



FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

## **GRADO EN MEDICINA**

### **TRABAJO FIN DE GRADO**

# **Utilidad de la determinación de los andrógenos plasmáticos como marcadores pronósticos en la infección SARS-CoV-2**

Utility of the determination of plasma androgens as prognostic markers in SARS-CoV-2 infection

**Autor/a:** Cristina Quinzaños Ruiz

**Director/es:** María Teresa García Unzueta

**David Ruiz Ochoa**

**Santander, junio de 2023**

# ÍNDICE GENERAL

<b>1. RESUMEN</b> .....	<b>4</b>
<b>2. ABSTRACT</b> .....	<b>4</b>
<b>3. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>5</b>
3.1 Epidemiología.....	5
3.2 Entrada del SARS-CoV-2 en la célula, ECA-2 y TMPRSS2.....	6
3.3 Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA), equilibrio ECA/ECA-2 y polimorfismos de ECA-2.....	7
3.4 Formas de ECA-2 y su expresión en diferentes tejidos.....	8
3.5 Hipótesis del papel del cromosoma X y de las hormonas sexuales femeninas .....	11
3.6 Importancia de los andrógenos en la COVID-19 .....	12
<b>4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
4.1 Objetivos .....	16
<b>5. METODOLOGÍA</b> .....	<b>16</b>
5.1 Población a estudio .....	16
5.2 Criterios de inclusión en el estudio.....	17
5.3 Determinaciones analíticas .....	17
5.4 Análisis estadístico .....	18
<b>6. RESULTADOS</b> .....	<b>19</b>
<b>7. DISCUSIÓN</b> .....	<b>29</b>
7.1 Hallazgos hormonales .....	29
7.2 Hallazgos generales.....	32
7.3 Hallazgos bioquímicos.....	32
7.4 Hallazgos inflamatorios .....	33
<b>8. LIMITACIONES DEL ESTUDIO</b> .....	<b>34</b>
<b>9. CONCLUSIONES</b> .....	<b>34</b>
<b>10. AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>35</b>
<b>11. GLOSARIO DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>36</b>
<b>12. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>38</b>
<b>13. ANEXOS</b> .....	<b>42</b>
13.1 Aprobación de la financiación del proyecto por parte del Programa de Dinamización de la Investigación Biosanitaria de 2020.....	42
13.2 Comunicaciones en congresos .....	44

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Características basales de la población del estudio .....	<b>19</b>
<b>Tabla 2:</b> Sintomatología más frecuente de la COVID-19 en la población del estudio. ..	<b>20</b>
<b>Tabla 3:</b> Bioquímica basal en la población del estudio.....	<b>21</b>
<b>Tabla 4:</b> Parámetros inflamatorios en la población del estudio.....	<b>22</b>
<b>Tabla 5:</b> Hormonas sexuales en la población del estudio .....	<b>23</b>
<b>Tabla 6:</b> Odds ratio cruda y ajustada, con sus IC al 95%, en relación con las variables a estudio categorizadas en función de la mediana y el riesgo de COVID-19 grave .....	<b>24</b>
<b>Tabla 7:</b> Odds ratio cruda y ajustada, con sus IC al 95%, en relación con las variables a estudio categorizadas en función de tertiles y el riesgo de COVID-19 grave .....	<b>25</b>
<b>Tabla 8:</b> Área bajo la curva (AUC) de los andrógenos sexuales, el estradiol y el ratio testosterona total/estradiol; en función de un criterio de gravedad (ingreso en UCI y/o muerte) .....	<b>28</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Entrada del SARS-CoV-2 en la célula huésped .....	<b>6</b>
<b>Figura 2.</b> SRAA, receptores y efectos de Ang II y Ang 1-7 .....	<b>7</b>
<b>Figura 3.</b> Alveolo pulmonar con equilibrio ECA/ECA-2 (izquierda) y durante la infección por SARS-CoV-2 con desequilibrio ECA/ECA-2 (derecha) .....	<b>8</b>
<b>Figura 4.</b> Expresión de ECA-2 en diferentes tejidos .....	<b>9</b>
<b>Figura 5.</b> Curva ROC representativa de la sensibilidad frente al inverso de la especificidad de los andrógenos sexuales en función de un criterio de gravedad (ingreso en UCI y/o muerte) .....	<b>27</b>
<b>Figura 6.</b> Curva ROC representativa de la sensibilidad frente al inverso de la especificidad del estradiol en función de un criterio de gravedad (ingreso en UCI y/o muerte).....	<b>27</b>
<b>Figura 7.</b> Curva ROC representativa de la sensibilidad frente al inverso de la especificidad del ratio testosterona total/estradiol en función de un criterio de gravedad (ingreso en UCI y/o muerte) .....	<b>28</b>

