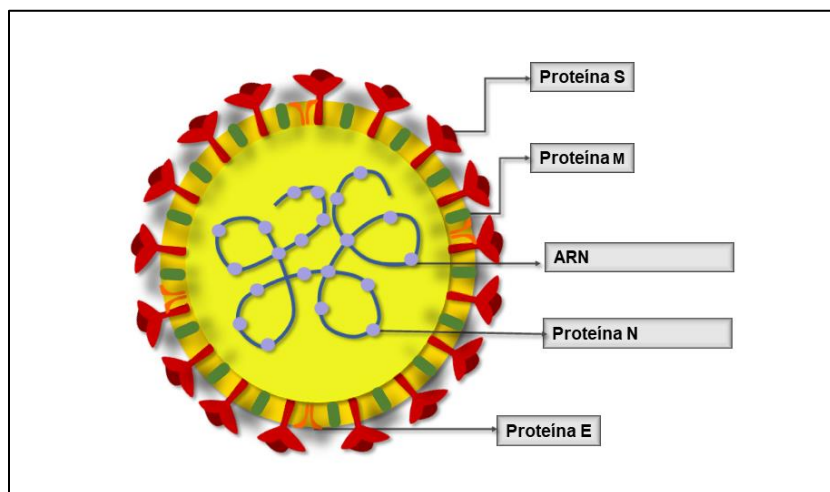


**Tabla 1. Taxonomía de SARS-CoV-2.** Fuente: Elaboración propia Morales, V. (2021)

<b>Dominio</b>	<i>Riboviria</i>
<b>Orden</b>	<i>Nidovirales</i>
<b>Familia</b>	<i>Coronaviridae</i>
<b>Género</b>	<i>Betacoronavirus</i>
<b>Especie</b>	Coronavirus relacionado con el síndrome respiratorio agudo severo

La secuencia del genoma completo del nuevo virus tiene una similitud del 96,2% con la de un coronavirus de murciélago relacionado con el SARS (MG772933) recolectado en la provincia de Wuhan, China, pero tiene una baja similitud con la del SARS-CoV (aproximadamente 79%) o MERS-CoV (aproximadamente 50%) (16). Estructuralmente, el SARS-CoV-2 es de tipo ARN positivo, que tiene cuatro proteínas estructurales principales (figura 1) glucoproteína espiga (S) la cual tiene capacidad de adhesión al huésped, la glucoproteína de envoltura pequeña (E) la cual es altamente hidrofóbica, que desempeña un papel en la producción y maduración de este virus, la glucoproteína de membrana (M) constituida por 3 dominios transmembrana la cual permite la unión y estabilización de las otras proteínas estructurales y la proteína nucleocápside (N) que se une al ARN viral en una estructura helicoidal, protegiendo así al ARN de su degradación, y también varias proteínas accesorias codificadas por genes ORF (4, 17). Este virus usa la glicoproteína espiga superficial (S) en la envoltura para unirse a las células del huésped y median la membrana de la célula huésped y la fusión de la membrana viral durante la infección que incluye dos regiones, S1 y S2, donde S1 es para la unión al receptor de la célula huésped y S2 es para fusión de membrana y es crucial para determinar la capacidad de transmisión, mediando la unión del receptor y la fusión de la membrana-, en comparación con SARS-CoV, esta glicoproteína tiene una menor energía libre total lo cual le proporciona una mayor resistencia a temperaturas altas que puede resultar de la evolución del virus o adaptación a los hospedadores, ya que los coronavirus similares al SARS que normalmente se originan de murciélagos que se caracterizan por una temperatura corporal más alta que los humanos (18, 19). El dominio de unión al receptor (RBD) en la proteína S es la parte más variable del

genoma coronavirus y le proporciona puntos críticos de unión a la enzima convertidora de angiotensina que se expresa en pulmón, corazón, hígado, riñón y vejiga. Por lo tanto, los pacientes infectados con este virus no solo experimentan problemas respiratorios como la neumonía que conduce al Síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), sino que también experimentan trastornos del corazón, los riñones y el tracto digestivo (20).



**Figura 1. Estructura del coronavirus síndrome respiratorio agudo severo 2.** Está conformado por la proteína espiga de adhesión S, la glucoproteína de envoltura E, la glucoproteína de membrana M, la proteína de nucleocápside N y el ARN viral monocatenario positivo. Fuente: Elaboración propia Morales, V. (2021)

### 1.3 Características infección por SARS-CoV-2

El origen proximal del coronavirus es zoonótico centrado en los murciélagos, una propuesta basada en la similitud de su secuencia genética con la de otros coronavirus conocidos, para la infección en humanos existe la posibilidad de un potencial huésped intermediario basado en el aislamiento de un coronavirus de los pangolines que está estrechamente relacionado con el SARS-CoV-2 (21).

La transmisión del coronavirus se da principalmente en 3 pasos: Fuente de infección, ruta de infección y población susceptible y latencia viral (22).

- Fuente de infección

Como se señaló anteriormente, es posible que el origen del virus sea proveniente de murciélagos debido a la identidad en la secuencia genómica de un 96,2% con un coronavirus de murciélago (RatG13) (23). Si bien el huésped intermediario aún está en estudio, se ha establecido que el SARS-CoV-2 de los pangolines malayos con un 99% de similitud con el de tipo humano, lo cual relacionaría este animal como intermediario y posible contagio para el ser humano (22). Sin embargo debido a la amplia variedad de especies y virus aún está en estudio el papel exacto desempeñado por los murciélagos en el origen zoonótico del SARS-CoV-2 no está establecido y también las mutaciones clave como inserciones RBD o sitios de escisión durante su propagación que le permitió adaptarse completamente a los humanos y su propagación (24).

- Ruta de transmisión

El SARS-CoV-2 entra a la célula huésped por gotas o contacto directo o indirecto atravesando el epitelio de la mucosa nasal o por entrada directa en tracto respiratorio superior aunque también se ha detectado en muestras urinarias y fecales, además de lágrimas y secreciones conjuntivales (25). El SARS-CoV-2 se une mediante sus proteínas espiga S, que determinan el tropismo del huésped, interaccionando con la enzima convertidora de angiotensina humana 2 (ECA2) que es un homólogo de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) que está ampliamente distribuida en el organismo y desempeña un papel fundamental en el sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS), que implica la regulación de la presión arterial y la homeostasis de los electrolitos (22). La entrada depende de la unión de la unidad de superficie, S1, lo que facilita la unión viral a la superficie de las células diana (22). Además, la entrada requiere la preparación de la proteína S mediante la serino proteasa TMPRSS2, proteasa similar a la tripsina de las vías respiratorias humanas (HAT) y las catepsinas, lo que implica la escisión de la proteína S en el sitio S1 / S2 y S2 'y

permite la fusión de membranas virales y celulares, un proceso impulsado por la subunidad S2 estableciendo cambios en la penetración, con esto es importante dilucidar que ECA2 también es receptor celular para SARS-CoV, lo que concuerda con la similitud de proteínas entre ambos virus, por lo cual la enzima convertidora en angiotensina humana 2 es un punto crítico en la patogénesis del virus, aunque también un punto de protección contra la lesión pulmonar al bloquear el sistema renina-angiotensina, en contraste el SARS-CoV-2 es más patógeno debido a que presenta una afinidad de 10 a 20 mayor a ECA2 (3, 26). Una vez que el contenido viral se libera dentro de las células huésped, el ARN viral ingresa al núcleo para su replicación, el ARNm se usa para producir proteínas virales (biosíntesis), y luego se producen nuevas partículas virales que son liberadas para seguir la propagación (figura 2) (19).

Los síntomas de pacientes con COVID-19 varían desde asintomáticos hasta insuficiencias respiratorias graves o insuficiencia orgánica, entre los síntomas más frecuentes se presentan la fiebre, tos y/o mialgia (27). Los pacientes asintomáticos, son de gran importancia para la vigilancia epidemiológica debido a que la ausencia de síntomas clínicos no descarta un diagnóstico de la infección por lo cual requieren observación y de ser necesario exámenes adicionales (27).

En cuanto al laboratorio hay hallazgos de lesiones pulmonares multifocales bilaterales con distribución periférica inclinadas a los lóbulos inferiores, debido a que ECA2 se expresa altamente en el lado apical de las células epiteliales pulmonares en el espacio alveolar es probable que este virus pueda ingresar y destruirlas, esto coincide con el hecho de que la lesión pulmonar temprana a menudo se observó en la vía aérea distal, también cambios asociados en los riñones con la lesión tubular difusa con pérdida de integridad del borde en cepillo, daño endotelial de los capilares y agregados de eritrocitos que ocluyen la luminaria capilar (22, 27). Además de hallazgos como linfopenia, trombocitopenia, aumento de

citoquinas proinflamatorias, elevación de dímeros D y productos de degradación de fibrinógeno (4, 28).

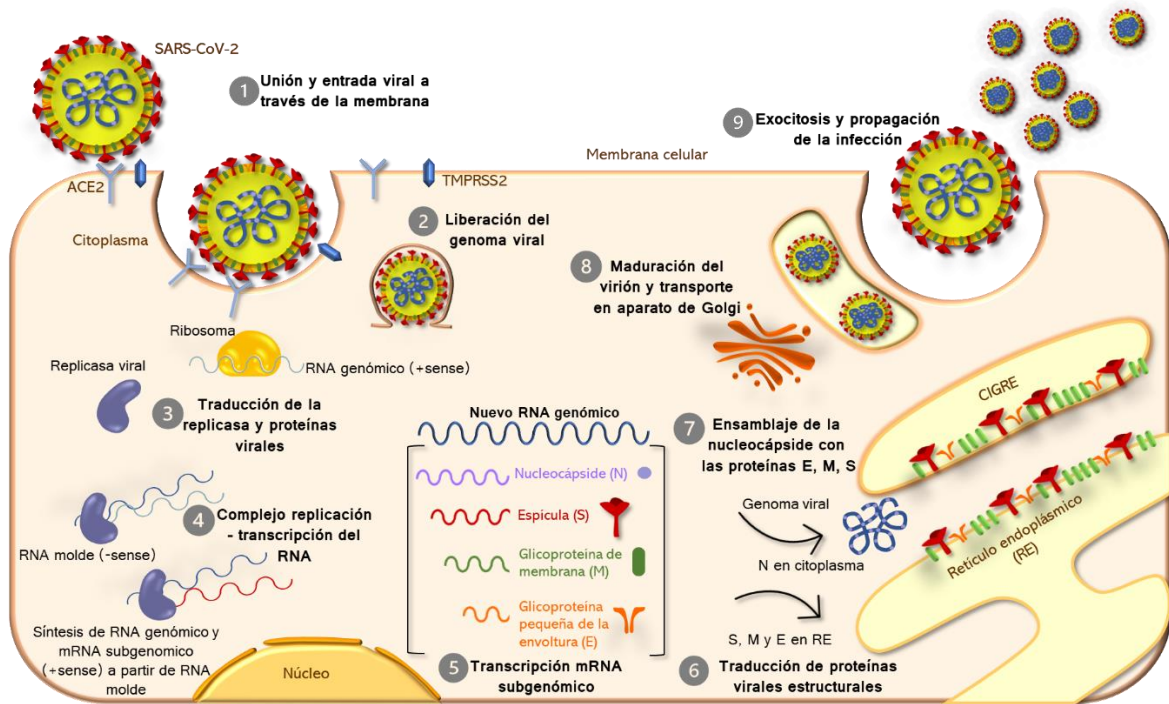
- Población susceptible y latencia viral

En cuanto a la población susceptible en primer lugar se encuentran personas con alguna enfermedad preexistente (hipertensión, diabetes o trastornos cardiovasculares), personas inmunodeprimidas y/o de la tercera edad, aumentando la tasa de mortalidad en edades mayores a 60 años, el periodo de incubación es de 1- 14 días y la mediana del tiempo desde el inicio de los síntomas hasta la disnea fue de 5 días (29).

El curso de la infección es leve o asintomático en aproximadamente el 80-90% de los casos, se presenta grave solo en alrededor del 10% de los casos, con disnea, hipoxemia y compromiso radiológico extenso (> 50%) del parénquima pulmonar, se desarrolla una condición crítica en alrededor del 5% de los casos, con insuficiencia respiratoria, neumonía, shock, insuficiencia multiorgánica y en los casos más graves, muerte, que casi siempre es causada por progresión a SDRA y falla multiorgánica. También se ha informado el desarrollo de insuficiencia respiratoria sin percepción subjetiva de disnea ('hipoxemia silenciosa'), en estos casos, la hipocapnia causada por hiperventilación compensatoria es un hallazgo acompañante (30).

En cuanto a la explicación de la diferencia entre niños y ancianos contagiados con COVID-19, pacientes pediátricos tienen síntomas relativamente leves en comparación con pacientes adultos mayores, es por esto por lo que han surgido varias hipótesis intentando explicar esta diferencia (19).

La primera hipótesis señala que el nivel de expresión de ECA2 sea diferente en ambos grupos etarios, ECA2 se expresaba más abundantemente en células epiteliales ciliadas bien diferenciadas, el pulmón, células y diferentes órganos siguen desarrollándose después del nacimiento, esto podría explicar la menor expresión de ECA2 en la población pediátrica (19). La segunda postura es que los niños tienen una respuesta cualitativamente diferente en comparación con los adultos, que podría estar relacionada con la inmunidad entrenada, la cual representa una memoria inmune innata y está formada por células de inmunidad innata que se convirtieron en "células de memoria" después de la exposición al antígeno, con el envejecimiento, la estimulación continua del antígeno y la involución tímica conducen a un cambio en la distribución del subconjunto de células T de las células T el cual se acompaña de la pérdida de expresión de moléculas co-estimuladoras como CD27 y CD28, con una mayor susceptibilidad a las infecciones (19, 31). También se ha sugerido que las respuestas inflamatorias en adultos y niños son muy diferentes, el envejecimiento está asociado con el aumento de las citocinas proinflamatorias que gobiernan las funciones de los neutrófilos y se han correlacionado con la gravedad del SDRA, en cuanto a la tercera posibilidad es que la presencia simultánea de otros virus en los pulmones y vías respiratorias de la mucosa, común en niños pequeños, puede permitir que el virus SARS-CoV-2 compita con ellos y limite su crecimiento, estas teorías pueden actuar en forma conjunta conllevando a diferentes características fenotípicas en adultos mayores y niños (19).



**Figura 2. Ciclo de replicación del SARS-CoV-2.** Comienza con el reconocimiento de ACE2 lo que desencadena el ingreso y desnudamiento de la partícula dentro del citoplasma celular. Posterior a esto suceden una serie de pasos (3-8) en el cual se utiliza la maquinaria celular para fabricar ARN mensajeros, proteínas y copias de ARN genómico, lo que da lugar al ensamblaje y su posterior salida de la célula infectada. ACE2: enzima convertidora de angiotensina 2, TMPRSS2: serina proteasa transmembrana, CIGRE: compartimiento intermedio de Golgi del retículo endoplásmico.

Tomado y adaptado de Azkur A. y col., 2020 (5)

## **2. SINDROME RESPIRATORIO AGUDO INDUCIDO POR SARS-COV-2 (COVID – 19): DEFINICION CLÍNICA Y ROL DEL LABORATORIO CLÍNICO EN EL DIAGNÓSTICO**

El síndrome de dificultad respiratoria aguda se define como una insuficiencia respiratoria hipoxémica aguda después de un evento agudo (infección viral respiratoria) que se presenta como infiltrados pulmonares bilaterales en las imágenes pulmonares en ausencia de una etiología puramente cardiogénica o hidrostática (32). El síntoma respiratorio común de COVID-19 es tos seca (59,4 a 82%) y en menor grado es el esputo, esto sugiere que la lesión de las células epiteliales alveolares era la principal causa del SDRA relacionado con COVID-19 (33). La etapa exudativa temprana presenta daño alveolar difuso con destrucción de células epiteliales y endoteliales afectando principalmente al sistema respiratorio y puede evolucionar a lesión aguda del miocardio (7,2 a 17%) y la lesión renal aguda (2,9 a 15%) podrían ocurrir en pacientes graves (33). El SDRA por COVID-19 se diagnostica cuando un paciente con infección confirmada por COVID-19 cumple con los criterios de diagnóstico SDRA Berlín 2012 de (i) insuficiencia respiratoria hipoxémica aguda; (ii) presentación dentro de la semana siguiente al empeoramiento de los síntomas respiratorios; (iii) enfermedad bilateral del espacio aéreo en la radiografía de tórax, tomografía computarizada (TC) o ecografía que no se explica completamente por derrames, colapso lobular o pulmonar o nódulos; y (iv) la insuficiencia cardíaca no es la causa principal de insuficiencia respiratoria hipoxémica aguda (34).

Las manifestaciones clínicas de SDRA se dan principalmente por un daño pulmonar alveolar en donde hay formación de membranas hialinas en los alvéolos en el estadio agudo, seguido de ensanchamiento intersticial y edema y luego proliferación de fibroblastos en el estadio organizativo (34), citocinas séricas elevadas (particularmente IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ ), respuestas de interferón deterioradas y linfopenia periférica como marcadores de enfermedad



grave, marcadores séricos inflamatorios asociados incluyen niveles elevados de ferritina, lactato deshidrogenasa, dímero D, proteína C reactiva y factores de coagulación (32).

El objetivo principal de la contención epidémica de COVID-19 es reducir la transmisión de la infección en la población reduciendo el número de personas susceptibles o reduciendo el número reproductivo básico (35). En el caso como brotes virales (SARS-CoV-2), los laboratorios clínicos de diagnóstico juegan un papel fundamental en la detección y aislamientos rápidos y precisos de nuevos microorganismos utilizando la piedra angular de la virología diagnóstica, que son las técnicas de diagnóstico molecular permitiendo tratamiento oportunos de los casos positivos de COVID-19 (35).

El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) recomienda una muestra de hisopado nasofaríngeo y como opción alternativa el esputo o lavado bronqueo alveolar (36). Todas las muestras deben colocarse en un tubo que contenga medio de transporte viral y transportarse al laboratorio a tiempo, en el caso de laboratorio de referencia se deben enviar con triple embalaje (37). Como estándar de oro para el diagnóstico virológico, la detección de virus basada en cultivos es una herramienta importante para el descubrimiento de virus, la investigación de patogénesis y la evaluación de estrategias (38). Sin embargo, la CDC recomienda pruebas basadas en RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa) de COVID-19 debido a que el cultivo viral debe realizarse en una instalación de nivel 3 de bioseguridad y no se recomienda con fines de diagnóstico (37).