## 1. RESUMEN

**Introducción:** Se ha sugerido que los esteroides sexuales pueden estar involucrados en el pronóstico de la COVID-19.

**Material y métodos:** En pacientes varones diagnosticados de infección por SARS-CoV-2 ingresados en el HUMV se determinó testosterona total y libre, estradiol, DHEA y DHEA-S, androstendiona y SHBG en las primeras 24h de ingreso y se definió como COVID-19 grave la mortalidad y/o el ingreso en UCI. Para cada biomarcador se estimó el área bajo la curva (AUC) y su IC del 95 % mediante el uso de curvas ROC. Los niveles de los biomarcadores se clasificaron de forma ordinal en tertiles (T1, T2 y T3) y como medida de asociación se utilizó la OR con su IC del 95% ajustado por edad, IMC, tabaquismo, enfermedad renal y diagnóstico de diabetes.

**Resultados:** Se obtuvieron datos de 98 pacientes: edad media  $63,65 \pm 15,53$  años; 54/98 presentaron COVID-19 grave (55,1%). La precisión predictiva de los biomarcadores fue: AUC testosterona total 0,72; AUC estradiol 0,70; AUC DHEA 0,75 y AUC ratio testosterona total/estradiol 0,77. Con respecto al riesgo de COVID-19 grave las asociaciones fueron: OR (testosterona total)=7,09 (2,34-21,48); OR (testosterona libre)=3,90 (1,38-11,04); OR (estradiol)=4,62 (1,60-13,35); OR (DHEA)=6,17 (1,97-19,35), OR (DHEA-s)= 3,90 (1,38-11,04) y OR (ratio TT/estradiol)=17,89 (4,87-65,68).

**Conclusión:** Los esteroides sexuales son predictores independientes de COVID-19 grave en pacientes con infección por SARS-CoV-2. La capacidad predictiva discriminada por el AUC de la curva ROC es mayor para el ratio testosterona total/estradiol.

**Palabras clave:** Biomarcador, SARS-CoV-2, esteroides sexuales.

## 2. ABSTRACT

**Introduction:** It has been suggested that sex steroids may be involved in the prognosis of COVID-19.

**Material and methods:** In male patients diagnosed with SARS-CoV-2 infection and admitted to the HUMV, total and free testosterone, estradiol, DHEA and DHEA-S, androstenedione and SHBG were determined in the first 24h of admission and severe COVID-19 was defined as mortality and/or ICU admission. For each biomarker, area under curve (AUC) and its 95% CI were estimated by using ROC curves. Levels of biomarkers were ordinal categorized in tertiles (T1, T2 and T3) and we used as association measure, odds ratios with their 95% CI adjusted for age, BMI, smoking, renal disease and diagnosis of diabetes.

**Results:** Data were obtained from 98 patients: mean age  $63.65 \pm 15.53$ y; 54/98 showed severe COVID-19 (55.1%). Predictive accuracy of biomarkers was: AUC total testosterone 0.72; AUC estradiol 0.70; AUC DHEA 0.75 and AUC ratio total testosterone/estradiol 0.77. With regard to the risk of severe COVID-19, the associations were: OR (total testosterone)=7.09 (2.34-21.48); OR (free testosterone)=3.90 (1.38-11.04); OR (estradiol)=4.62 (1.60-13.35); OR (DHEA)=6.17 (1.97-19.35), OR (DHEA-S)=3.90 (1.38-11.04) and OR (ratio TT/estradiol)=17.89 (4.87-65.68).

**Conclusion:** Sexual steroids are independent predictors of severe COVID-19 in patients with SARS-CoV-2 infection. The predictive ability discriminated by the AUC of the ROC curve is higher for ratio total testosterone/estradiol.