Para diagnosticar pacientes sospechosos de COVID-19 se debe incluir una combinación de RT-PCR con evidencia clínica y epidemiológica (probabilidad de exposición con pacientes infectados, signos y síntomas) y hallazgos de la TC (tomografía computarizada) de tórax, junto con exámenes accesorios multisistémicos para evaluar evolución y gravedad que incluyen hemograma, química sanguínea, prueba de coagulación, hígado y función renal,

electrolitos, proteína C reactiva, procalcitonina, lactato deshidrogenasa y creatina quinasa (35, 39). Además, se han desarrollado pruebas de detección rápida de antígenos para detectar la infección activa pero debido al mayor riesgo de resultados falsos negativos se consideran un complemento de las pruebas de RT-PCR (40). Las pruebas de anticuerpos tienen un papel complementario al diagnóstico de COVID-19 aproximadamente después de 10 o más días del inicio de los síntomas, se utilizan en la evaluación de infecciones pasadas y en la definición de la dinámica de las respuestas humorales en pacientes que tuvieron la infección (40).

La disponibilidad de pruebas a gran escala es crucial para monitorear la progresión o disminución del brote y para realizar una estrategia de bloqueo de la transmisión; la red de laboratorios permite una detección rápida del virus, así como también respaldar los sistemas de vigilancia epidemiológica junto con la toma de decisiones (40). Los resultados confiables de las pruebas permiten la utilización adecuada de los escasos recursos hospitalarios, incluido el equipo de protección personal (EPP) y las salas de aislamiento de presión negativa, así como los recursos de salud pública para el rastreo de contactos, la toma de decisiones de aislamiento y para prevenir la transmisión (41).

### **3. ALTERACIONES ERITROCITARIAS DESCRITAS EN PACIENTES COVID-19**

Los glóbulos rojos cumplen un rol fundamental en el transporte de gases en sangre, principalmente del oxígeno (42). En pacientes con COVID-19 se describen diferentes afecciones a los glóbulos rojos, que pueden contribuir y agravar estados inflamatorios, causando hipoxia y falla multiorgánica, pudiendo ser causada por lesiones citopáticas directas e indirectas del virus SARS-CoV-2 (43).

#### **3.1 Alteraciones cuantitativas eritrocitarias**

##### **3.1.1 Anemia en pacientes con COVID-19**

La hemoglobina es una proteína de glóbulos rojos que comprende cuatro subunidades de proteínas globulares a cada una de las cuales se une un grupo hemo el cual contiene un átomo de hierro contenido en un anillo llamado porfirina. Los glóbulos rojos transportan oxígeno a los pulmones y lo transportan al resto del cuerpo mediante la unión reversible de oxígeno al ion hierro en los grupos hemo (42). Los valores de hemoglobina están reducidos en pacientes con COVID-19 con enfermedad grave, en comparación con aquellos con formas más leves, lo que confirma la evidencia previa obtenida de pacientes con otros tipos de neumonía (44). La anemia se considera un factor de riesgo independiente asociado a la enfermedad grave en COVID-19, pacientes con la enfermedad presente y anemia tienen más probabilidades de desarrollar enfermedades graves, además, los pacientes tienen un mayor riesgo de reacciones inflamatorias graves y lesiones de órganos con un empeoramiento a la función pulmonar y una mala oxigenación de los tejidos debido una disminución de la capacidad para soportar el aumento de la demanda de oxígeno del tejido periférico debido a los estados

hipermetabólicos durante la infección, lo que se asocia a un mayor riesgo de enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (45, 46).

- Mecanismos causantes de anemia en pacientes COVID-19

La anemia en casos moderados y graves de pacientes con COVID-19 se caracterizan por un estado hiperinflamatorio lo que conduce a la alteración de diversos factores tales como la homeostasis del hierro e inhibición de la eritropoyesis, esto junto con la acción directa que puede tener el virus sobre los glóbulos rojos, puede causar un déficit de hemoglobina y glóbulos rojos maduros circulantes, lo que puede agravar los síntomas clínicos (47).

- Daño directo del SARS-CoV-2 en los glóbulos rojos

El SARS-CoV-2 podría interactuar con moléculas de hemoglobina en el eritrocito a través de los receptores ECA2, CD147 y CD26, la proteína ORF8 viral y la glicoproteína de superficie se unirían a la porfirina atacando al hemo de la cadena 1- beta de hemoglobina causando hemólisis o formando complejos con el hemo liberado generando una hemoglobina disfuncional y un transporte reducido de oxígeno y CO<sub>2</sub> (48). También es posible que el virus SARS-CoV-2 invada los eritrocitos a través del receptor CD147 el cual es una molécula de adhesión expresada en todas las etapas durante la diferenciación y maduración de los eritrocitos, lo que provoca la hemolisis de glóbulos rojos (49).

La disminución de la hemoglobina con un aumento de precursores eritroides en circulación sugiere que la infección por SARS-CoV-2 induce directa o indirectamente la eritropoyesis por estrés, indicando una eritropoyesis aberrante y es una característica para estados tanto graves como fatales en pacientes con COVID-19 (47). El SARS-CoV-2 puede infectar directamente los progenitores hematopoyéticos denominados ERP-S2 (CD71+,

CD235A-), el cual incluye células CFU-E (formadoras de colonias eritroides) y células proeritroblásticas tempranas, estos presentan niveles más altos de ECA2 y constituyen la célula diana principal que se infecta durante la eritropoyesis, lo cual conduce a la propagación del virus a través de células infectadas circulantes, así como a la inflamación local en la médula ósea a causa de los progenitores eritroides infectados con consecuencias en la interrupción de la eritropoyesis y producción de células del sistema inmune (47).

Los cambios inflamatorios causados por la infección por SARS-CoV-2 podrían interferir con la eritropoyesis, lo que provocaría una disminución de la hemoglobina (50). Las anomalías de estos parámetros se pueden asociar con comorbilidades que se explican por la incapacidad de la médula ósea para producir suficientes glóbulos rojos para transportar oxígeno y debido a daños pulmonares inducidos por el virus que dificulta el intercambio gaseoso (50, 51).

- Desregulación del metabolismo del hierro en pacientes con COVID-19

Se ha encontrado una similitud de secuencia distante entre la cola citoplasmática rica en cisteína de la proteína S del SARS-CoV-2 y la proteína hepcidina, lo que conlleva a la hipótesis de que el virus podría imitar la acción de la hepcidina, causando aumento de la ferritina circulante y tisular, favoreciendo la entrada de hierro a las células e induciendo una deficiencia de hierro sérico al inducir un bloqueo de la ferroportina una proteína exportadora de hierro, lo que provoca la deficiencia de hierro sérico y la falta de hemoglobina (48, 52, 53).

En pacientes con COVID-19 se ha encontrado un aumento de ferritina sérica, lo que contribuye a una desregulación del metabolismo del hierro y la anemia podría ser el resultado de una eritropoyesis con restricción de hierro (49). El hierro cumple un papel fundamental para que los glóbulos rojos puedan transportar oxígeno y actúa como donante o aceptor de

electrones en diferentes funciones biológicas, en estados de hipoferrremia se restringe la captación de hierro por los precursores de eritrocitos, limitando la síntesis de hemoglobina y causando anemia (46). La hepcidina secuestra al hierro en los enterocitos y macrófagos, lo que conduce a un aumento de ferritina intracelular y previene la salida del hierro de las células, es el principal regulador del metabolismo del hierro, esta hormona se une a la ferroportina y facilita su degradación, reduciendo así la absorción de hierro (49). La hepcidina está regulada por el hierro sérico alto o bajo, además de otros agonistas como la IL-6 (interleucina 6), hiperoxemia, obesidad y diabetes (48). De lo contrario la hepcidina disminuye en condiciones de hipoxemia, con la liberación de factores inducidos por hipoxia (FIH), eritropoyetina y por anemia (48).

La regulación al alza de la hepcidina es común después de una infección viral, por lo que hay una disminución en la absorción de hierro y un aumento en el almacenamiento de hierro en los macrófagos (49). El secuestro de hierro en los tejidos da como resultado un aumento de la ferritina, lo que induce ferroptosis la cual es un proceso de muerte celular programada mediada por mecanismos de peroxidación dependientes del hierro que se desarrolla en patologías inflamatorias, también se genera un alto estrés oxidativo y lipoperoxidación, ya que el exceso de hierro intracelular interactúa con el oxígeno molecular generando especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales generan daño oxidativo en diferentes órganos (49, 54). Además de ser un marcador de fase aguda que indica estados de inflamación, la ferritina contribuye al desarrollo de la tormenta de citoquinas, esto puede ser debido a que la cadena H de la ferritina podría cumplir una función en la activación de macrófagos para aumentar la secreción de citocinas inflamatorias observadas en pacientes con COVID-19 (46, 54). La ferritina también podría aumentar debido a la regulación del sistema inmune para contrarrestar la infección por SARS-CoV-2, para una adecuada replicación viral se necesita de un metabolismo celular funcionando y niveles óptimos de hierro en las células, por lo que el sistema inmune innato actúa disminuyendo la biodisponibilidad de hierro para limitar la replicación del virus durante la fase aguda, de esta forma a través de IL-6 y receptor tipo Toll-4 aumentan los niveles de hepcidina y por lo tanto bloquear el transporte de hierro y

disminuir su absorción, provocando el secuestro celular de hierro, dando como resultado una menor disponibilidad de hierro para la eritropoyesis agravando la anemia (46).

- Aumento de la destrucción de glóbulos rojos

Se ha asociado la infección por COVID-19 con anemia hemolítica autoinmune (AHIA), la cual es un trastorno autoinmune caracterizado por autoanticuerpos que reaccionan con los glóbulos rojos propios y provocan su destrucción (55). La presencia de anticuerpos o fracciones del complemento unidos a glóbulos rojos se debe a la hiperinflamación en pacientes con COVID-19 que mejora la deposición de complementos C3 y la unión de autoanticuerpos IgG a la membrana de los glóbulos rojos, promoviendo su eliminación por macrófagos (56).

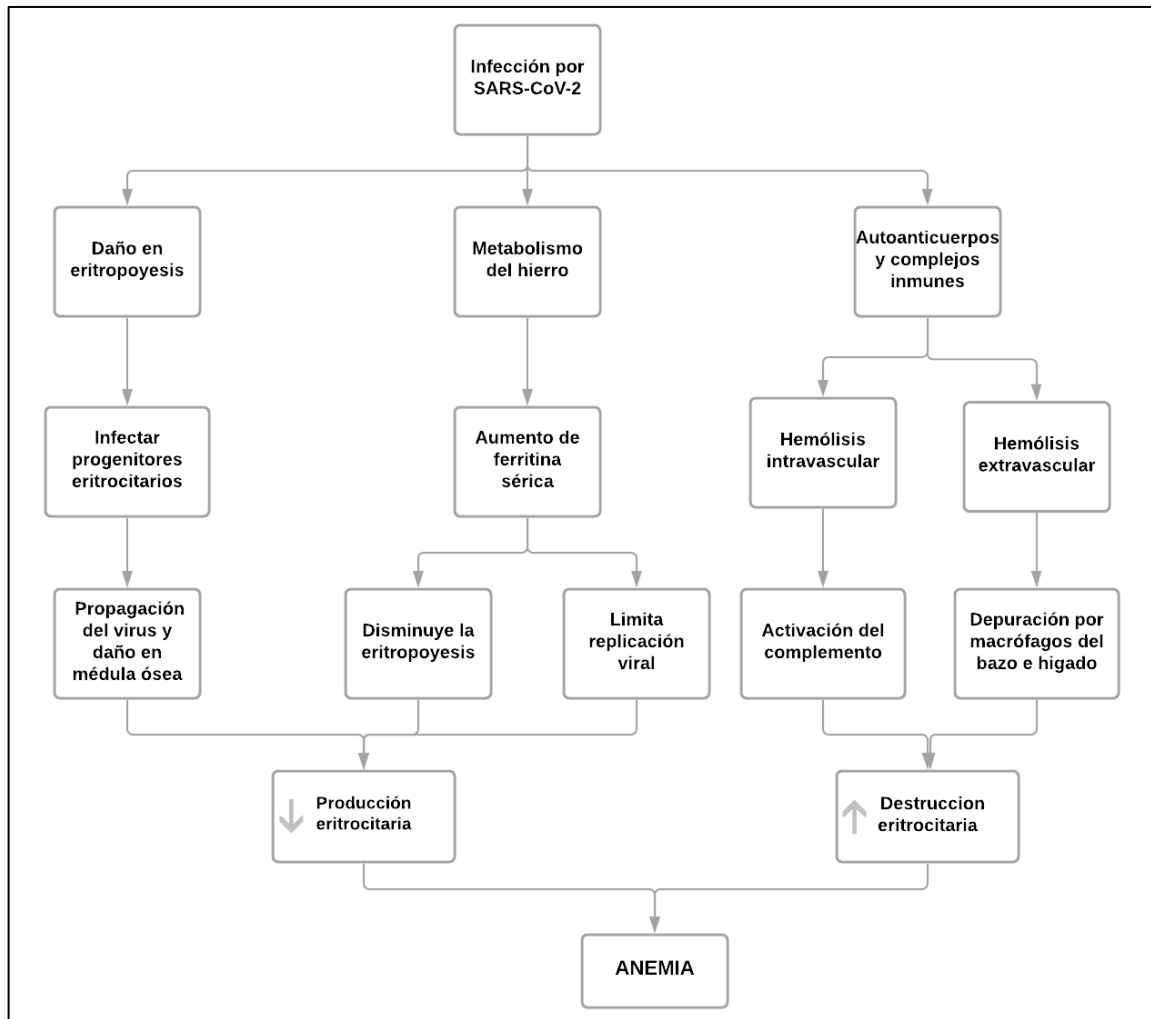
En pacientes con COVID-19 y anemia se visualizan presencia de formaciones de rouleaux los cuales se atribuyen generalmente a un aumento de las proteínas catódicas, como las inmunoglobulinas y el fibrinógeno, como ocurre durante las infecciones virales (57). La aglutinación espontánea de glóbulos rojos depende del complemento y / o el recubrimiento de anticuerpos de los glóbulos rojos, una característica común de la anemia hemolítica autoinmune, se presentan varias anomalías en la forma de los eritrocitos compatibles con los mecanismos hemolíticos, tales como esferocitos el cual se relaciona con el grado de hemólisis, esquistocitos como consecuencia del daño de la membrana inducido por hebras de fibrina que ocurren en la trombosis vascular con microangiopatía, que son una característica común en la neumonía por COVID-19, además de estomatocitos, knizocitos los cuales se relacionan con una pérdida de propiedades elásticas (57).

Pacientes con COVID-19 pueden presentar diferentes características morfológicas que se pueden asociar a una lesión en los glóbulos rojos como consecuencia de mecanismos inmunomediados y / o daño celular físico debido a la microangiopatía por COVID-

19 asociadas a una membrana más rígida que las células en estado normal estos se puede combinar con las propiedades protrombóticas de los glóbulos rojos en las anemias hemolíticas inmunes; siendo la pérdida de la biconcavidad de los eritrocitos una característica común, que junto con la activación del complemento en pacientes con COVID-19 pueden facilitar el apilamiento de los eritrocitos y la aglutinación espontánea, y posiblemente contribuir a la trombosis microvascular (57, 58).

Las anemias hemolíticas hereditarias y adquiridas, surgen producto de la hemólisis intravascular mediada por el complemento o extravascular a través de la fagocitosis mediada por anticuerpos y el complemento, con liberación de hemoglobina extracelular libre a la sangre. La hemólisis se acompaña de condiciones (pro) trombóticas que pueden variar desde una leve hipercoagulabilidad detectada por signos de laboratorio hasta complicaciones potencialmente mortales, como coagulación intravascular diseminada y tromboembolismo venoso (58). La hemólisis puede resultar en tales condiciones protrombóticas a través de diferentes mecanismos, se liberan hemoglobina y hemo libres, que son tóxicos para muchas células y tejidos, la hemoglobina secuestra NO (óxido nítrico) y, por lo tanto, mejora la adhesión / agregación de plaquetas y la activación de células endoteliales y el hemo libre también genera especies reactivas de oxígeno, regula al alza la actividad de la hemo oxigenasa y activa directamente los macrófagos y las células endoteliales (58, 59).





**Figura 3: Esquema de los principales mecanismos causantes de anemia asociada a COVID-19.** SARS-CoV-2, síndrome respiratorio agudo severo 2; ↑aumento de un elemento; ↓Disminución de un elemento. Fuente: Elaboración propia Morales, V. (2021).

### 3.2 Alteraciones cualitativas y funcionales de glóbulos rojos

#### 3.2.1 Ancho de distribución de los glóbulos rojos en pacientes con COVID-19

En ancho de distribución de glóbulos rojos (RDW) refleja en grado de heterogeneidad en el volumen de eritrocitos circulantes, dado que los eritrocitos disminuyen su volumen celular a lo largo de su vida, un aumento de este valor puede reflejar alguna situación clínica en la

producción de glóbulos rojos asociados a inflamación o ser indicativo de hemólisis. En pacientes con COVID-19 se encontraron niveles más altos de RDW y se asociaron con resultados desfavorables más aun en pacientes con síntomas graves o no supervivientes, proporcionando un pronóstico para pacientes hospitalizados por COVID-19 (60, 61).

Se pueden explicar diferentes mecanismos potenciales asociados a la presencia de anisocitosis en pacientes con COVID-19, que abarca la lesión citopática directa debida a la infección de los eritrocitos circulantes o sus precursores de la médula ósea, ya que el SARS-CoV-2 produce un estado de hiperinflamación con posterior estimulación de la médula ósea lo que puede afectar la cinética de los glóbulos rojos, la supresión o daño a la medula ósea produce una desregulación inmunológica lo que conlleva a presentar anemia debido a la disminución de los glóbulos rojos, para intentar compensar esta pérdida se liberan células progenitoras eritroides inmaduras al torrente sanguíneo, dando resultado un rango más amplio de tamaño de glóbulos rojos que aumentan los niveles de RDW, también puede producirse daño indirecto de los eritrocitos como consecuencia de la anemia hemolítica o la coagulopatía intravascular, en este estado la excesiva producción de citoquinas proinflamatorias puede afectar a la hematopoyesis alterando la liberación o respuesta de la eritropoyetina, o afectando a la función y estructura de los glóbulos rojos, aumentando su fragilidad y variabilidad en su tamaño, en esta misma línea asociado a la respuesta inflamatoria, puede afectar la absorción y accesibilidad del hierro imprescindibles para la hematopoyesis, así como también generar daño oxidativo de los eritrocitos, que en última instancia afectaría su biología y morfología (60, 61).

El desarrollo de micro y macrotrombos en muchos vasos sanguíneos causan daño en la estructura de los glóbulos rojos, que contribuiría a la presencia de eritrocitos con muchas anomalías morfológicas (especialmente esquistocitos) y heterogeneidad de gran tamaño dentro de la circulación. Además, es posible que tales microtrombos puedan perpetuar la lesión renal aguda (LRA), lo que podría conducir a una producción interrumpida de

eritropoyetina, exacerbando así la anisocitosis y / o anemia en pacientes con COVID-19 (61, 62).

### 3.2.2 Cambios en la membrana del glóbulo rojo en pacientes con COVID-19

Los glóbulos rojos pueden ser atacados directa o indirectamente por patógenos infecciosos, que pueden penetrar las células, promover directamente la hemólisis intravascular, causar indirectamente hemólisis o acelerar la eliminación de los glóbulos rojos en el torrente sanguíneo por macrófagos reticuloendoteliales esplénicos y hepáticos (63).

En un estudio realizado en el Centro Médico Irving de la Universidad de Columbia y el Hospital Presbyterian de New York al analizar el metabolismo y el proteoma en pacientes con COVID-19 se han encontrado alteraciones en la vía de degradación de proteínas, ferroptosis, cascadas de señalización de AMP cíclico y AMPK (64). Además presentan alteraciones en la vía glucolítica, esto se visibiliza por el consumo de sacarosa y la acumulación de intermediarios glucolíticos tales como la glucosa 6-fosfato, fructosa bifosfato, gliceraldehido 3-fosfato, difosfoglicerato y NADH entre otros, esto se contrasta con el aumento de PFK (fosfofructoquinasa) la cual limita la glucólisis y también disminución de fosfoglucomutasa 2 similar a 1 (PGM2L1) la cual cataliza la síntesis de bifosfato hexosa, por lo que se ralentiza la glucólisis con la acumulación de intermediarios, esto acompañados de oxidación y fragmentación de proteínas estructurales tales como anquirina, espectrina beta y el dominio citosólico N-terminal de la banda 3 (AE1), esta última es una proteína de membrana que funciona como un sensor del estado redox y de necesidades metabólicas, además de participar en el cambio de cloruro y como sitio de acoplamiento de proteínas estructurales, lo que sugiera que el SARS-CoV-2 puede actuar modificando el metabolismo (64).

Los glóbulos rojos están expuesto a un mayor estrés oxidativo durante la infección, esto se representa por el acúmulo de ribosa fosfato un producto final de la vía de las pentosas fosfato (PPP), lo que indica que no se generan equivalentes reductores como el NADPH para combatir el estrés oxidativo, así mismo hay un mayor nivel de glutatión oxidado (GSSG) pero no reducido (GSH). Los niveles bajos de arginina y de citrulina, con un aumento de la ornitina sugieren un aumento potencial de la actividad de la arginasa y una disminución de la sintasa de NO (óxido nítrico) en los glóbulos rojos de pacientes con COVID-19, esto sugiere que la maquinaria enzimática antioxidante se deteriora posiblemente por la degradación de enzimas redox debido al aumento de componentes de degradación como la proteína similar a la ubiquitina NEDD8, la proteína 1 disociada de NEDD8 asociada a culina (CAND1) y la ubiquitina-proteína ligasa 3 HUWE1, lo que sugiere una mayor degradación de proteínas de eritrocitos en pacientes con COVID-19 (64).

Los lípidos de membrana en pacientes con COVID-19 se encuentran con niveles significativamente más bajos, tales como la acicarnitinas de cadena corta y media, y ácidos grasos de cadena corta; esto se relaciona con alteraciones en niveles de ácidos fosfatídicos (PA), esteroides (ST), esfingolípidos (SPH) y ácidos lisofosfatídicos (LPA), esto se puede asociar a la replicación del virus, la cual necesita de ácidos grasos para formar su membrana viral (64). Los cambios en las proteínas estructurales y lípidos de membrana se relacionan con cambios en la morfología de los eritrocitos en la formación del coagulo, y afectar a la homeostasis de la célula conduciendo a agravamiento de la infección por SARS-CoV-2 (64).

## **4. ALTERACIONES PLAQUETARIAS DESCRITAS EN PACIENTES COVID-19**

Durante una infección las plaquetas sufren diversas modificaciones con el fin de activarse para formar y controlar el tamaño de agregados con células que median la inmunidad como neutrófilos, monocitos, eosinófilos y células dendríticas, además modulan la actividad de los linfocitos B y T al secretar diversas sustancias como la serotonina y PF4 (factor 4 plaquetario), internalizando diferentes virus y liberando citoquinas proinflamatorias, por lo que se considera un regulador importante de la respuesta viral (65).

### **4.1 Alteraciones cuantitativas de plaquetas**

#### **4.1.1 Trombocitopenia por COVID-19**

Los cambios hematológicos como la trombocitopenia y linfopenia son comunes en pacientes con COVID-19, los niveles de plaquetas se encuentran en un rango de 150.000 a 450.000 plaquetas/ $\mu$ l, un recuento menor a 150.000 plaquetas / $\mu$ l se considera una trombocitopenia, siendo una consecuencia frecuente en diferentes enfermedades infecciosas (tabla 2), los patógenos más comunes que inducen trombocitopenia son los virus (28%) y las bacterias (28%) seguidos de los hongos (15%) (66, 67).

Pacientes con COVID-19 graves y/o que presentan comorbilidades (enfermedad pulmonar obstructiva, hipertensión, diabetes, enfermedad cardiovascular, enfermedad cerebrovascular y enfermedad renal crónica) tenían recuentos de plaquetas disminuidos, así como también trastornos de la coagulación (66). En estudios realizados en Wuhan con pacientes con COVID-19 en donde se compararon las características clínicas entre pacientes

con y sin trombocitopenia; los pacientes con trombocitopenia requerían una mayor proporción de terapia de ventilación no invasiva (26,% frente a 10,5% en pacientes con recuentos plaquetarios normales), además los sobrevivientes presentaban una tendencia creciente al nivel de plaquetas en comparación con los no sobrevivientes, manteniendo la tendencia de mortalidad intrahospitalaria con la magnitud de disminución del recuento plaquetario, por lo que se demostró que las plaquetas son riesgos independientes de mortalidad y el incremento en el recuento de plaquetas se asocian significativamente con 40% de disminución de la mortalidad en todos los pacientes, cuando aumentaban las plaquetas, el riesgo de muerte disminuía durante el tratamiento y viceversa, por lo tanto, sirve como un indicador clínico del empeoramiento de la enfermedad durante la hospitalización (68, 69).

**Tabla 2: Incidencia de trombocitopenia en enfermedades infecciosas.** Fuente: Elaboración propia Morales, V. (2021)

<b>Enfermedad infecciosa</b>	<b>Trombocitopenia (%)</b>	<b>Referencias</b>
<b>Influenza</b>	<5	Leung C. y col., 2014(70)
<b>NAC</b>	<5	Prina E. y col., 2013(71)
<b>Mononucleosis infecciosa</b>	25-50	Walter R. y col., 2002(72)
<b>Infección por citomegalovirus</b>	2,7-18,3	Jin MJ. y col., 2018(73) Çelikel M. y col., 2015(74)
<b>SARS</b>	20-55	Yang M. y col., 2004(75)
<b>MERS</b>	24,3-46,6	Zhou M. y col., 2020(76)
<b>COVID-19</b>	5-41,7	Lippi G. y col., 2020(77)

NAC: neumonía adquirida en la comunidad; SARS: coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo; MERS: síndrome respiratorio de Oriente Medio; COVID-19: enfermedad por coronavirus de 2019.

- Mecanismos causantes de trombocitopenia en pacientes COVID-19

La disminución del recuento de plaquetas circulante durante un proceso infeccioso sugiere la disfunción de órganos o descompensación fisiológica, y puede deberse a causas multifactoriales tanto de acción directa del virus o como consecuencia de la infección, lo cual se visibiliza en que aquellos pacientes con trombocitopenia también presentan menor recuento linfocitos lo que contrarresta con niveles altos de procalcitonina y proteína C reactiva, conduciendo a un trastorno de la homeostasis (78, 79).

- Disminución de la producción plaquetaria

El mecanismo por el cual el SARS-CoV-2 causa trombocitopenia podría ser similar al SARS causado por SARS-CoV debido a que presentan un 82% de homología en sus nucleótidos utilizan el mismo receptor, ECA2, para invadir celular y tejidos del huésped (66). Los coronavirus pueden infectar a células de la médula ósea induciendo una hematopoyesis anormal, inhibiendo el crecimiento al unirse al CD13 o CD66a de las células hematopoyéticas y las células del estroma de la médula ósea (78). El CD13 o la aminopeptidasa N humana es una metaloproteasa presente en superficies celulares de los pulmones, intestino y riñones, siendo un marcador de granulocitos y monocitos, el cual se encuentra en células del músculo liso, células epiteliales del tracto respiratorio y músculo liso, células endoteliales activadas, linfocitos y plaquetas, CD66a o CEACAM1a es una molécula de adhesión expresada en células CD34+ de la médula ósea, granulocitos y linfocitos activados, por lo que el SARS-CoV-2 podría internalizarse mediante estos receptos en células CD34+ y líneas celulares de megacariocitos e inducir la inhibición del crecimiento mediante la rápida replicación viral y apoptosis en la médula ósea, con resultado de una hematopoyesis anómala y un recuento disminuido de los glóbulos rojos (66, 75, 80).

Después de la infección por SARS-CoV-2, se evidenció que las células T se activaron para convertirse en células T Helper para producir el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) e IL-6, el GM-CSF estimuló a colonias de monocitos inflamatorios (CD14+ y CD16+), que junto con macrófagos mononucleares inflamatorios producen más IL-6 y otros factores inflamatorios promoviendo la tormenta inflamatoria, lo cual se relaciona con la gravedad de la enfermedad, causando daño en pulmones y otros órganos, se contempla que producto de la tormenta de citocinas, las células progenitoras hematopoyéticas fueron destruidas, por lo que disminuye el recuento de plaquetas tanto en la producción como en el consumo de ellas en sangre periférica (80-82).

La proteína S del SARS-CoV-2 y citoquinas inflamatorias tales como interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) y factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) que regulan de manera negativa a la ECA2, provocando una disfunción del sistema renina-angiotensina (RAS) y potenciando la inflamación y la permeabilidad vascular con aumento de la inflamación (83). Esto afecta de igual manera a la médula ósea, ya que todos los componentes principales del RAS son detectables en células sanguíneas circulantes normales derivadas de la médula ósea, el ARNm de renina se expresa en células madre hematopoyéticas CD34+, la angiotensina II altera la proliferación y diferenciación de precursores eritroides y mieloides de CD34+ mediante receptores AT1. Las células estromales de la médula ósea también expresan ARNm del receptor AT1 y responden a la estimulación de angiotensina II con una mayor liberación de ácido araquidónico el cual es un modulador de la hematopoyesis lo cual sugiere una regulación local de la hematopoyesis mediada por RAS, por lo que un sistema renina-angiotensina disfuncional da lugar a anomalías en el microambiente de la médula ósea lo cual afecta a la función de células madre disminuyendo la diferenciación y maduración de megacariocitos (66, 84).



- Aumento de destrucción plaquetaria

La interacción entre el virus y las células huésped da como resultado la producción de anticuerpos específicos, los cuales tienen relevancia en la eliminación viral, sin embargo, en la infección por SARS-CoV los anticuerpos de proteína anti-S pueden causar lesión pulmonar grave al alterar la respuesta inflamatoria, provocando un daño alveolar difuso que persiste en etapas tardías (66, 83). Anticuerpos neutralizantes de la proteína S de tipo IgG (anti S-IgG) antes del aclaramiento viral alteran la polarización funcional de los macrófagos alveolares, generando una acumulación proinflamatoria de monocitos /macrófagos y producción de MCP (la proteína quimioatrayente de monocitos 1 ) e IL-8 en los pulmones, estas respuestas proinflamatorias iniciadas por anti-S-IgG parecen estar mediadas por la unión del complejo virus-anti-S-IgG a los receptores Fc (FcR) presentes en los monocitos / macrófagos, ya que el bloqueo de FcR reduce la producción de citocinas inflamatorias. También es posible que dicho complejo virus-anti-S-IgG pueda activar adicionalmente la vía clásica del sistema del complemento, lo que conduce a daños celulares (83).

Los coronavirus pueden desencadenar una respuesta autoinmune contra las células sanguíneas, formando autoanticuerpos antiplaquetarios (anti- GPIIb /IIa, GP-Ib/IX o GP-V) y complejos inmunes (77). Una explicación probable de la formación de autoanticuerpos se derivan del mimetismo molecular entre el virus y las proteínas humanas; las respuestas inmunitarias generadas contra el SARS-CoV-2 pueden reaccionar de forma cruzada con proteínas humanas que comparten secuencias peptídicas del virus, se ha encontrado intercambio de péptidos entre la glicoproteína del SARS-CoV-2 y proteínas tensioactivas pulmonares alveolares tales como receptos de adenosina (AA2BR) el cual se expresa en células epiteliales alveolares, jugando un rol antiinflamatorio; así como también miembros de la subfamilia A del casete de unión a ATP3 (ABCA3) que cumple un rol crucial en la formación del compartimiento de almacenamiento del tensioactivo, cuerpo laminar y se relaciona con enfermedades pulmonares intersticiales crónicas (85, 86). Se producen complejos inmunes circulantes que contienen componentes de la membrana plaquetaria, los

cuales serán depositados en la superficie de las plaquetas, serán reconocidos por las células reticuloendoteliales y las plaquetas se destruirán como tejidos diana (80).

Se han reportado trombocitopenia por casos de púrpura trombocitopénico inmune asociado a pacientes COVID-19, las plaquetas están recubiertas de anticuerpos antiplaquetarios y complejos inmunes que dan como resultado su aclaramiento en el reticuloendotelial mediado por macrófagos esplénicos y células de Kupffer hepáticas (89). Las células T citotóxicas CD8+ pueden causar directamente lisis plaquetaria, inducir apoptosis de plaquetas e inhibir la producción de plaquetas por maduración de megacariocito, las células T reguladoras CD4+ se encuentran con niveles bajos en casos graves, las cuales regulan negativamente células inmunitarias para el mantenimiento de la auto tolerancia y la homeostasis, lo cual resulta en una respuesta inmunitaria desregulada con respuestas inflamatorias agravadas, tormenta de citoquinas y empeorar el tejido dañado (87-89).

- Daño pulmonar causado por COVID-19

Los exámenes histológicos de la necropsia pulmonar de pacientes con COVID-19 revelaron daño alveolar difuso bilateral con exudados fibromixoides celulares e infiltrados inflamatorios mononucleares intersticiales dominados por linfocitos, estos hallazgos se relacionan a los que se observan en el SARS o MERS (90). El daño pulmonar da como resultado una lesión del endotelio pulmonar, que a su vez conduce a la activación, agregación y retención de plaquetas en los pulmones, con formación de trombos que conduce a un consumo de plaquetas y megacariocitos, además la infección pulmonar, produce una replicación viral en las células invadidas, que resulta en apoptosis de células epiteliales y endoteliales (77, 78, 91).

La contribución de los pulmones a la biogénesis plaquetaria es aproximadamente el 50% de la producción total de plaquetas. Se evidenció que una gran cantidad de megacariocitos circulan en los pulmones, donde se liberan de forma dinámica frente a los requerimientos del organismo, por lo que se considera un sitio de liberación de plaquetas de megacariocitos maduros(78, 92). De igual manera, poblaciones de megacariocitos maduros e inmaduros junto con progenitores hematopoyéticos residen en los espacios extravasculares del pulmón, en condiciones de trombocitopenia y deficiencia de células madre en la medula ósea estos progenitores pueden migrar fuera del pulmón para repoblar la medula ósea contribuyendo al aumento de la población celular de múltiples linajes, por lo que una disminución o alternancia morfológica en este órgano conduce a una disminución de la fragmentación de megacariocitos (66, 78, 92).

La hipertensión persistente, la toxicidad por oxígeno, la intubación traqueal y el cateterismo venoso profundo son factores potenciales que afectan los cambios plaquetarios que exacerbaban la lesión pulmonar, lo que resulta en cambios de consolidación como la fibrosis (80). Los lechos capilares pulmonares dañados provocan el bloqueo del proceso de ruptura de megacariocitos y la liberación de plaquetas, lo que afecta la liberación de plaquetas hacia la circulación pulmonar e indirectamente conduce a una síntesis reducida de plaquetas en la circulación sistémica.(78, 80, 91).

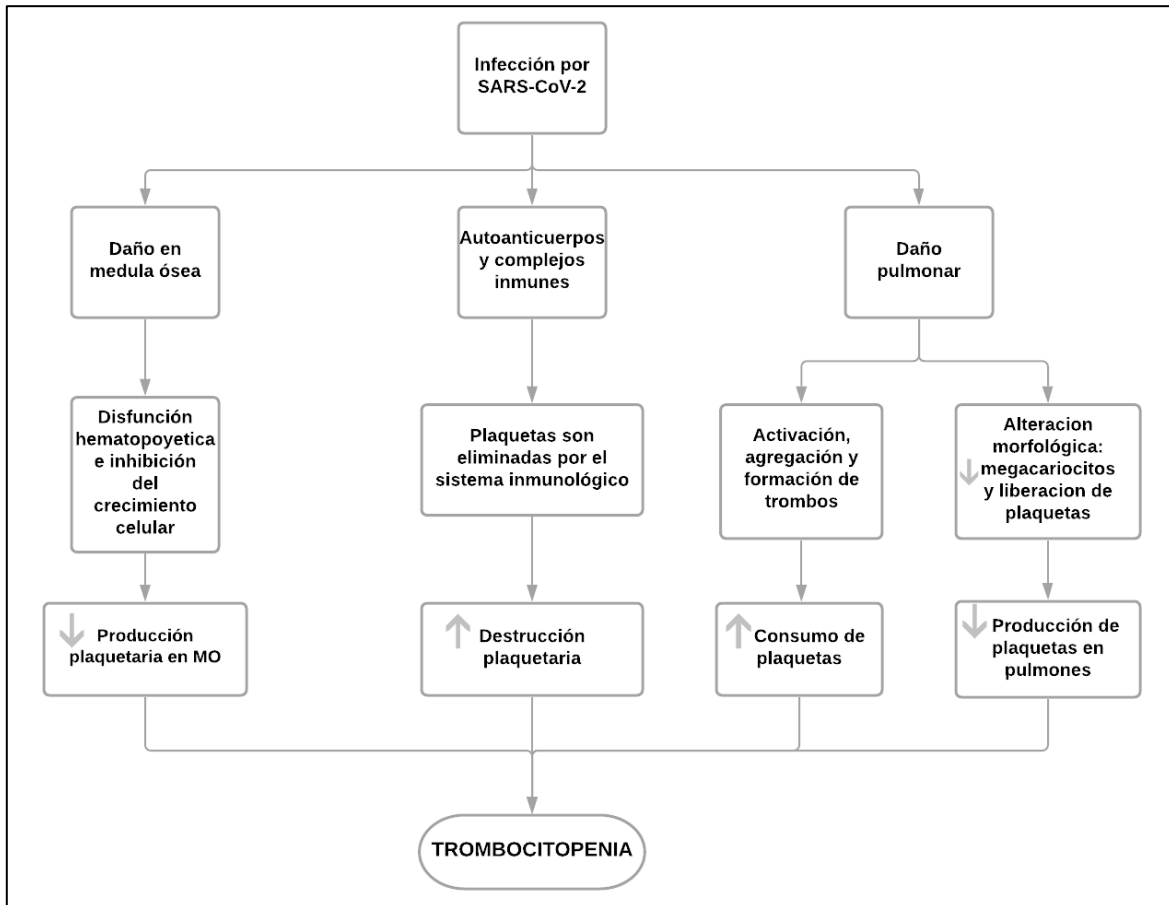
- Otros mecanismos causantes de trombocitopenia

La infección alveolar difusa, la activación de mecanismos inmunes innatos, la desregulación de la expresión de la proteína ECA2 y las respuestas inmunitarias antivirales adaptativas marcadas podrían contribuir a una inmunotrombosis pulmonar extensa, lo que resulta en la agregación y formación de trombos con consecuencia en el aumento del consumo de plaquetarias (93).