**Keywords:** Biomarker, SARS-CoV-2, sex steroids.

### 3. INTRODUCCIÓN

En diciembre de 2019 surgen en Wuhan (provincia de Hubei, China) una serie de casos de neumonía de causa desconocida con presentaciones clínicas muy parecidas a las neumonías virales. Los pacientes estaban ligados al mercado de Huanan, donde además de alimentos, se vendían animales vivos. Las autoridades locales emitieron una alerta epidemiológica el 31 de diciembre de 2019 y el mercado fue clausurado el 1 de enero de 2020 [1]. El 7 de enero de 2020, se identificó un virus de la familia *Coronaviridae* como agente causante de la enfermedad, que posteriormente fue nombrado SARS-CoV-2 (coronavirus de tipo 2 causante del síndrome respiratorio agudo grave). A la enfermedad producida por este virus se la denominó COVID-19 por consenso internacional y el 11 de marzo de 2020 la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró la pandemia global [2].

#### 3.1 Epidemiología

El informe número 124 de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) [2] recoge que al comienzo de la pandemia la prevalencia de COVID-19 en España era mayor en hombres. No obstante, a partir del segundo periodo epidémico, las mujeres pasaron a representar el 52,8% de los casos de nuestro país. Actualmente se considera que la susceptibilidad a la infección no muestra diferencias significativas entre ambos sexos, en cambio, sí hay diferencias en términos de hospitalización, ingreso en UCI o letalidad [2].

Si analizamos este informe, descubrimos que la COVID-19 es una enfermedad que muestra un patrón en función del sexo. De esta forma, el porcentaje de hospitalización de hombres a partir de 40 años, así como el porcentaje de ingreso en UCI a partir de 10 años, es mayor en el grupo de estos que en el de mujeres. Esta diferencia es también observable a nivel de la letalidad, siendo mayor en hombres a partir de 60 años [2].

Al comienzo de la pandemia los datos internacionales reflejaban la existencia de estas diferencias de manera bastante más acentuada. El informe del Centro Chino para el Control y la Prevención de Enfermedades (CCDC) de febrero de 2020, estudió 44.672 casos confirmados de COVID-19 y concluyó que la tasa de mortalidad de hombres era casi el doble que la tasa de mortalidad de las mujeres (2,8% vs 1,7%) [3]. A su vez, un estudio italiano de febrero a abril de 2020, reflejaba como el exceso de mortalidad fue mayor entre los hombres que entre las mujeres (aproximadamente un 78,5% vs un 13%) [4].

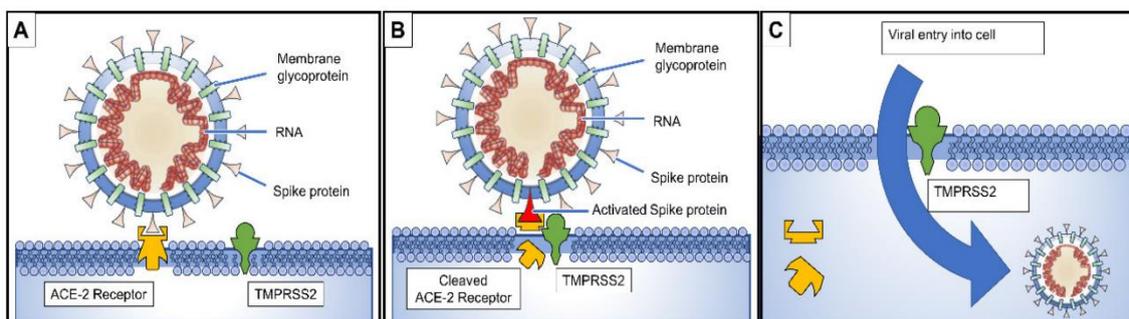
En un artículo de la Sociedad Europea de Menopausia y Andropausia (EMAS) [5] se revisaron las bases de datos internacionales que segregaban las cifras de la pandemia en función del sexo. Los resultados fueron claros, la tasa de hospitalización masculina

oscilaba entre el 55% y el 62%, siendo mayor que la tasa femenina en todos los países que ofrecían datos discriminados por este factor. En este mismo artículo, se evidenciaba que aproximadamente el 73% de los ingresos en UCI en Europa fueron de varones y se concluía que los hombres parecían tener un 60% más de probabilidades de padecer COVID-19 grave o fallecer por complicaciones de este [5].