El SARS-CoV-2 induce un estado de coagulopatía intravascular diseminada de bajo grado, debido a la combinación de trombocitopenia, tiempo de protrombina prolongado y aumento de dímero D, la cual se caracteriza por el desencadenamiento de reacciones inflamatorias del huésped, como parte de su inmunidad innata (78). Los pacientes que presentan una infección por virus pueden desarrollar sepsis asociada con disfunción orgánica, el desarrollo de CID se produce cuando los monocitos y las células endoteliales se activan, con expresión del factor tisular (FT), secreción del factor Von Willebrand y una mayor producción de citoquinas proinflamatorias como el TNF- $\alpha$  y las IL- 1 y 6 producidas por macrófagos y monocitos en el pulmón, lo que provoca la activación plaquetaria y la expresión de factor tisular en las células mononucleares iniciando la activación de la cascada de la coagulación y generación de trombina lo que causaría un mayor consumo de plaquetas en los pulmones dañados (78, 94, 95).

La heparina es un anticoagulante ampliamente utilizado durante cirugías vasculares invasivas y puede causar una complicación conocida como la trombocitopenia inducida por heparina (TIH), la cual en pacientes con COVID-19 ocurre de 5 a 14 días después de la exposición a la heparina, la cual conduce a una hipercoagulabilidad y presente de anticuerpos IgG activadores que se dirigen a complejos PF4 y heparina (96). La TIH es causada por la unión de heparina para el PF4 liberada de las plaquetas activadas, como anticuerpos contra el heparina-PF4 complejo se inducen en algunos pacientes, el PF4 se une a la heparina para obtener una estructura con mayor afinidad y afección por un conjunto de anticuerpos HIT (97). Posteriormente, el complejo anticuerpo-PF4-heparina se une al receptor plaquetario Fc $\gamma$ IIa en plaquetas y monocitos, induciendo activación y agregación plaquetaria, reticulación de neutrófilos, monocitos y conduce a la producción de citoquinas proinflamatorias y procoagulantes (trombina, factor tisular, PF4) lo que induce activación de las vías de coagulación y una eventual pérdida de plaquetas circulantes, con un estado protrombótico (97). La mayor prevalencia de TIH en estos pacientes podría explicarse por reacciones inmunes exacerbadas y probablemente por una mayor liberación de PF4 relacionada con la activación plaquetaria (98). La solución para esta afección es detener el

tratamiento con heparina e iniciar con anticoagulante sin heparina para prevenir eventos trombóticos (96).



**Figura 4: Esquema de los principales mecanismos de trombocitopenia por COVID-19.** SARS-CoV-2, síndrome respiratorio agudo severo 2; MO, médula ósea; ↑ aumento de un elemento; ↓ Disminución de un elemento. Fuente: elaboración propia Morales, V. (2021).

## 4.2 Alteraciones cualitativas y funciones de plaquetas

### 4.2.1 Tamaño plaquetario

En estado estable el tamaño de las plaquetas no se correlaciona con las condiciones de producción y eliminación de plaquetas, sin embargo, en situaciones de uso de antiplaquetarios o de supresión de la medula ósea la renovación de plaquetas se da en un aumento del tamaño de estas debido a la demanda plaquetaria elevada (99). Pacientes con trombocitopenia pueden presentar un volumen medio de plaquetas mayor (mediana 10,3 fL) que los pacientes con recuentos plaquetarios normales (mediana de 9,9 fL) lo que indicaría un aumento de plaquetas circulantes como respuesta a la trombocitopenia (68). En condiciones normales existe un equilibrio entre la producción de plaquetas y el recambio normal controlado por la trombopoyetina, la formación de proplaquetas es dinámica y está influenciado por el recambio de plaquetas que aumenta con un mayor consumo y/o secuestro de plaquetas, en casos como inflamación sistémica varias citoquinas se elevan como la IL-1 alfa, IL-3 e IL-6 y TNF $\alpha$  lo que lleva al aumento de la trombopoyetina que induce liberación de plaquetas por la ruptura de megacariocitos, influyendo en células madre hematopoyéticas, megacariocitos y en la generación de plaquetas por si solo o junto a la trombopoyetina (99, 100). El tamaño de las plaquetas se correlaciona positivamente con el número de receptores de superficie y el contenido de ATP plaquetario, las plaquetas más grandes tienen cantidades más altas de proteínas tales como la beta tromboglobulina, fibrinógeno y serotonina, ATP y glucógeno, que son capaces de transportar más ARNm relación con procesos hemostáticos, el número de ribosomas es mayor en las plaquetas grandes e incorporan más aminoácidos, lo que sugiere un mayor potencial para la síntesis de proteínas (68). Las plaquetas más grandes tienen un mayor potencial hemostático, se unen a más fibrinógeno y tienen mayores niveles de fosforilación después de la estimulación con trombina que las plaquetas más pequeñas, además muestran niveles más altos de activación en respuesta de agonistas (exposición a P-selectina), por lo tanto, promueven la formación de agregados plaquetarios (68, 78, 99).

La relación volumen plaquetario medio (VPM) y recuento plaquetario se ha propuesto como marcador pronóstico en infección por SARS-CoV-2, ya que refleja la proliferación de megacariocitos y la producción de plaquetas en la médula ósea al haber mayor expresión de plaquetas jóvenes, simbolizando un mayor riesgo de malos resultados en pacientes con COVID-19 (91).

#### 4.2.2 Hiperactividad plaquetaria por COVID-19

Hay hallazgos que indican que la infección por SARS-CoV-2 produce una reactividad plaquetaria anormal (101). Durante una infección, las plaquetas se activan, movilizan y participan activamente en las respuestas hemostáticas e inflamatorias resultantes, por lo que una respuesta inflamatoria exagerada a la infección puede conducir a una disfunción plaquetaria, en la que las plaquetas se activan de forma inapropiada y se enfrentan a la destrucción inmunológica (102).

Las plaquetas se alteran en presencia de factores estresantes inflamatorios o infecciones agudas, modificando el transcriptoma plaquetario en pacientes con COVID-19 demostrando un diferente perfil de expresión génica de plaquetas circulantes, con presencia de vías asociadas a la ubiquitinación de proteínas, presentación de antígenos y disfunción mitocondrial que se visibiliza con un aumento de ROS mitocondrial(103).

La vía de señalización de MAPK (proteína quinasa activada por mitógenos) facilita la secreción de plaquetas y la retracción del coágulo al estimular la fosforilación de la cadena ligera de miosina, también media la agregación plaquetaria, esto se visibiliza en que la fosforilación de ERK1 / 2, p38 y eIF4E (proteínas quinasas), se incrementa significativamente en las plaquetas de pacientes en UCI con COVID-19 críticamente enfermos, lo que indica una mayor activación de la vía MAPK, lo que se correlaciona con la

actividad potenciadora del SARS-CoV-2 en plaquetas, ya que al inhibir la vía MAPK se previene la retracción acelerada del coagulada provocada por el virus, así como también sus efectos potenciadores en la agregación plaquetaria, demostrando que el virus promueve la función plaquetaria a través de la vía MAPK (103, 104).

Las plaquetas humanas expresan ECA2 el receptor de la célula huésped para el SARS-CoV-2 y TMPRSS2 que cumple un rol en el cebado del virus, dos componentes celulares principales responsables de la unión y fusión del SARS-CoV-2 a la célula, ambos se encuentran de forma abundante en megacariocitos, por lo que podrían indicar la acción directa del virus SARS-CoV-2 mediante su proteína S y su receptor ECA2 en la activación plaquetaria (104).

Se han evaluado diferentes biomarcadores asociados a la activación plaquetaria y cómo evolucionan frente a la infección por SARS-CoV-2; la expresión superficial de P-selectina (CD62P) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), los cuales son marcadores de gránulos densos y alfa de plaquetas respectivamente en pacientes con COVID-19 grave presentan un aumento de la expresión de ambos marcadores en comparación con pacientes sanos, de igual manera al evaluar TXB2 (tromboxano B2) el cual es un metabolito de la síntesis de TXA2 (tromboxano A2), aumento en plaquetas de pacientes COVID-19 grave, además productos de la activación plaquetaria tales como TXB2, gránulos alfa plaquetarios PF4/CXCL4 y PDGF están presentes en aspirados traqueales de pacientes COVID-19 sometidos a ventilación mecánica, lo que indica que estos productos se infiltran en las vías respiratorias de pacientes con COVID-19. (103, 105). Pacientes con ARN viral sanguíneo detectable presentaron una mayor activación de la integrina  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  y expresión de P-selectina en las plaquetas, en comparación con aquellos con ARN viral sanguíneo indetectable y mejoró tanto la activación de la integrina  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  como la expresión de la P-selectina después de la activación del agonista (104). La P-selectina es la principal molécula de adhesión de las plaquetas y junto con la integrina  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  desempeñan funciones importantes en la



interacción plaquetas-leucocitos y en la reprogramación de respuestas leucocitarias mediada por plaquetas, incluida la expresión inducida de factor tisular en monocitos el cual inicia la cascada de coagulación extrínseca, esto último se da por la interacción plaquetas -monocitos, lo cual sucede a través de la interacción entre P-selectina (presente en la superficie de plaquetas) y PGS1-1 (receptor en monocitos) lo que contribuye a la formación de trombos , y se asocian a pacientes COVID-19 graves y marcadores de exacerbación de la coagulación como fibrinógeno y dímero D (105, 106). La estimulación plaquetaria mediante el uso de agonistas como la trombina o el receptor de TXA2 en dosis bajas aumenta de 3 a 28 veces la liberación de ADP en pacientes con COVID-19 respectivamente, esto sugiere que cuando se presenta la infección las plaquetas responden mejor al estímulo de agonistas en dosis bajas, lo que indica que se redujo el umbral de activación plaquetaria en pacientes con COVID-19 (101). También se incrementó la fosforilación de la fosfolipasa A2 citosólica la cual regula al alza la generación de TXA2 que mejora la agregación plaquetaria (103). Tanto el ADP / ATP y el TXA2 son agonistas autocrinos endógenos que son liberados en la activación con acción local que amplifican rápidamente la activación plaquetaria y desencadenan una mayor liberación del contenido de los gránulos plaquetarios lo cual se relaciona con una activa función plaquetaria (101).

En pacientes con COVID-19 varias citoquinas que eran reguladas por la activación de células T aumentaban en plaquetas, como IL-7, PDGF-AB/BB, Gro $\alpha$  esto puede deberse a la sobreexpresión de megacariocitos y posterior transferencia a plaquetas jóvenes recién formadas, aumento de la traducción plaquetaria o también a la captura de estas citoquinas en sangre. Las plaquetas se sensibilizaron para liberar citocinas inflamatorias y se agregaron y adhirieron a una superficie de colágeno y fibrinógeno de manera más eficiente cuando se originaron en pacientes con COVID-19, las plaquetas pueden circular, preparadas para ser hiperreactivas (103, 107).

La infección del SARS-CoV-2 en células endoteliales que expresan ECA2 y la pérdida de integridad del endotelio pueden favorecer el reclutamiento de plaquetas circulantes hacia los sitios de infección, promoviendo la activación y desgranulación plaquetaria (107). Los megacariocitos en los pulmones pueden ser susceptibles a la infección por SARS-CoV-2 y podrían transferir ARN viral para producir las proplaquetas, además el aumento de citoquinas proinflamatorias en COVID-19 puede ser producto de la sobreexpresión de megacariocitos susceptibles a la infección por coronavirus, aumento de la traducción plaquetaria o captura de citoquinas de la sangre (107).

Los virus activan indirectamente las plaquetas durante la infección al crear un microambiente inflamatorio, la consiguiente disfunción del endotelio vascular y mediante interacciones directas entre ciertos virus y plaquetas, y que estas interacciones sirven como un complemento importante para la activación (104). Los pacientes con COVID-19 presentan niveles aumentados de IL-6, proteína C reactiva (PCR), dimero D y fibrinógeno en el plasma evidencian una inflamación sistémica y activación de la coagulación (105). El aumento de la reactividad plaquetaria durante la infección por SARS-CoV-2 puede contribuir a la inmunotrombosis durante el COVID-19, sin embargo, esto se realiza junto a otras células sanguíneas y factores de coagulación solubles, la coordinación de las células inmunitarias por las plaquetas asegura una respuesta de defensa del huésped rápida y dirigida, colaborando también en liberar factores que regulan la función plaquetaria y mediar la respuesta inflamatoria, inmunes y trombóticas nocivas (102, 103).

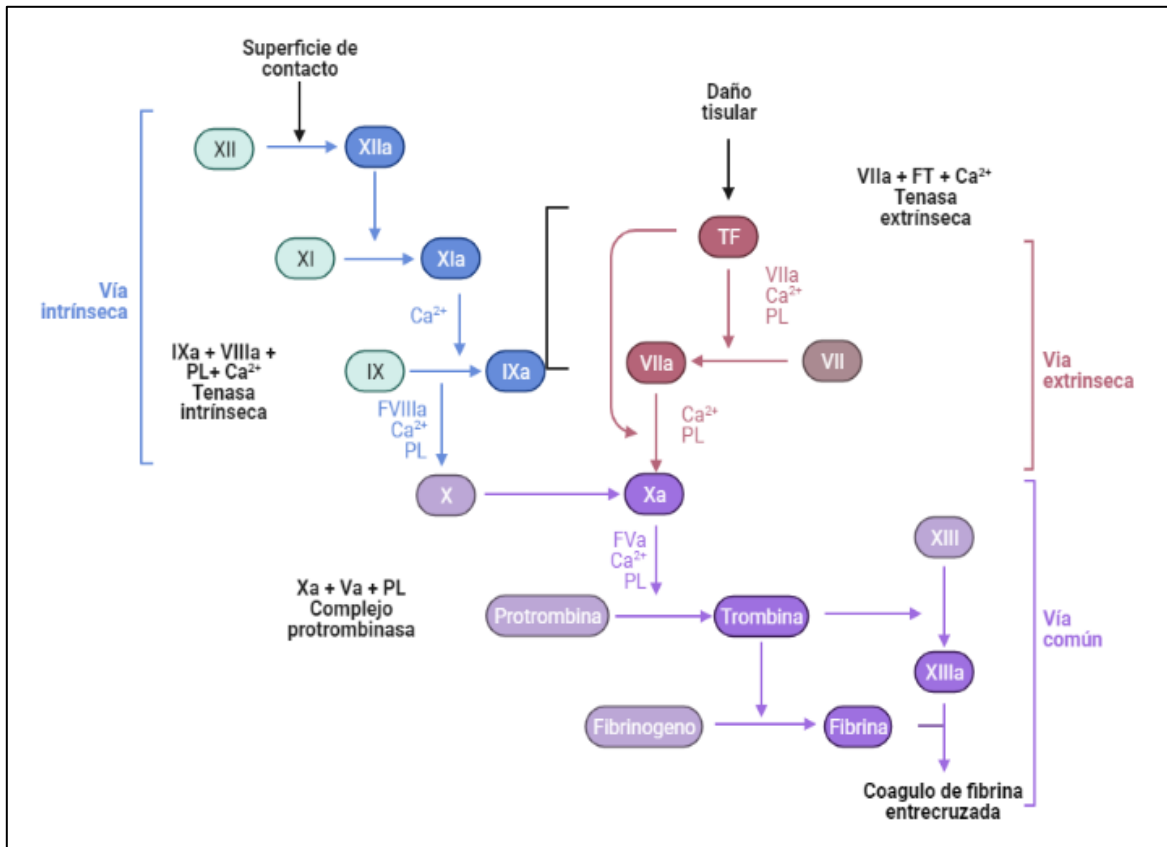
## **5. ALTERACIONES DE LA COAGULACIÓN DESCRITAS EN PACIENTES COVID-19**

La coagulación es un proceso que requiere de tres componentes principales: células endoteliales, plaquetas y factores de la coagulación; en infecciones graves se activa la cascada de la coagulación (figura 5) existiendo un mayor riesgo de desarrollar un consumo de los factores de coagulación, lo que conlleva a enfermedades sistémicas que aumentan la mortalidad del paciente (108).

Si bien la mayoría de los pacientes con COVID-19 desarrolla una enfermedad respiratoria, una proporción de pacientes puede evolucionar a enfermedad sistémicas y de mayor gravedad y asociarse con lesión pulmonar aguda con SDRA y/o falla multiorgánica (94). Además, pacientes en estado de gravedad pueden presentar anomalías en la coagulación que pueden asociarse a una evolución de coagulación intravascular diseminada o microangiopatía trombótica, es por esto, que el estudio de parámetros de la coagulación en pacientes afectados permite evaluar la evolución del paciente, así como también sus posibles intervenciones terapéuticas (94). La evidencia actual ha demostrado el potencial de la interconexión íntima con los trastornos inflamatorios, la hipercoagulación y la inmunidad excesiva después de la invasión del SARS-CoV-2 en la coagulación disfuncional. La estimulación de una respuesta inmune y la proinflamación activan la cascada de la coagulación y, a su vez una respuesta inflamatoria excesiva (108).

Los pacientes infectados desarrollan trombocitopenia la cual fue descrita, prolongación del tiempo de protrombina, elevaciones de dímero D y aumento de los niveles de productos de degradación de fibrina (109). La trombocitopenia y el dímero D elevado puede ser ocasionado por la activación de plaquetas y cascada de la coagulación ya que las infecciones virales provocan una respuesta inflamatoria sistemática y causan desequilibrio entre

mecanismos procoagulantes y anticoagulantes, esto es debido a la disfunción endotelial, elevación del factor de Von Willebrand, activación de receptor tipo Toll (forma parte del sistema inmunitario innato) y activación de la vía del factor tisular. La activación e interacción entre macrófagos, monocitos, plaquetas, linfocitos y células endoteliales realizan un papel crítico en el efecto procoagulante (109).



**Figura 5. Representación esquemática de la cascada de la coagulación.** Se inicia por la exposición del factor tisular y su interacción con el FVII, esto se debe a un daño tisular, en condiciones intrínsecas se inicia con la activación del factor XII sobre superficies con carga negativa como proteínas de la matriz, desencadenando la cascada de la coagulación y generando un coagulo de fibrina estable. Fuente: elaboración propia Morales, V. (2021).

## 5.1 Alteraciones de la vía extrínseca e intrínseca de la coagulación

El 30% de los pacientes con COVID-19 tienen un tiempo de protrombina (TP) acortado, el 16% tienen un tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA) reducido y la proporción de pacientes con TP y TTPA prolongados es solo del 5% y 6%, la duración del TTPA es similar en pacientes COVID-19 críticamente enfermos y no críticamente enfermos sin correlación de la gravedad de la enfermedad o mortalidad (110, 111). El tiempo de protrombina evalúa la vía extrínseca de la coagulación, se prolonga levemente en pacientes COVID-19 que murieron versus pacientes que sobrevivieron, estos cambios sutiles pueden pasar desapercibidos cuando el tiempo de protrombina se expresa como razón internacional normalizada (INR) (94). Así mismo en pacientes críticamente enfermos es más prologando, desarrollando una prolongación progresiva durante el curso de la enfermedad, por lo que el TP se considera dentro de la evaluación clínica y como predictor de la mortalidad en pacientes con COVID-19 (111).

Un TTPA prolongado evalúa la vía intrínseca de la coagulación, puede indicar una deficiencia de factor de coagulación o la presencia de un inhibidor de la coagulación que sea específico (p. Ej., Anticuerpo contra el factor VIII) o inespecífico (p. Ej., Anticoagulante lúpico). El anticoagulante lúpico puede afectar las pruebas in vitro de coagulación sanguínea, pero normalmente no se asocia con hemorragia, como parte del síndrome antifosfolípido, el anticoagulante lúpico se asocia con un riesgo trombótico (112). En un estudio realizado en el Royal London Hospital, pacientes con COVID-19 que presentaban un TTPA prolongado fueron positivos para el anticoagulante lúpico (91%) y, a menudo, tenían una deficiencia de factor XII asociada. El factor XII no es necesario para la hemostasia y la presencia de anticoagulante lúpico, si persiste, puede asociarse con una tendencia trombótica dentro del síndrome antifosfolípido (112). Previamente se ha descrito una asociación entre los anticoagulantes lúpicos y la deficiencia adquirida de factor XII secundaria a anticuerpos contra el factor XII (112).

A diferencia del SARS en el que entre el 50 y el 63% de los pacientes mostraron un nivel prolongado de TTPA, en pacientes con COVID-19 el promedio de TP y TTPA se mantuvo en un rango normal, en contraste, los pacientes graves y los no supervivientes de COVID-19 tenían un TP significativamente más prolongado que los pacientes no graves y los supervivientes, mientras que el TTPA no mostró diferencias significativas (113). La inconsistencia de los cambios de TP y TTPA puede atribuirse a las diferentes poblaciones de la muestra y los diferentes cursos de la enfermedad (113). Los pacientes con COVID-19 en la etapa temprana mostraron activación del sistema de coagulación exógeno, manifestado como disminución del TP y estado de hipercoagulabilidad. Junto con la progresión de la enfermedad, especialmente cuando los pacientes desarrollan CID, el TP se prolonga significativamente, lo que se asocia con el mal pronóstico de los pacientes (113).

El TP prolongado se asocia a pacientes con COVID-19 no sobrevivientes, este grupo también muestra valores ligeramente más bajos de factores de la coagulación involucrados en las vía de coagulación extrínseca (factor VII) y común (factor II y factor X), los cuales se pueden asociar a una mayor mortalidad en pacientes con COVID-19 (114, 115). Esto junto con la prolongación del TP y TPPA podrían indicar que los pacientes se encontraban en la transición del estado de alta coagulación al estado fibrinolítico debido al consumo excesivo de factores coagulantes (114, 115). Se ha demostrado que el TP, TTPA y dímero D se acompañan de una elevación de troponina T lo que se asocia a una respuesta inflamatoria sistémica dada por la relación de trastornos de la coagulación y lesión cardiaca, la cual puede ser ocasionada por daño directo del virus, placa coronaria desestabilizada e hipoxia agravada, por lo que pacientes con COVID-19 tienen mayor probabilidad de sufrir una lesión miocárdica y un mayor riesgo de muerte (116).

Pacientes con COVID-19 tienen niveles elevados del factor VIII y factor IX, lo que podría explicarse por el estado inflamatorio y la tormenta de citoquinas, ya que el factor VIII puede actuar como un reactante de fase aguda, esto junto a niveles elevados de dímero D y

fibrinógeno reflejan un estado proinflamatorio subyacente, y disfunción endotelial (115, 117). Los reactantes de fase aguda (factor VIII, el factor Von Willebrand y el fibrinógeno) se asocian con un mayor riesgo de trombosis directamente relacionado con niveles elevados de fibrinógeno, el factor Von Willebrand (FVW) se almacena en los cuerpos de Weibel-Palade y gránulos  $\alpha$  de plaquetas, en respuesta a mediadores inflamatorios se libera FVW participando en la agregación plaquetaria, la formación de trombos, y actúa como portador y estabilizador del FVIII en circulación protegiéndolo de su degradación, promoviendo los procesos de coagulación e inflamación (67, 118). En las etapas graves de la enfermedad, hay un aumento de las citocinas inflamatorias entre las cuales el TNF y la IL-1 son los principales mediadores de la supresión de la cascada de coagulación endógena comprometiendo un estado procoagulante e inflamatorio (118). La actividad elevada de FV también puede resultar de la activación endotelial, ya que FV se almacena en la célula endotelial en los cuerpos de Weibel-Palade además de los gránulos alfa plaquetarios (119).

La activación FT está dada por la lesión tisular, esta activación ocurre en el endotelio, plaquetas y células perivasculares, también en condiciones patológicas se puede liberar a la sangre en forma de vesículas o micropartículas (120). En pacientes con COVID-19 los agregados de plaquetas y monocitos aumentan la expresión del factor tisular, el cual desencadena la vía extrínseca de la coagulación al interactuar con el factor de coagulación VII iniciando la cascada proteolítica que culmina en la generación de trombina y fibrina, siendo la expresión del factor tisular mayor dentro de complejos de plaquetas-monocitos en comparación con monocitos sin adhesión de plaquetas, la expresión de FT tanto por plaquetas como por monocitos se realiza bajo estímulos procoagulantes o proinflamatorios, como la sepsis bacteriana o en pacientes con VIH, lo que desencadena un estado de hipercoagulabilidad (105, 120). Así mismo aumenta la actividad de FT de vesículas extracelulares (VE) en plasma, estas son pequeñas vesículas liberadas por células activadas que se relacionan con enfermedades asociadas a activación de la coagulación y la trombosis incluido el cáncer e infecciones virales y bacterianas tales como el SARS-CoV y MERS-CoV, además hay una induciendo de liberación de FT a partir de VE lo que podría contribuir

a la trombosis en pacientes con COVID-19, la actividad de VE- FT se correlacionó con elevaciones de dímero D y con niveles elevados de protrombina, fibrinógeno y antitrombina, lo que sugiere un vínculo con la coagulación, fibrinolisis y activación endotelial (121, 122).

El SARS-CoV-2 es un virus de ARN, esto puede ser relevante ya que se ha investigado sobre la función del ARN extracelular el cual puede activar las proteasas del sistema de coagulación por contacto, incluidos los factores XI y XII, los cuales pueden exhibir una fuerte unión al ARN (123). Las estructuras secundarias del ARN, particularmente los oligómeros formadores de horquillas son altamente procoagulantes y los polifosfatos relativamente cortos liberados de las plaquetas activadas aceleran la activación del factor V, inhiben la actividad anticoagulante del inhibidor de la vía del factor tisular (IVFT), promueven la activación del factor XI por la trombina y contribuyen a la síntesis de cadenas de fibrina más gruesas que son resistentes a la fibrinólisis (123).

En pacientes con SARS-CoV se ha informado que los genes que revelan un efecto procoagulante están altamente expresados en células mononucleares infectadas con el virus, tales como el fibrinógeno, factores II, III y X, junto con activadores de plasminógeno (t-PA) y la desregulación de la uroquinasa, en conjunto se han asociado a una infección mortal por SARS-CoV-1 (109).

## **5.2 Alteraciones en vía común de la coagulación.**

La generación de trombina se puede medir utilizando PF 1+2, el cual es un marcador de escisión de protrombina a trombina, en un estudio realizado en el policlínico San Donato del IRCCS se encontró que pacientes con COVID-19 presentaban valores de PF 1+2 aumentados 10 veces más alto de lo normal, esto se puede correlacionar a mediciones realizadas con el virus dengue y el hantavirus en el cual los valores máximos de PF 1+2



aumentaron 3 a 5 veces, por lo que la generación de trombina en pacientes con coronavirus aumenta como en otras infecciones virales, esto se puede atribuir a una activación de la vía extrínseca mediada por FT, liberado por monocitos activados y células endoteliales, por otro lado una vez que se forma la trombina puede activar al factor XI amplificando la generación de trombina por retroalimentación positiva, por lo que ambas vías pueden estar relacionadas con la activación de la cascada de la coagulación en pacientes con COVID-19 (124). La disfunción de las células endoteliales inducida por la infección da como resultado un exceso de generación de trombina y detención de la fibrinólisis, lo que induce un estado de hipercoagulabilidad (125). Pacientes con COVID-19 tienen valores elevados de IL-6 la cual es una potente citocina proinflamatoria que induce la expresión génica del factor tisular en las células endoteliales y los monocitos, la síntesis de fibrinógeno y la producción de plaquetas, sin afectar la fibrinólisis, el factor tisular desencadena la activación de la cascada de coagulación, otorgando un perfil procoagulante (126). Cabe destacar que se ha encontrado en pacientes con COVID-19 que no disminuye el potencial de trombina endógena, lo que podría ser por el aumento del nivel de IVFT que inhibe el inicio de la coagulación (ya que la generación de trombina se inicia con el factor tisular) o, alternativamente, una deficiencia leve de factor VII en pacientes críticos (debido a insuficiencia hepática, por ejemplo). Estos resultados son importantes porque podrían sugerir que en los pacientes infectados por COVID - 19 y el desarrollo de trombosis se debe a un efecto localizado en el pulmón, a la activación plaquetaria o, alternativamente, a la superficie endotelial (endotelitis) y no necesariamente reflejaría la hipercoagulabilidad global del plasma. Esto se podría relacionar a otros parámetros hematológicos elevados durante la infección por SARS-CoV-2 en pacientes graves como el VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), tPA (activador tisular de plasminógeno) y IVFT ya que VEGF es un marcador de disfunción endotelial, que junto con IVFT se encuentra a nivel de la superficie endotelial, por lo que un daño localizado en el endotelio podría causar al liberación de estos marcadores, de igual manera se relaciona con marcadores de sepsis grave en pacientes no infectados por COVID-19 (127).

Pacientes con neumonía asociado a COVID-19 presentan valores significativamente más altos de fibrinógeno, en comparación con los menos graves (128). Los niveles de fibrinógeno varían dependiendo del estado de la infección, disminuyen durante las últimas etapas en los no sobrevivientes de COVID-19 a pesar de sus niveles aumentados o normales al ingreso (95). Sin embargo, no se muestra correlación con la mortalidad sino con niveles de IL-6; después de ingresar al cuerpo el SARS-CoV-2 puede ser reconocido por el patrón molecular asociada a patógenos (PAMP) en el cuerpo para activar el sistema inmunológico y eliminar el virus, pero la activación excesiva puede causar una tormenta de citoquinas dañando el sistema microvascular, por otro lado, las células como macrófagos y monocitos producen factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos e IL-6, que induce la expresión del factor tisular en las células endoteliales y los monocitos, la síntesis de fibrinógeno y la producción de plaquetas promoviendo un perfil procoagulante a través de la generación de trombina (95, 126, 129). En la hospitalización prolongada los niveles de fibrinógeno y AT (antitrombina) fueron significativamente más bajos en los no sobrevivientes, por lo que la disminución del nivel de fibrinógeno está fuertemente asociada a la mortalidad, donde aproximadamente el 29% de los casos fatales desarrollan fibrinógeno <1 g/L, pero esto tiende a ocurrir muy tarde en el curso de la enfermedad (95, 111).

Como proteína reactiva aguda, el fibrinógeno puede aumentar en el curso de la enfermedad COVID-19 en pacientes leves y en etapa temprana en pacientes graves, mientras puede reducirse en etapas tardías de pacientes graves, esto se debe a que se consume continuamente durante la progresión de la enfermedad (130).

Las células endoteliales contribuyen a la preservación de la hemostasia normal manteniendo la integridad de la pared de los vasos y equilibrando la fibrinólisis mediante expresión de enzimas líticas e inhibidores de la coagulación, al perder la integridad en la barrera de los vasos, se desarrolla un endotelio procoagulativo y contribuye al SDRA, al inducir endotelitis y mediar al inflamación; por lo que las células endoteliales activadas

promueven la coagulación expresando P-selectina, FVW y fibrinógeno que lleva a una unión plaquetaria masiva y formación de fibrina (131). El fibrinógeno soluble se une a las integrinas de las plaquetas promoviendo su activación y formación del coágulo plaquetario, la señalización de la integrina  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  involucra la unión de fibrinógeno a través de la secuencia del péptido carboxi-terminal del péptido  $\gamma\text{C}$  (GAKQAGDV), y es responsable de la agregación plaquetaria y la adhesión de las células a las paredes de los vasos (67). También la glicoproteína VI (GPVI) el principal receptor plaquetario de colágeno puede interactuar con el dominio D de fibrinógeno para apoyar la adhesión, activación y formación de agregados plaquetarios en fibrinógeno inmovilizado y fibrina polimerizada (67).

Al generarse un aumento del fibrinógeno resulta en un aumento de la formación y polimerización de fibrina que predispone la trombosis. Es probable que el SARS-CoV-2 promueva la formación y el depósito masivo de fibrina, lo que también puede explicar los niveles muy altos de dímero D que se encuentran en estos pacientes (132).

El fibrinógeno soluble se polimeriza en coágulos de fibra de fibrina insoluble bajo acción de la trombina, la cual se asocia a un estado de hipercoagulabilidad y disfunción endotelial (124). La generación de fibrina se puede abordar al medir el fibrinopeptido A, el cual es un marcador de la división del fibrinógeno en fibrina, el cual en pacientes con COVID-19 supera el rango normal tanto en supervivientes como en no supervivientes, debido al aumento de la generación de trombina y una activación de la cascada de la coagulación, también aumento la generación de fibrina, esto sucede también en sepsis bacteriana y virales producto del entrecruzamiento entre inflamación y coagulación (124). Por otro lado, la unión de ligandos como la fibrina a receptores plaquetarios, seguido de la activación de señalización conduce a la secreción de los gránulos plaquetarios lo que da como resultado la activación, agregación y crecimiento de trombos plaquetarios (67). Tanto la fibrina como el fibrinógeno pueden interactuar con  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  a través de distintos epítomos, en el caso de la fibrina se une a través

de la secuencia única en el péptido  $\gamma$ C, ATWKTRWYSMKK, que se une al propulsor  $\beta$  de  $\alpha$ IIb promoviendo el estado de agregación plaquetaria (67).

La activación del complemento es un mecanismo del sistema inmune innato el cual ayuda a controlar las infecciones bacterianas y virales, sin embargo su activación desenfrenada debido a una infección prolongada por SARS-CoV-2 puede conducir a la lesión y muerte de células endoteliales con la posterior denudación vascular y exposición de la membrana basal trombogénica impulsando la cascada de la coagulación, lo que conlleva a inflamación, trombosis microvascular, edema de vasos y secuelas hemorrágicas; en autopsias pulmonares de pacientes con COVID-19 se evidencia la presencia de trombo de plaquetas y fibrina en vasos arteriales pequeños (131). Las células proinflamatorias y citoquinas amplifican la coagulación contribuyendo a la generación de fibrina e induciendo el depósito de coágulos sanguíneos en la microvasculatura de diferentes órganos incluyendo el pulmón que empeora la insuficiencia respiratoria y en capilares glomerulares renales lo que conlleva a una afección sistémica y un mal pronóstico para el paciente (132).

### **5.3 Alteraciones en los anticoagulantes naturales**

Los niveles de anticoagulantes naturales tienden a reducirse en pacientes con CID grave, así como también en sepsis, traumatismos múltiples y cirugía mayor (133). El estado de hipercoagulabilidad en pacientes con COVID-19 produce un desequilibrio en las concentraciones de factores procoagulantes y anticoagulantes lo que predispone al agotamiento de los inhibidores de la cascada de la coagulación y conduce a complicaciones trombóticas (134).

Como se mencionó anteriormente la actividad del FVIII, un factor procoagulante aumenta durante la inflamación y en pacientes con COVID-19. La proteína C activada es un

anticoagulante natural endógeno que cuando se activa escinde el FVIII en su forma inactiva, durante la infección por SARS-CoV-2 se ha demostrado una actividad disminuida de AT y proteína C funcional, el cual parece acentuarse con la edad, especialmente en hombres (134). Los niveles de AT se presentan bajo el límite inferior en un 30.6% en pacientes hospitalizados por COVID-19, de ellos un 66,7% falleció por lo que podría estar asociado a una alta mortalidad (135). Pacientes con COVID-19 hospitalizados presentan un alta prevalencia de anticoagulante lúpico el cual afecta en la activación de protrombina por el complejo enzimático protrombinasa, la elevación de este anticoagulante puede deberse a varias condiciones clínicas como infecciones, inflamación o autoinmunidad, sin embargo, no predice mortalidad ni necesidad de ventilación mecánica (136).

La infección por SARS-CoV-2 produce un cambio hemostático similar a la neumonía bacteriana grave o a sepsis debido al consumo de anticoagulantes naturales, esto implica variedad de desencadenantes tromboticos liberados durante la infección que llevan a una activación incontrolada del sistema inmunológico con liberación masiva de citoquinas inflamatorias, las cuales son disruptores de la hemostasia normal lo que promueve un desequilibrio en las vías protrombóticas e intrínsecas de los anticoagulantes como la pérdida de la acción del inhibidor de la vía del factor tisular, desequilibrio del sistema de proteína C y regulación a la baja de la expresión de trombomodulina en las células endoteliales y la reducción de los niveles séricos de AT (137). La inflamación promueve la degradación de elastasa a partir de neutrófilos activados y provoca un consumo de los factores debido a la generación de trombina, por otro lado, la función de la AT depende de los glucosaminoglicanos de la superficie endotelial, pero su síntesis se reduce por mediadores inflamatorios (135). La disminución de los anticoagulantes naturales contribuye al estado protrombótico en pacientes COVID-19 críticamente enfermos, siendo esta disminución menos frecuente en comparación con la CID/CIS (coagulación intravascular diseminada/coagulopatía inducida por sepsis) (138).

#### 5.4 Alteraciones en la Fibrinólisis

La coagulación se propaga a través de la vía intrínseca y la parada se ve oprimida debido a la alta actividad del factor VIII y el agotamiento de los anticoagulantes endógenos (139). El sistema fibrinolítico es activado por el activador del plasminógeno tisular y el activador del plasminógeno uroquinasa, sin embargo, en pacientes con infección grave por COVID-19 presentan un aumento de los niveles de actividad de PAI-1 (inhibidor del activador tisular de plasminógeno y la uroquinasa) lo que podría resultar en una disminución de la actividad fibrinolítica comparado con casos de COVID-19 leves (95, 139, 140). La capacidad reducida para escindir y eliminar los depósitos de fibrina junto con la actividad procoagulante aumentada contribuye a que los depósitos de fibrina formen microtrombos localizados o diseminados, dentro de la vasculatura o dentro del espacio alveolar lo que agrava la clínica del paciente (122, 140).