No solo se encontraron diferencias a nivel de hospitalización y letalidad, sino que son muchos los estudios en los que se aprecia que la propia sintomatología también difiere. En los datos recogidos por el del Ministerio de Sanidad, los hombres presentaban con mayor frecuencia fiebre, disnea, neumonía, síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) y fallo renal. Mientras que en las mujeres los síntomas que predominaron fueron el dolor faríngeo, los vómitos y la diarrea. A su vez, los factores de riesgo cardiovascular previos a la infección fueron más frecuentes en ellos [6, 7].

### 3.2 Entrada del SARS-CoV-2 en la célula, ECA-2 y TMPRSS2

Para que el SARS-CoV-2 pueda infectar son necesarios dos procesos, primero que se produzca la unión de la proteína spike al receptor ECA-2 (enzima convertidora de la angiotensina 2) y segundo que la TMPRSS2 (proteasa de serina transmembrana de tipo II) se una a los anteriores y escinda al receptor ECA-2. En este proceso la proteína spike se activa y favorece la entrada del virus en la célula a través de la fusión de membranas. La expresión de TMPRSS2 aumenta la captación celular del coronavirus [8, 9].



**Figura 1. Entrada del SARS-CoV-2 en la célula huésped [9].** (A) La proteína spike de la superficie del coronavirus se une al receptor ECA-2 en la superficie de la célula huésped; (B) TMPRSS2 se une y escinde el receptor ECA-2. En el proceso, la proteína spike se activa; (C) El receptor ECA-2 escindido y la proteína spike activada facilitan la entrada del virus.

Se ha descubierto que los andrógenos son capaces de regular al alza a TMPRSS2, lo que favorecería la entrada del virus en la célula y reforzaría la idea de que los andrógenos tienen un papel importante en la enfermedad [10]. Además, recientemente se ha comprobado en estudios in vitro, que la utilización de un inhibidor de TMPRSS2 permite bloquear la entrada del SARS-CoV-2 en la célula y podría constituir una opción de tratamiento [8].

### 3.3 Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA), equilibrio ECA/ECA-2 y polimorfismos de ECA-2

El sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) constituye una vía de señalización que interviene en la regulación de la presión arterial, el volumen extracelular y el balance de sodio y potasio. Cuando el sistema se activa, las células yuxtaglomerulares del riñón liberan renina, que a su vez permite la conversión del angiotensinógeno hepático en angiotensina I (Ang I). La Ang I se transforma en angiotensina II (Ang II) por acción de la ECA (enzima convertidora de la angiotensina), y finalmente, la Ang II, estimula la secreción de aldosterona por las glándulas suprarrenales [11].

ECA promueve la formación de Ang II, que en función del receptor sobre el que actúe, tendrá unos efectos u otros. Cuando la Ang II se une al receptor AT1 se originan los efectos clásicos de Ang II: vasoconstricción, inflamación, fibrosis, apoptosis, estrés oxidativo y retención de sodio y agua. Mientras que si la Ang II se une al receptor AT2 se propician los efectos contrarios [11].

El papel de la ECA-2 es el de convertir la Ang I en angiotensina 1-9 (Ang 1-9), que posteriormente es convertida por la ECA en angiotensina 1-7 (Ang 1-7), y el de transformar la Ang II en Ang 1-7 de manera directa. La Ang 1-7 poseen efectos vasodilatadores, antiinflamatorios, antifibróticos y antiapoptóticos al actuar sobre su receptor (Mas) [12].