Los niveles de marcadores relacionados con la fibrina tales como dímero D y PDF (productos de degradación de fibrina) se elevaron moderada o notablemente en todas las muertes, lo que sugirió una activación de la coagulación común y una condición de hiperfibrinólisis secundaria en estos pacientes (95). Un nivel alto de dímero D se encuentra en pacientes con COVID-19 graves en comparación con casos leves y se correlaciona de manera inversa con la supervivencia (141). El dímero D se produce como resultado de la degradación del polímero de fibrina estabilizado por acción de la plasmina y refleja la activación de la coagulación como de la fibrinólisis in vivo, lo cual indica la formación del trombo sin especificar el sitio donde se está formando y representa los productos de degradación de la fibrina que se acumulan en los alveolos y parénquima pulmonar como resultado de una lesión pulmonar (123, 142). Los productos de degradación de fibrina incluyendo el dímero D provocan la activación plaquetaria ya que la glucoproteína VI plaquetaria en su forma dimerica se une tanto al colágeno como al fragmento D de fibrina y dímero D, esto facilita la activación plaquetaria en los sitios de formación de fibrina amplificando la generación de trombina y la agregación de plaquetas circulantes en el sitio

de desarrollo del trombo (123). El dímero D se ha convertido en parte de las pruebas de laboratorio de rutina para los pacientes con COVID-19 en estado crítico y se considera un marcador de la gravedad de la enfermedad (30).

En pacientes COVID-19 no supervivientes se encuentran niveles elevados del inhibidor del activado de plasminógeno (PAI-2), el cual inhibe al activador de plasminógeno de tipo uroquinasa, una serino proteasa que actúa a nivel de tejidos intersticiales (incluido el intersticio pulmonar) por lo tanto, se demuestra que se inhibe la fibrinólisis y el grado de inhibición durante el seguimiento se asocia con la mortalidad (124). El PAP (complejo alfa 2-antiplasmina) es un marcador de la formación de plasmina y de la capacidad de esta para contrarrestar la generación de fibrina, el cual está aumentando en condiciones de inflamación o sepsis, en pacientes con COVID-19 se observa un aumento modesto más pronunciado en el grupo de no supervivientes (124). La fibrinólisis resulta del equilibrio entre el aumento de agentes antifibrinolíticos (PAI-2) y los agentes fibrinolíticos estables (tPA), en relación a esto el grupo de supervivientes la generación de trombina, liberación de PAI-2 y tPA disminuye al igual que el fibrinógeno, por el contrario en los no supervivientes la generación de trombina y PAI-2 aumentan y tPA disminuye, esto puede representar una condición en la formación de trombos puede volverse incontrolada y clínicamente relevante (124).

### **5.5 Mecanismos asociados al estado de hipercoagulabilidad en COVID-19**

El estado de hipercoagulabilidad se desarrolla en enfermedades críticas debido a la inmovilización, ventilación mecánica, dispositivos de acceso venoso central y deficiencias nutricionales (143). La cascada de la coagulación se activa en respuesta a la infección viral para limitar la propagación del patógeno, lo que da como resultado una coagulopatía asociada a COVID-19 (CAC), si bien recuerda la CID o la CIS difieren en sus mecanismos procoagulantes y en el diagnóstico de laboratorio (tabla 3), además la CAC no causa hemorragia clínica, por lo que se consideran patologías diferentes (128).

**Tabla 3: Diferencia en los parámetros de coagulación entre CID/CIS y COVID-19.**  
Fuente: Elaboración propia Morales, V. (2021).

Parámetros de coagulación	CID /CIS	COVID-19	Referencias
Recuento de plaquetas	↓	N / ↓	Hadid T. y col., (111) Iba T. y col., (138)
Fibrinogeno	N / ↓	↑	Mazzeffi M. y col., (139)
Dimero D	↑	↑↑	Hadid T. y col., (111) Becker R. (123)
Actividad del factor VIII	↑	↑↑	Mazzeffi M. y col., (139) Levi M. y col., (144)
TP	↑	N / ↑	Iba T. y col., (138) Hadid T. y col., (111)
TTPA	↑	N / ↑	Iba T. y col., (138) Hadid T. y col., (111)

CID /CIS: coagulación intravascular diseminada y coagulación intravascular por sepsis, COVID-19: Enfermedad de coronavirus 2019, TP: tiempo de protrombina, TTPA: tiempo de tromboplastina parcial activada, N: normal, ↑Aumentado, ↑↑Aumento moderado, ↓Disminuido.

La actividad procoagulante producto de una infección puede depender de muchos factores entrelazados que incluye efecto directo del virus, disfunción endotelial y tormenta de citoquinas que conducen a una inflamación sistémica (figura 6); los polifosfatos derivados de microorganismos provocan la activación de mastocitos, el factor de XII y las plaquetas en la vía de contacto, además amplifican la respuesta procoagulante en la vía intrínseca de la coagulación (143). En condiciones normales ECA2 convierte a la angiotensina II en angiotensina 1-7 que estimula a las células endoteliales a producir NO, el cual ayuda a la vasodilatación y suprime la agregación plaquetaria; en contraste, en pacientes COVID-19,



SARS-CoV-2 ocupa ECA2 y aumenta el nivel de angiotensina II, lo que resulta en vasoconstricción y disminución del flujo sanguíneo (145).

El sistema inmune responde a la interacción del patógeno al activar el sistema del complemento para controlar la infección el cual está presente y es activado en la membrana alveolar capilar (143). El SARS-CoV activa la lectina al interactuar con la lectina de unión a manosa (MBL), que activa la serina proteasa 2 asociada a la proteína de unión a manosa (MASP-2) lo cual mejora la deposición de los fragmentos de activación de C4 en células infectadas por el virus, análisis de tejido pulmonar post mortem evidencian una alta expresión de los componentes del complemento MBL, C4, C4 y C5b9 en células epiteliales, alveolares y neumocitos así como también células inflamatorias, además los niveles circulantes de C5a fueron mayores en pacientes con COVID-19 grave lo que indica un agravamiento de la lesión pulmonar producto de la inflamación (131). Cuando se produce una activación descontrolada del sistema de complemento puede llevar a una inflamación tanto aguda como crónica, lo que contribuye a la tormenta de citoquinas a través de los efectos proinflamatorios de C3a y C5a, lo que conduce a una activación de disfunción endotelial, incluyendo la expresión del factor tisular y libera el factor activador de plaquetas y quimioquinas, lo que genera más inflamación, aumenta la permeabilidad vascular y provoca el proceso de coagulación (143). Por otro lado, sistema del complemento interactúa directamente con factores de la coagulación lo que permite escindir C3 y C5 generando C3a y C5a, este último activa el factor tisular de diferentes fuentes celulares como las células endoteliales y neutrófilos lo que genera un estado procoagulante (146). El complemento puede mejorar la activación y el reclutamiento de neutrófilos /monocitos hacia los pulmones infectados, el aumento de neutrófilos se ha asociado con un mal pronóstico de pacientes con COVID-19, los neutrófilos se reclutan de manera temprana al sitio de la infección y si bien sus mecanismos principales para actuar son mediante el estallido oxidativo y fagocitosis, también lo hacen mediante la formación de NET (trampas extracelulares de neutrófilos) las cuales son estructuras en forma de red de ADN y proteínas microbicidas y enzimas oxidantes expulsadas de neutrófilos que atrapan patógenos (147). En pacientes con COVID-19 se han detectado aumentos en los

niveles plasmáticos de NET, factor tisular y sC5b-9 (complejo del complemento terminal) con factor tisular activo, la IL-8 que promueve el reclutamiento de NET se eleva en pacientes infectados junto con aumento de ADN circulante, histona H3 citrulinada (Cit-H3), complejos de mieloperoxidasa (MPO) y actividad de EN (elastasa de neutrófilos) que indican aumento del recambio de NET (148). El SARS-CoV-2 es capaz de activar la NETosis (estimular los NET) en neutrófilos, un proceso asociado al aumento de ROS intracelulares de neutrófilos en presencia de SARS-CoV-2, si bien la vía ROS-NET cumple un rol protector del sistema inmune a través de la muerte de patógenos por daño oxidativo o indirectamente estimulando la eliminación de patógenos, la producción excesiva y desregulada de estos, producto del daño inflamatorio resulta en daño colateral epitelial y alveolar con liberación de citoquinas proinflamatorias a través de la inducción de macrófagos a secretar IL-1b la cual fomenta la producción de IL-6, las serina proteasas en los NET, como la EN pueden promover la coagulación proteolizando inhibidores del FT, además de activar la vía de contacto de la coagulación a través de interacciones electrostáticas entre las histonas de NET y los fosfolípidos plaquetarios y formar agregados proporcionándola unión de eritrocitos y plaquetas activadas que conduce un estado protrombótico (147, 149, 150).

La infección directa al virus en células epiteliales a través del receptor ECA2, las autopsias pulmonares de pacientes con COVID-19 muestran una lesión endotelial grave con presencia de virus intracelular, así como una trombosis generalizada con microangiopatía (143). Las células endoteliales vasculares son fundamentales para el mantenimiento de la hemostasia por lo que desempeñan funciones relevantes en la vasculopatía y trombosis en COVID-19, el SARS-CoV-2 además de infectar directamente las células endoteliales también se observan cambios morfológicos que incluyen la ruptura de la unión intercelular, hinchazón celular y la pérdida de contacto con la membrana basal lo que produce activación y disfunción endotelial, expresión de FT y activación plaquetaria, que contribuyen a la generación de trombina y formación de coágulos de fibrina (143, 151).

El estudio post mortem de pacientes con COVID-19 demuestra un daño alveolar difuso bilateral con exudados fibromixoides celulares, presentaban una disminución en cantidad de células T CD4+ y CD8+ pero una sobreactivación de ellas; las células TH17 promueven un estado proinflamatorio y la alta toxicidad de las células T CD8+ explican la lesión inmunitaria que pueden presentar estos pacientes junto con infiltrado de monocitos y macrófagos por lo que se produce una liberación localizada de citoquinas proinflamatorias producto de la infiltración de células inflamatorias (152). Por lo que el efecto directo del virus y la respuesta inmune masiva de factores inflamatorios contribuyen a STC (síndrome de tormenta de citoquinas) en la patogénesis de COVID-19 (152).

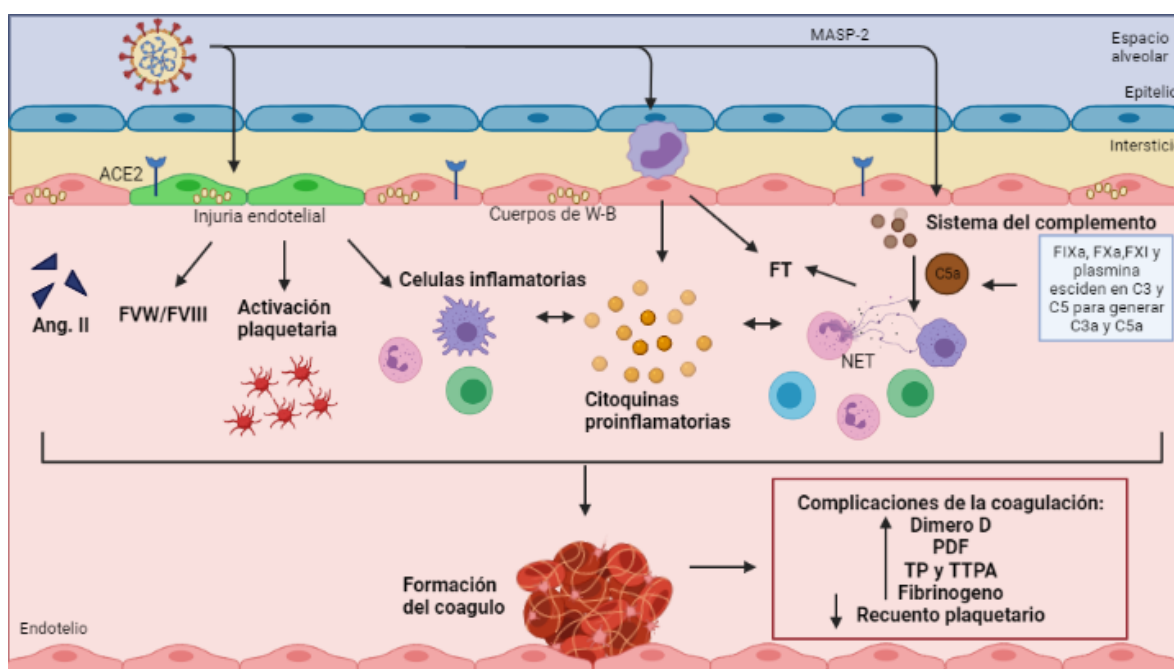
La activación de las vías de coagulación durante la respuesta inmune inflamatoria a la infección conduce a una sobreproducción de varias citocinas proinflamatorias y, en última instancia, da como resultado una lesión multiorgánica (153). IL-1 $\alpha$ , que se expresa ampliamente por plaquetas activadas, células endoteliales y monocitos circulantes durante condiciones proinflamatorias, funciona como un vínculo entre la cascada de coagulación y la respuesta inflamatoria (153). La trombina provoca la activación de la pro-IL-1 alfa, que muestra expresión en la superficie de células endoteliales, esta interleucina provoca un aumento del tiempo de lisis del coágulo, aumento de la actividad plaquetaria y de células endoteliales (153). La función principal de la trombina es provocar la formación de coágulos, activar plaquetas y convertir el fibrinógeno en fibrina, también puede provocar un mayor aumento de las respuestas inflamatorias activando los receptores activados por proteínas (RAP), en especial RAP-1 que es el principal receptor de trombina ya que ejerce influencia sobre el reclutamiento de neutrófilos, media la agregación plaquetaria inducida por trombina fuga alveolar y fibrosis en casos de lesión pulmonar (154). La trombina es inhibida por el inhibidor de la vía del factor tisular, sistema de la proteína C y la antitrombina III, debido a la prevalencia de la inflamación estos mecanismos de control se ven alterados con una reducción en las concentraciones de estos anticoagulantes ya sea por el mayor consumo y producción reducida, esto junto con la alteración de la inflamación conduce al desarrollo de coagulopatías, micro trombosis y falla multiorgánica (153, 154).

El STC es una respuesta inflamatoria sistémica mediada que conlleva a una activación y amplificación de retroalimentación no controlada del sistema inmunológico del huésped debido a varios factores que provocan la liberación masiva de una amplia variedad de citoquinas. El STC en COVID-19 presenta un contexto clínico asociado a la atrofia de vaso y ganglios linfáticos, la cual resulta en un contexto clínico diferente a la STC provocada por sepsis (152).

Después de ingresar a las células epiteliales respiratorias, el SARS-CoV-2 provoca una respuesta inmune con producción de citoquinas inflamatorias acompañada de una respuesta débil de interferón (IFN) (155). El SARS-CoV-2 puede activar las células Th2 patógenas para secretar citoquinas proinflamatorias como el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) e IL-6, el GM-CSF activa a los monocitos inflamatorios CD14+ CD16+ para producir IL-6, TNF-  $\alpha$  y otras citoquinas. Así mismo, los receptores inmunitarios unidos a la membrana (Receptores Fc y tipo Toll) contribuyen a una respuesta inflamatoria desequilibrada (155). Por otro lado, la unión de la proteína de pico de coronavirus a ECA2 conduce a la regulación a la baja de esta enzima en las células, que a su vez da como resultado una producción excesiva de vasoconstrictor angiotensina II, el eje AngII-AT1R (receptor de angiotensina tipo 1) activa el factor nuclear -  $\kappa$ B (NF -  $\kappa$ B) desintegrina y metaloproteasa 17 (ADAM17), este último procesa la forma de membrana de IL-6Ralfa a la forma soluble (Sil-6R $\alpha$ ), seguida de la activación de STAT3 (activador de la transcripción 3) mediada por gp130 en células no inmunes. Tanto NF -  $\kappa$ B como STAT3 activan el amplificador de IL - 6 (IL-6 Amp) para inducir diversas citocinas y quimiocinas proinflamatorias, incluido el VEGF, MCP - 1, IL - 8 e IL - 6 (152, 155).

Entre las citoquinas más destacadas se encuentra la IL-6 y TNF, ya que se han detectado en pacientes con infecciones inflamatorias agudas junto a un estado de hipercoagulabilidad, siendo IL-6 el mediador más importante para la activación de la coagulación inducida por citoquinas, además también puede estimular la megacariopoyesis e inducir la expresión del

factor tisular en tejidos inflamados, también promueve la síntesis de otros factores como el fibrinógeno y factor VIII y actuando sobre células endoteliales, induce la permeabilidad vascular estimulando al secreción de VEGF promoviendo un estado procoagulante (156). La presencia de citocinas proinflamatorias y la activación de la cascada de la coagulación, además de las paredes delgadas de los vasos, desencadenan inmunotrombosis con el daño resultante del tejido de la pared del vaso, infarto pulmonar y hemorragia (156).



**Figura 6: Fisiopatología del estado de hipercoagulabilidad en COVID-19.** El SARS-CoV-2 desencadena un estado inflamatorio induciendo la actividad procoagulante lo que da lugar a complicaciones en la coagulación. Ang II: angiotensina II, Cuerpos de W-B: Cuerpos de Weibel-Palade, MASP-2: serina proteasa 2 asociada a proteína de unión a manosa, TP: tiempo de protrombina, TTPA: tiempo de tromboplastina parcial activado, PDF: productos de degradación de fibrina. Fuente: elaboración propia Morales, V. (2021).

La combinación de las diferentes alteraciones en parámetros de la coagulación sugiere que la coagulopatía asociada a COVID-19 es una combinación de CID de bajo grado y microangiopatía trombótica pulmonar (118). La presencia de la coagulopatía forma parte de una inflamación sistémica, esta condición se caracteriza por eventos más trombóticos que

hemorrágicos, la disfunción endotelial y los depósitos de fibrina en la microvasculatura pulmonar conducen a la hipoxia y congestión pulmonar mediada por trombosis y oclusión microvascular, además de trombosis de vías centrales, catéteres y eventos vasculares oclusivos (118).

COVID-19 se ha relacionado con complicaciones trombóticas tanto microvasculares como macrovasculares, se han notificado casos de embolia pulmonar, trombosis venosa profunda (TVP) y episodios trombóticos arteriales como accidente cerebrovascular, síndrome coronario agudo e infarto al miocardio en hasta un 2,1% de los pacientes de la UCI. En un estudio realizado en Amsterdam University medical Center se realizó un cribado de tromboembolismo venoso (TEV) con ecografía de compresión cada 5 días en la UCI y cada 10 días en sala, encontrándose una incidencia de 20,1%, de los cuales el 13% se detectó clínicamente y el 7,1% de forma accidental o mediante el cribado (157). Pacientes con COVID-19 pueden tener un mayor riesgo de trombosis microvascular probablemente debido a la liberación de citoquinas procoagulantes como la IL-6 (111). El dímero D y PDF reflejan un alto nivel de formación y degradación de fibrina, lo que sugiere una trombosis microvascular pulmonar, además en informes post mortem realizados en Nueva Orleans, EE.UU., revelan neumonitis asociada a lesión capilar septal inflamatoria con depósitos de fibrina mural y luminal del tabique y permeación de los septos interalveolares por neutrófilos, junto con depósitos de componentes terminales del complemento (C5b-9, C4d y MASP-2) en la microvasculatura que sugieren una activación de las vías del complemento como inductor de trombosis microvascular (158).

Los pacientes COVID-19 críticamente enfermos tienen un mayor riesgo de desarrollar un TEV debido a la inmovilización, ventilación sistémica, hipoxemia refractaria, hiperinflamación, alteraciones hemostáticas, inflamación sistémica, deshidratación, disfunción endotelial, catéteres centrales y factores propios del huésped, edad avanzada, obesidad y enfermedades crónicas preexistentes, que favorecen la oclusión por

hipercoagulabilidad, hipoperfusión y vasoconstricción (118, 159). En pacientes con deterioro repentino de la saturación de oxígeno, dificultad respiratoria, presión arterial baja o disfunción del ventrículo derecho (VD) se debe considerar la posibilidad de una embolia pulmonar, junto con esto, las lesiones tromboembólicas en COVID-19 estaban principalmente en los pulmones, la presencia de trombos rojos formados por una red de fibrina y glóbulos rojos que difieren de los trombos blancos, asociados a SARS. (118, 159, 160).

El aumento de la incidencia y empeoramiento de la salud de pacientes con COVID-19 durante el desarrollo de trombosis macrovascular y microvascular subrayan la importancia de una tromboprofilaxis y manejo de las complicación es trombóticas (159). En pacientes inmobilizados o gravemente enfermos se debe considerar la tromboprofilaxis farmacológica, la organización mundial de la salud recomienda el uso de heparina de bajo peso molecular (HBPM), fondaparinux o heparina no fraccionada (HNF), en pacientes donde los anticoagulantes están contraindicados se debe utilizadas tromboprofilaxis mecánica a través de dispositivos de compresión neumática (118, 159).

La monitorización dinámica de los parámetros de la coagulación en pacientes hospitalizados con COVID-19 es necesaria para predecir la progresión de COVID-19 (128). Un enfoque para monitorear la hipercoagulabilidad asociada a COVID-19 usando pruebas de laboratorio es medir la concentración de fibrinógeno, actividad del factor VIII, dímero D y parámetros de coagulación viscoelástica, lo que permitirá orientar sobre estrategias de intervención temprana y mejorar los resultados del paciente (139).

## CONCLUSIONES

El SARS-CoV-2 es un patógeno de importancia para la salud pública mundial que causa la enfermedad COVID-19 en humanos, se ha descrito un amplio espectro de gravedad de la afección pulmonar la cual varía desde estados asintomáticos hasta graves, junto con diferentes tipos de manifestaciones sistémicas.

En pacientes COVID-19 la afectación de glóbulos rojos se caracteriza por niveles disminuidos de hemoglobina, desregulación del metabolismo del hierro y aumento del ancho de distribución de glóbulos rojos asociados a procesos inflamatorios y a la acción directa del SARS-CoV-2 lo que da como resultado una disminución en la producción y aumento de la destrucción de eritrocitos y que proveen diversos marcadores de laboratorio asociados a una afectación multiorgánica, así como también para predecir la mortalidad.

La presencia de un estado de hipercoagulabilidad junto con el desarrollo de complicaciones trombóticas en pacientes COVID-19 se evidencian mediante la notificación de diversas anomalías hemostáticas tales como alteraciones plaquetarias caracterizada por diferentes grados de trombocitopenia, aumento del tamaño y de la activación plaquetaria, lo que manifiesta una respuesta amplificada producto de la infección por el coronavirus, así como también alteraciones en la coagulación, en especial elevaciones de dímero D, fibrinógeno, TTPA y/o TP e informes de eventos tromboembólicos arteriales y venosos; estas variaciones reflejan una desregulación de la hemostasia y se asocian con la evolución de esta enfermedad, el estado de gravedad y mortalidad en pacientes infectados por SARS-CoV-2.

Diversos mecanismos asociados a la infección por SARS-COV-2 que involucran la lesión del endotelio vascular, citocinas proinflamatorias, complemento, procoagulantes séricos y



daño directo del virus producen un estado protrombótico, pueden ser de vital importancia para comprender la fisiopatología del SARS-CoV-2 así como también generar enfoques investigativos que permitan desarrollar estrategias para enfrentar las diferentes situaciones clínicas causadas por este patógeno.

La evaluación cuidadosa de los parámetros hematológicos de laboratorio al inicio de la infección y durante el curso de la enfermedad proporcionaran una vigilancia continua que permitirá generar opciones terapéuticas específicas para mejorar los resultados clínicos en pacientes de alto riesgo y en estado crítico con COVID-19.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Sohrabi C, Alsafi Z, O'Neill N, Khan M, Kerwan A, Al-Jabir A, et al. World Health Organization declares global emergency: A review of the 2019 novel coronavirus (COVID-19). *International journal of surgery (London, England)*. 2020;76:71-6.
2. Frater JL, Zini G, d'Onofrio G, Rogers HJ. COVID-19 and the clinical hematology laboratory. *International Journal of Laboratory Hematology*. 2020;42(S1):11-8.
3. Shereen MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of Advanced Research*. 2020;24:91-8.
4. Astuti I, Ysrafil. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 2020;14(4):407-12.
5. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, van de Veen W, Brügggen M-C, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy*. 2020;75(7):1564-81.
6. Tu H, Tu S, Gao S, Shao A, Sheng J. Current epidemiological and clinical features of COVID-19; a global perspective from China. *The Journal of infection*. 2020;81(1):1-9.
7. Dhama K, Khan S, Tiwari R, Sircar S, Bhat S, Malik YS, et al. Coronavirus Disease 2019-COVID-19. *Clinical microbiology reviews*. 2020;33(4):e00028-20.
8. Caicedo-Ochoa Y, Rebellón-Sánchez DE, Peñaloza-Rallón M, Cortés-Motta HF, Méndez-Fandiño YR. Effective Reproductive Number estimation for initial stage of COVID-19 pandemic in Latin American Countries. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2020;95:316-8.
9. Hosoki K, Chakraborty A, Sur S. Molecular mechanisms and epidemiology of COVID-19 from an allergist's perspective. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2020;146(2):285-99.

10. Holshue ML, DeBolt C, Lindquist S, Lofy KH, Wiesman J, Bruce H, et al. First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States. *The New England journal of medicine*. 2020;382(10):929-36.
11. Rodriguez-Morales AJ, Rodriguez-Morales AG, Méndez CA, Hernández-Botero S. Tracing New Clinical Manifestations in Patients with COVID-19 in Chile and Its Potential Relationship with the SARS-CoV-2 Divergence. *Current tropical medicine reports*. 2020:1-4.
12. Rodriguez-Morales AJ, Gallego V, Escalera-Antezana JP, Méndez CA, Zambrano LI, Franco-Paredes C, et al. COVID-19 in Latin America: The implications of the first confirmed case in Brazil. *Travel medicine and infectious disease*. 2020;35:101613-.
13. Informe Epidemiológico N°50 de Enfermedad por SARS-CoV2 (COVID19), Septiembre2020. Available from: [https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2020/09/Informe\\_Epidemiológico\\_50.pdf](https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2020/09/Informe_Epidemiológico_50.pdf).
14. Li H, Liu S-M, Yu X-H, Tang S-L, Tang C-K. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): current status and future perspectives. *International journal of antimicrobial agents*. 2020;55(5):105951-.
15. Wang H, Li X, Li T, Zhang S, Wang L, Wu X, et al. The genetic sequence, origin, and diagnosis of SARS-CoV-2. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020:1-7.
16. Tang X, Wu C, Li X, Song Y, Yao X, Wu X, et al. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *National Science Review*. 2020;7(6):1012-23.
17. Palacios Cruz M, Santos E, Velázquez Cervantes MA, León Juárez M. COVID-19, a worldwide public health emergency. *Rev Clin Esp*. 2020.
18. Uddin M, Mustafa F, Rizvi TA, Loney T, Suwaidi HA, Al-Marzouqi AHH, et al. SARS-CoV-2/COVID-19: Viral Genomics, Epidemiology, Vaccines, and Therapeutic Interventions. *Viruses*. 2020;12(5).
19. Yuki K, Fujiogi M, Koutsogiannaki S. COVID-19 pathophysiology: A review. *Clinical Immunology*. 2020;215:108427.
20. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine*. 2020;26(4):450-2.

21. Xiao K, Zhai J, Feng Y, Zhou N, Zhang X, Zou J-J, et al. Isolation of SARS-CoV-2-related coronavirus from Malayan pangolins. *Nature*. 2020;583(7815):286-9.
22. Wang L, Wang Y, Ye D, Liu Q. Review of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) based on current evidence. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2020;55(6):105948.
23. Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;579(7798):270-3.
24. Zhang Y-Z, Holmes EC. A Genomic Perspective on the Origin and Emergence of SARS-CoV-2. *Cell*. 2020;181(2):223-7.
25. Xia J, Tong J, Liu M, Shen Y, Guo D. Evaluation of coronavirus in tears and conjunctival secretions of patients with SARS-CoV-2 infection. *Journal of Medical Virology*. 2020;92(6):589-94.
26. Bourgonje AR, Abdulle AE, Timens W, Hillebrands J-L, Navis GJ, Gordijn SJ, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *The Journal of Pathology*. 2020;251(3):228-48.
27. Xu X, Yu C, Qu J, Zhang L, Jiang S, Huang D, et al. Imaging and clinical features of patients with 2019 novel coronavirus SARS-CoV-2. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2020;47(5):1275-80.
28. Connors JM, Levy JH. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood*. 2020;135(23):2033-40.
29. Park SE. Epidemiology, virology, and clinical features of severe acute respiratory syndrome -coronavirus-2 (SARS-CoV-2; Coronavirus Disease-19). *Clinical and experimental pediatrics*. 2020;63(4):119-24.
30. Pascarella G, Strumia A, Piliago C, Bruno F, Del Buono R, Costa F, et al. COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. *Journal of internal medicine*. 2020:10.1111/joim.13091.
31. Cristiani L, Mancino E, Matera L, Nenna R, Pierangeli A, Scagnolari C, et al. Will children reveal their secret? The coronavirus dilemma. *The European respiratory journal*. 2020;55(4):2000749.

32. Torres Acosta MA, Singer BD. Pathogenesis of COVID-19-induced ARDS: implications for an aging population. *The European respiratory journal*. 2020;2002049.
33. Li X, Ma X. Acute respiratory failure in COVID-19: is it "typical" ARDS? *Critical care (London, England)*. 2020;24(1):198-.
34. Gibson PG, Qin L, Puah SH. COVID-19 acute respiratory distress syndrome (ARDS): clinical features and differences from typical pre-COVID-19 ARDS. *The Medical journal of Australia*. 2020;213(2):54-6.e1.
35. Younes N, Al-Sadeq DW, Al-Jighefee H, Younes S, Al-Jamal O, Daas HI, et al. Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Viruses*. 2020;12(6):582.
36. Loeffelholz MJ, Tang Y-W. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections – the state of the art. *Emerging Microbes & Infections*. 2020;9(1):747-56.
37. Mathuria JP, Yadav R, Rajkumar. Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 - A review of current methods. *Journal of infection and public health*. 2020;13(7):901-5.
38. Li C, Zhao C, Bao J, Tang B, Wang Y, Gu B. Laboratory diagnosis of coronavirus disease-2019 (COVID-19). *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2020;510:35-46.
39. Hu Z, Song C, Xu C, Jin G, Chen Y, Xu X, et al. Clinical characteristics of 24 asymptomatic infections with COVID-19 screened among close contacts in Nanjing, China. *Science China Life Sciences*. 2020;63(5):706-11.
40. Vandenberg O, Martiny D, Rochas O, van Belkum A, Kozlakidis Z. Considerations for diagnostic COVID-19 tests. *Nature reviews Microbiology*. 2021;19(3):171-83.
41. Lieberman JA, Pepper G, Naccache SN, Huang M-L, Jerome KR, Greninger AL. Comparison of Commercially Available and Laboratory-Developed Assays for In Vitro Detection of SARS-CoV-2 in Clinical Laboratories. *Journal of clinical microbiology*. 2020;58(8):e00821-20.
42. Chowdhury SF, Anwar S. Management of Hemoglobin Disorders During the COVID-19 Pandemic. *Frontiers in medicine*. 2020;7:306-.
43. Benoit JL, Benoit SW, de Oliveira MHS, Lippi G, Henry BM. Anemia and COVID-19: A prospective perspective. *Journal of medical virology*. 2021;93(2):708-11.

44. Lippi G, Mattiuzzi C. Hemoglobin value may be decreased in patients with severe coronavirus disease 2019. *Hematology, transfusion and cell therapy*. 2020;42(2):116-7.
45. Tao Z, Xu J, Chen W, Yang Z, Xu X, Liu L, et al. Anaemia is associated with severe illness in COVID-19: a retrospective cohort study. *Journal of Medical Virology*. 2020;n/a(n/a).
46. Taneri PE, Gómez-Ochoa SA, Llanaj E, Raguindin PF, Rojas LZ, Roa-Díaz ZM, et al. Anemia and iron metabolism in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Epidemiology*. 2020:1-11.
47. Huerga Encabo H, Grey W, Garcia-Albornoz M, Wood H, Ulferts R, Aramburu IV, et al. Human Erythroid Progenitors Are Directly Infected by SARS-CoV-2: Implications for Emerging Erythropoiesis in Severe COVID-19 Patients. *Stem cell reports*. 2021;16(3):428-36.
48. Cavezzi A, Troiani E, Corrao S. COVID-19: hemoglobin, iron, and hypoxia beyond inflammation. A narrative review. *Clinics and practice*. 2020;10(2):1271-.
49. Yağcı S, Serin E, Acicbe Ö, Zeren Mİ, Odabaşı MS. The relationship between serum erythropoietin, hepcidin, and haptoglobin levels with disease severity and other biochemical values in patients with COVID-19. *International Journal of Laboratory Hematology*. 2021;n/a(n/a).
50. Liu X, Zhang R, He G. Hematological findings in coronavirus disease 2019: indications of progression of disease. *Annals of hematology*. 2020;99(7):1421-8.
51. Djakpo DK, Wang Z, Zhang R, Chen X, Chen P, Antoine MMLK. Blood routine test in mild and common 2019 coronavirus (COVID-19) patients. *Bioscience reports*. 2020;40(8):BSR20200817.
52. Hariyanto TI, Kurniawan A. Anemia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infection. *Transfusion and apheresis science : official journal of the World Apheresis Association : official journal of the European Society for Haemapheresis*. 2020:102926-.
53. Ehsani S. COVID-19 and iron dysregulation: distant sequence similarity between hepcidin and the novel coronavirus spike glycoprotein. *Biology Direct*. 2020;15(1):19.

54. Edeas M, Saleh J, Peyssonnaud C. Iron: Innocent bystander or vicious culprit in COVID-19 pathogenesis? *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2020;97:303-5.
55. Hindilerden F, Yonal-Hindilerden I, Akar E, Yesilbag Z, Kart-Yasar K. Severe Autoimmune Hemolytic Anemia in COVID-19 Infection, Safely Treated with Steroids. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*. 2020;12(1):e2020053-e.
56. Berzuini A, Bianco C, Paccapelo C, Bertolini F, Gregato G, Cattaneo A, et al. Red cell-bound antibodies and transfusion requirements in hospitalized patients with COVID-19. *Blood*. 1362020. p. 766-8.
57. Berzuini A, Bianco C, Migliorini AC, Maggioni M, Valenti L, Prati D. Red blood cell morphology in patients with COVID-19-related anaemia. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*. 2021;19(1):34-6.
58. Weisel JW, Litvinov RI. Red blood cells: the forgotten player in hemostasis and thrombosis. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2019;17(2):271-82.
59. Jacobs J, Eichbaum Q. COVID-19 associated with severe autoimmune hemolytic anemia. *Transfusion*. 2021;61(2):635-40.
60. Henry BM, Benoit JL, Benoit S, Pulvino C, Berger BA, Olivera MHS, et al. Red Blood Cell Distribution Width (RDW) Predicts COVID-19 Severity: A Prospective, Observational Study from the Cincinnati SARS-CoV-2 Emergency Department Cohort. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10(9).
61. Lee JJ, Montazerin SM, Jamil A, Jamil U, Marszalek J, Chuang ML, et al. Association between red blood cell distribution width and mortality and severity among patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Medical Virology*. 2021;93(4):2513-22.
62. Lorente L, Martín MM, Argueso M, Solé-Violán J, Perez A, Marcos Y Ramos JA, et al. Association between red blood cell distribution width and mortality of COVID-19 patients. *Anaesthesia, critical care & pain medicine*. 2021;40(1):100777-.
63. McCullough J. RBCs as targets of infection. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2014;2014(1):404-9.

64. Thomas T, Stefanoni D, Dzieciatkowska M, Issaian A, Nemkov T, Hill RC, et al. Evidence for structural protein damage and membrane lipid remodeling in red blood cells from COVID-19 patients. medRxiv. 2020.
65. Koupenova M, Freedman JE. Platelets and COVID-19: Inflammation, Hyperactivation and Additional Questions. *Circulation research*. 2020;127(11):1419-21.
66. Zhang Y, Zeng X, Jiao Y, Li Z, Liu Q, Ye J, et al. Mechanisms involved in the development of thrombocytopenia in patients with COVID-19. *Thrombosis research*. 2020;193:110-5.
67. Grobler C, Maphumulo SC, Grobbelaar LM, Bredenkamp JC, Laubscher GJ, Lourens PJ, et al. Covid-19: The Rollercoaster of Fibrin(Ogen), D-Dimer, Von Willebrand Factor, P-Selectin and Their Interactions with Endothelial Cells, Platelets and Erythrocytes. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(14):5168.
68. Wool GD, Miller JL. The Impact of COVID-19 Disease on Platelets and Coagulation. *Pathobiology : journal of immunopathology, molecular and cellular biology*. 2021;88(1):15-27.
69. Yang X, Yang Q, Wang Y, Wu Y, Xu J, Yu Y, et al. Thrombocytopenia and its association with mortality in patients with COVID-19. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2020;18(6):1469-72.
70. Leung C-H, Tseng H-K, Wang W-S, Chiang H-T, Wu AY-J, Liu C-P. Clinical characteristics of children and adults hospitalized for influenza virus infection. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2014;47(6):518-25.
71. Prina E, Ferrer M, Ranzani OT, Polverino E, Cillóniz C, Moreno E, et al. Thrombocytosis Is a Marker of Poor Outcome in Community-Acquired Pneumonia. *Chest*. 2013;143(3):767-75.
72. Walter RB, Hong TC, Bachli EB. Life-threatening thrombocytopenia associated with acute Epstein-Barr virus infection in an older adult. *Ann Hematol*. 2002;81(11):672-5.
73. Jin MJ, Kim Y, Choi EM, Shim YJ, Kim HS, Suh JK, et al. Clinical characteristics and treatment courses for cytomegalovirus-associated thrombocytopenia in immunocompetent children after neonatal period. *Blood research*. 2018;53(2):110-6.



74. Çelikel E, Tezer H, Kanik-Yuksekk S, Gülhan B, Ozkaya-Parlakay A, Yaralı N. Evaluation of 98 immunocompetent children with cytomegalovirus infection: importance of neurodevelopmental follow-up. *Eur J Pediatr*. 2015;174(8):1101-7.
75. Yang M, Li CK, Li K, Hon KL, Ng MH, Chan PK, et al. Hematological findings in SARS patients and possible mechanisms (review). *Int J Mol Med*. 2004;14(2):311-5.
76. Zhou M, Qi J, Li X, Zhang Z, Yao Y, Wu D, et al. The proportion of patients with thrombocytopenia in three human-susceptible coronavirus infections: a systematic review and meta-analysis. *British Journal of Haematology*. 2020;189(3):438-41.
77. Lippi G, Plebani M, Henry BM. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A meta-analysis. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2020;506:145-8.
78. Liu Y, Sun W, Guo Y, Chen L, Zhang L, Zhao S, et al. Association between platelet parameters and mortality in coronavirus disease 2019: Retrospective cohort study. *Platelets*. 2020;31(4):490-6.
79. Jiang S-Q, Huang Q-F, Xie W-M, Lv C, Quan X-Q. The association between severe COVID-19 and low platelet count: evidence from 31 observational studies involving 7613 participants. *British Journal of Haematology*. 2020;190(1):e29-e33.
80. Xu P, Zhou Q, Xu J. Mechanism of thrombocytopenia in COVID-19 patients. *Ann Hematol*. 2020;99(6):1205-8.
81. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*. 2020;395(10229):1033-4.
82. Zhou Y, Fu B, Zheng X, Wang D, Zhao C, qi Y, et al. Aberrant pathogenic GM-CSF<sup>+</sup> T cells and inflammatory CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocytes in severe pulmonary syndrome patients of a new coronavirus. *bioRxiv*. 2020:2020.02.12.945576.
83. Fu Y, Cheng Y, Wu Y. Understanding SARS-CoV-2-Mediated Inflammatory Responses: From Mechanisms to Potential Therapeutic Tools. *Virology*. 2020;35(3):266-71.

84. Strawn WB, Richmond RS, Ann Tallant E, Gallagher PE, Ferrario CM. Renin–angiotensin system expression in rat bone marrow haematopoietic and stromal cells. *British Journal of Haematology*. 2004;126(1):120-6.
85. Kanduc D, Shoenfeld Y. On the molecular determinants of the SARS-CoV-2 attack. *Clinical immunology (Orlando, Fla)*. 2020;215:108426-.
86. Ehrenfeld M, Tincani A, Andreoli L, Cattalini M, Greenbaum A, Kanduc D, et al. Covid-19 and autoimmunity. *Autoimmunity reviews*. 2020;19(8):102597-.
87. Li C, Li J, Ni H. Crosstalk Between Platelets and Microbial Pathogens. *Frontiers in immunology*. 2020;11:1962-.
88. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases*. 2020;71(15):762-8.
89. Bhattacharjee S, Banerjee M. Immune Thrombocytopenia Secondary to COVID-19: a Systematic Review. *SN comprehensive clinical medicine*. 2020:1-11.
90. Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet Respiratory medicine*. 2020;8(4):420-2.
91. Bg S, Gosavi S, Ananda Rao A, Shastry S, Raj SC, Sharma A, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte, Lymphocyte-to-Monocyte, and Platelet-to-Lymphocyte Ratios: Prognostic Significance in COVID-19. *Cureus*. 2021;13(1):e12622-e.
92. Lefrançais E, Ortiz-Muñoz G, Caudrillier A, Mallavia B, Liu F, Sayah DM, et al. The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors. *Nature*. 2017;544(7648):105-9.
93. McGonagle D, O'Donnell JS, Sharif K, Emery P, Bridgewood C. Immune mechanisms of pulmonary intravascular coagulopathy in COVID-19 pneumonia. *The Lancet Rheumatology*. 2020;2(7):e437-e45.
94. Levi M, Thachil J, Iba T, Levy JH. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19. *The Lancet Haematology*. 2020;7(6):e438-e40.

95. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2020;18(4):844-7.
96. Lingamaneni P, Gonakoti S, Moturi K, Vohra I, Zia M. Heparin-Induced Thrombocytopenia in COVID-19. *Journal of investigative medicine high impact case reports*. 2020;8:2324709620944091-.
97. Liu X, Zhang X, Xiao Y, Gao T, Wang G, Wang Z, et al. Heparin-induced thrombocytopenia is associated with a high risk of mortality in critical COVID-19 patients receiving heparin-involved treatment. *medRxiv*. 2020:2020.04.23.20076851.
98. Daviet F, Guervilly C, Baldesi O, Bernard-Guervilly F, Pilarczyk E, Genin A, et al. Heparin-Induced Thrombocytopenia in Severe COVID-19. *Circulation*. 2020;142(19):1875-7.
99. Handtke S, Thiele T. Large and small platelets—(When) do they differ? *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2020;18(6):1256-67.
100. Zhong Q, Peng J. Mean platelet volume/platelet count ratio predicts severe pneumonia of COVID-19. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2021;35(1):e23607-e.
101. Comer SP, Cullivan S, Szklanna PB, Weiss L, Cullen S, Kelliher S, et al. COVID-19 induces a hyperactive phenotype in circulating platelets. *PLoS biology*. 2021;19(2):e3001109-e.
102. Page MJ, Pretorius E. A Champion of Host Defense: A Generic Large-Scale Cause for Platelet Dysfunction and Depletion in Infection. *Semin Thromb Hemost*. 2020;46(3):302-19.
103. Manne BK, Denorme F, Middleton EA, Portier I, Rowley JW, Stubben C, et al. Platelet gene expression and function in patients with COVID-19. *Blood*. 2020;136(11):1317-29.
104. Zhang S, Liu Y, Wang X, Yang L, Li H, Wang Y, et al. SARS-CoV-2 binds platelet ACE2 to enhance thrombosis in COVID-19. *J Hematol Oncol*. 2020;13(1):120.
105. 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*. 2020;136(11):1330-41.

106. Ivanov II, Apta BHR, Bonna AM, Harper MT. Platelet P-selectin triggers rapid surface exposure of tissue factor in monocytes. *Scientific reports*. 2019;9(1):13397-.
107. Zaid Y, Puhm F, Allaeyes I, Naya A, Oudghiri M, Khalki L, et al. Platelets Can Associate with SARS-Cov-2 RNA and Are Hyperactivated in COVID-19. *Circulation research*. 2020;127(11):1404-18.
108. Wang J, Saguner AM, An J, Ning Y, Yan Y, Li G. Dysfunctional Coagulation in COVID-19: From Cell to Bedside. *Advances in therapy*. 2020;37(7):3033-9.
109. Giannis D, Ziogas IA, Gianni P. Coagulation disorders in coronavirus infected patients: COVID-19, SARS-CoV-1, MERS-CoV and lessons from the past. *Journal of Clinical Virology*. 2020;127:104362.
110. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020;395(10223):507-13.
111. Hadid T, Kafri Z, Al-Katib A. Coagulation and anticoagulation in COVID-19. *Blood reviews*. 2020;47:100761-.
112. Bowles L, Platton S, Yartey N, Dave M, Lee K, Hart DP, et al. Lupus Anticoagulant and Abnormal Coagulation Tests in Patients with Covid-19. *The New England journal of medicine*. 2020;383(3):288-90.
113. Jin S, Jin Y, Xu B, Hong J, Yang X. Prevalence and Impact of Coagulation Dysfunction in COVID-19 in China: A Meta-Analysis. *Thrombosis and haemostasis*. 2020;120(11):1524-35.
114. Long H, Nie L, Xiang X, Li H, Zhang X, Fu X, et al. D-Dimer and Prothrombin Time Are the Significant Indicators of Severe COVID-19 and Poor Prognosis. *BioMed research international*. 2020;2020:6159720-.
115. Martín-Rojas RM, Pérez-Rus G, Delgado-Pinos VE, Domingo-González A, Regalado-Artamendi I, Alba-Urdiales N, et al. COVID-19 coagulopathy: An in-depth analysis of the coagulation system. *European Journal of Haematology*. 2020;105(6):741-50.
116. Guo T, Fan Y, Chen M, Wu X, Zhang L, He T, et al. Cardiovascular Implications of Fatal Outcomes of Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA cardiology*. 2020;5(7):811-8.

117. Fan BE, Ng J, Chan SSW, Christopher D, Tso ACY, Ling LM, et al. COVID-19 associated coagulopathy in critically ill patients: A hypercoagulable state demonstrated by parameters of haemostasis and clot waveform analysis. *Journal of thrombosis and thrombolysis*. 2021;51(3):663-74.
118. Gómez-Mesa JE, Galindo-Coral S, Montes MC, Muñoz Martin AJ. Thrombosis and Coagulopathy in COVID-19. *Current problems in cardiology*. 2021;46(3):100742-.
119. Voicu S, Delrue M, Chousterman BG, Stépanian A, Bonnin P, Malissin I, et al. Imbalance between procoagulant factors and natural coagulation inhibitors contributes to hypercoagulability in the critically ill COVID-19 patient: clinical implications. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020;24(17):9161-8.
120. Cañas CA, Cañas F, Bautista-Vargas M, Bonilla-Abadía F. Role of Tissue Factor in the Pathogenesis of COVID-19 and the Possible Ways to Inhibit It. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2021;27:10760296211003983-.
121. Rosell A, Havervall S, von Meijenfeldt F, Hisada Y, Aguilera K, Grover SP, et al. Patients With COVID-19 Have Elevated Levels of Circulating Extracellular Vesicle Tissue Factor Activity That Is Associated With Severity and Mortality. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2020;41(2):ATVBAHA120315547-ATVBAHA.
122. Mackman N, Antoniak S, Wolberg AS, Kasthuri R, Key NS. Coagulation Abnormalities and Thrombosis in Patients Infected With SARS-CoV-2 and Other Pandemic Viruses. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2020;40(9):2033-44.
123. Becker RC. COVID-19 update: Covid-19-associated coagulopathy. *Journal of thrombosis and thrombolysis*. 2020;50(1):54-67.
124. Ranucci M, Sitzia C, Baryshnikova E, Di Dedda U, Cardani R, Martelli F, et al. Covid-19-Associated Coagulopathy: Biomarkers of Thrombin Generation and Fibrinolysis Leading the Outcome. *Journal of clinical medicine*. 2020;9(11):3487.
125. Yin S, Huang M, Li D, Tang N. Difference of coagulation features between severe pneumonia induced by SARS-CoV2 and non-SARS-CoV2. *Journal of thrombosis and thrombolysis*. 2021;51(4):1107-10.

126. Ranucci M, Ballotta A, Di Dedda U, Bayshnikova E, Dei Poli M, Resta M, et al. The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2020;18(7):1747-51.
127. White D, MacDonald S, Edwards T, Bridgeman C, Hayman M, Sharp M, et al. Evaluation of COVID-19 coagulopathy; laboratory characterization using thrombin generation and nonconventional haemostasis assays. *International Journal of Laboratory Hematology*. 2021;43(1):123-30.
128. Zhang X, Yang X, Jiao H, Liu X. Coagulopathy in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Aging*. 2020;12(24):24535-51.
129. Mei H, Hu Y. Characteristics, causes, diagnosis and treatment of coagulation dysfunction in patients with COVID-19. *Zhonghua xue ye xue za zhi = Zhonghua xueyexue zazhi*. 2020;41(3):185-91.
130. Liao D, Zhou F, Luo L, Xu M, Wang H, Xia J, et al. Haematological characteristics and risk factors in the classification and prognosis evaluation of COVID-19: a retrospective cohort study. *The Lancet Haematology*. 2020;7(9):e671-e8.
131. Perico L, Benigni A, Casiraghi F, Ng LFP, Renia L, Remuzzi G. Immunity, endothelial injury and complement-induced coagulopathy in COVID-19. *Nature reviews Nephrology*. 2021;17(1):46-64.
132. Spiezia L, Boscolo A, Poletto F, Cerruti L, Tiberio I, Campello E, et al. COVID-19-Related Severe Hypercoagulability in Patients Admitted to Intensive Care Unit for Acute Respiratory Failure. *Thrombosis and haemostasis*. 2020;120(6):998-1000.
133. Zhang Y, Cao W, Jiang W, Xiao M, Li Y, Tang N, et al. Profile of natural anticoagulant, coagulant factor and anti-phospholipid antibody in critically ill COVID-19 patients. *Journal of thrombosis and thrombolysis*. 2020;50(3):580-6.
134. Tabatabai A, Rabin J, Menaker J, Madathil R, Galvagno S, Menne A, et al. Factor VIII and Functional Protein C Activity in Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019: A Case Series. *A&A practice*. 2020;14(7):e01236-e.
135. Gazzaruso C, Paolozzi E, Valenti C, Brocchetta M, Naldani D, Grignani C, et al. Association between antithrombin and mortality in patients with COVID-19. A possible link

with obesity. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD.* 2020;30(11):1914-9.

136. Gazzaruso C, Mariani G, Ravetto C, Malinverni L, Tondelli E, Cerrone M, et al. Lupus anticoagulant and mortality in patients hospitalized for COVID-19. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis.* 2020.

137. Mir N, D'Amico A, Dasher J, Tolwani A, Valentine V. Understanding the andromeda strain - The role of cytokine release, coagulopathy and antithrombin III in SARS-CoV2 critical illness. *Blood reviews.* 2021;45:100731-.

138. Iba T, Levy JH, Levi M, Thachil J. Coagulopathy in COVID-19. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2020;18(9):2103-9.

139. Mazzeffi MA, Chow JH, Tanaka K. COVID-19 Associated Hypercoagulability: Manifestations, Mechanisms, and Management. *Shock (Augusta, Ga).* 2021;55(4):465-71.

140. Tsantes AE, Frantzeskaki F, Tsantes AG, Rapti E, Rizos M, Kokoris SI, et al. The haemostatic profile in critically ill COVID-19 patients receiving therapeutic anticoagulant therapy: An observational study. *Medicine.* 2020;99(47):e23365-e.

141. Terpos E, Ntanasis-Stathopoulos I, Elalamy I, Kastiris E, Sergentanis TN, Politou M, et al. Hematological findings and complications of COVID-19. *American Journal of Hematology.* 2020;95(7):834-47.

142. Asakura H, Ogawa H. COVID-19-associated coagulopathy and disseminated intravascular coagulation. *International journal of hematology.* 2021;113(1):45-57.

143. Abou-Ismael MY, Diamond A, Kapoor S, Arafah Y, Nayak L. The hypercoagulable state in COVID-19: Incidence, pathophysiology, and management. *Thrombosis research.* 2020;194:101-15.

144. Levi M, Iba T. COVID-19 coagulopathy: is it disseminated intravascular coagulation? *Internal and emergency medicine.* 2021;16(2):309-12.

145. Iba T, Levy JH, Connors JM, Warkentin TE, Thachil J, Levi M. The unique characteristics of COVID-19 coagulopathy. *Crit Care.* 2020;24(1):360.

146. Chauhan AJ, Wiffen LJ, Brown TP. COVID-19: A collision of complement, coagulation and inflammatory pathways. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2020;18(9):2110-7.

147. Barnes BJ, Adrover JM, Baxter-Stoltzfus A, Borczuk A, Cools-Lartigue J, Crawford JM, et al. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *The Journal of experimental medicine*. 2020;217(6):e20200652.
148. Leppkes M, Knopf J, Naschberger E, Lindemann A, Singh J, Herrmann I, et al. Vascular occlusion by neutrophil extracellular traps in COVID-19. *EBioMedicine*. 2020;58:102925-.
149. Skendros P, Mitsios A, Chrysanthopoulou A, Mastellos DC, Metallidis S, Rafailidis P, et al. Complement and tissue factor-enriched neutrophil extracellular traps are key drivers in COVID-19 immunothrombosis. *The Journal of clinical investigation*. 2020;130(11):6151-7.
150. Arcanjo A, Logullo J, Menezes CCB, de Souza Carvalho Giangiarulo TC, Dos Reis MC, de Castro GMM, et al. The emerging role of neutrophil extracellular traps in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (COVID-19). *Scientific reports*. 2020;10(1):19630-.
151. Kichloo A, Dettloff K, Aljadah M, Albosta M, Jamal S, Singh J, et al. COVID-19 and Hypercoagulability: A Review. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2020;26:1076029620962853-.
152. Gao YM, Xu G, Wang B, Liu BC. Cytokine storm syndrome in coronavirus disease 2019: A narrative review. *Journal of internal medicine*. 2021;289(2):147-61.
153. Savla SR, Prabhavalkar KS, Bhatt LK. Cytokine storm associated coagulation complications in COVID-19 patients: Pathogenesis and Management. *Expert review of anti-infective therapy*. 2021:1-17.
154. Jose RJ, Manuel A. COVID-19 cytokine storm: the interplay between inflammation and coagulation. *The Lancet Respiratory medicine*. 2020;8(6):e46-e7.
155. Hu B, Huang S, Yin L. The cytokine storm and COVID-19. *Journal of Medical Virology*. 2021;93(1):250-6.
156. Lazzaroni MG, Piantoni S, Masneri S, Garrafa E, Martini G, Tincani A, et al. Coagulation dysfunction in COVID-19: The interplay between inflammation, viral infection and the coagulation system. *Blood reviews*. 2021;46:100745-.



157. Middeldorp S, Coppens M, van Haaps TF, Foppen M, Vlaar AP, Müller MCA, et al. Incidence of venous thromboembolism in hospitalized patients with COVID-19. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2020;18(8):1995-2002.
158. Magro C, Mulvey JJ, Berlin D, Nuovo G, Salvatore S, Harp J, et al. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: A report of five cases. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine*. 2020;220:1-13.
159. Rahi MS, Jindal V, Reyes S-P, Gunasekaran K, Gupta R, Jaiyesimi I. Hematologic disorders associated with COVID-19: a review. *Annals of hematology*. 2021;100(2):309-20.
160. Mei H, Luo L, Hu Y. Thrombocytopenia and thrombosis in hospitalized patients with COVID-19. *J Hematol Oncol*. 132020. p. 161.