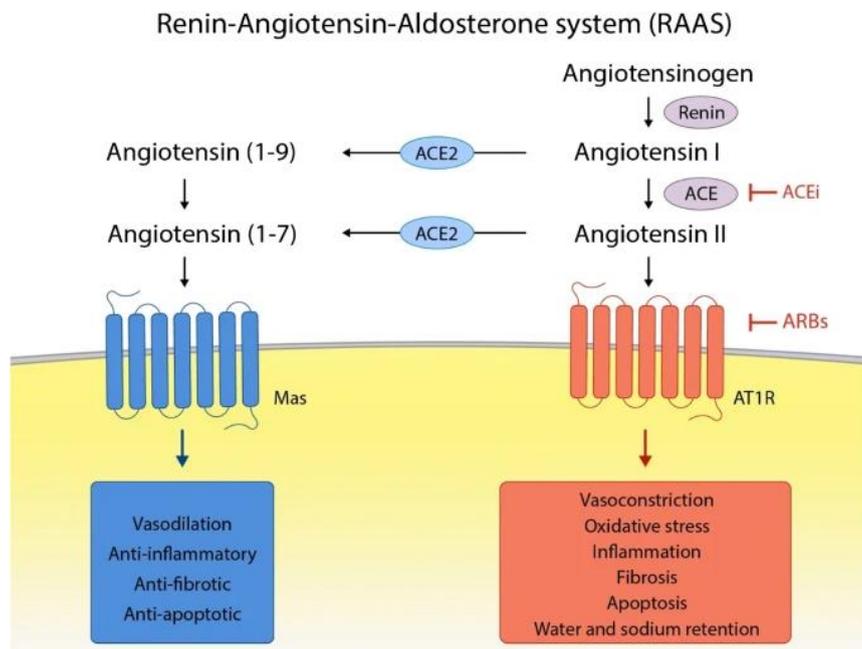
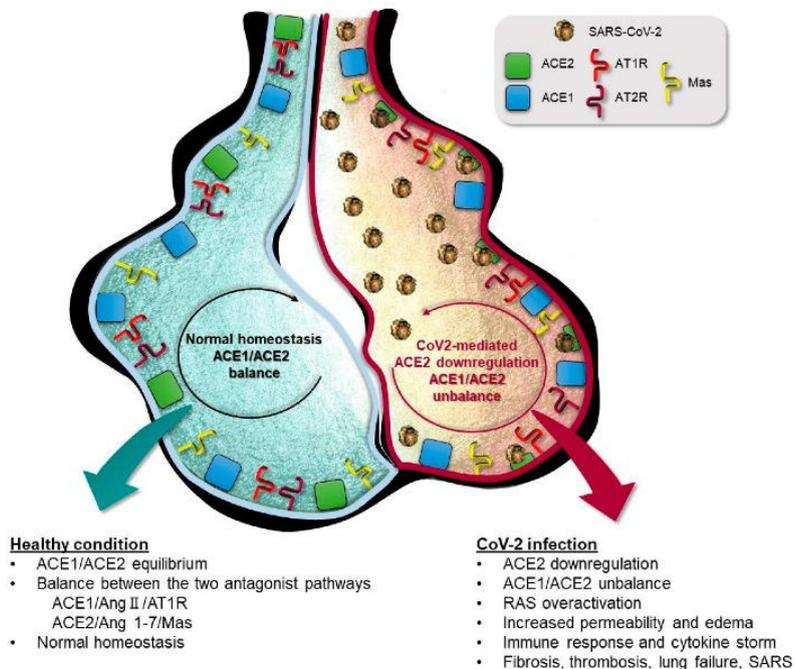


Figura 2. SRAA, receptores y efectos de Ang II y Ang 1-7 [12].

En circunstancias normales, estas dos enzimas (ECA y ECA-2), se mantienen en equilibrio; aunque para el tratamiento de determinadas patologías podemos potenciar farmacológicamente la acción de ECA-2 mediante el uso de inhibidores de la ECA (IECAS) o de antagonistas de los receptores de Ang II (ARA II) [11].

Cuando el SARS-CoV-2 se une a ECA-2, bloquea su actividad enzimática. Esto se traduce en un desequilibrio ECA/ECA-2, que favorece los efectos vasoconstrictores mediados por la Ang II, al producirse una sobreactivación del SRAA. Este exceso de acción del SRAA favorece el edema, el aumento de la permeabilidad vascular y la tormenta de citoquinas que se produce característicamente en la COVID-19 grave [11, 12].



**Figura 3. Alveolo pulmonar con equilibrio ECA/ECA-2 (izquierda) y durante la infección por SARS-CoV-2 con desequilibrio ECA/ECA-2 (derecha) [12].**

En la actualidad se están llevando a cabo estudios de los polimorfismos genéticos de ECA-2, dado que un eficaz reconocimiento e interacción de ECA-2 con la proteína spike es un paso clave en la infección por SARS-CoV-2. El gen para ECA-2 está localizado en el cromosoma X y este hecho parece conferir cierta ventaja a las mujeres al poder ser heterocigóticas en los alelos de esta enzima. Los hombres en cambio siempre van a ser homocigotos para ECA-2, por lo que, si un varón presenta alelos considerados de riesgo, las probabilidades de que presente un desequilibrio ECA/ECA-2 en la infección por SARS-CoV-2 son mayores.

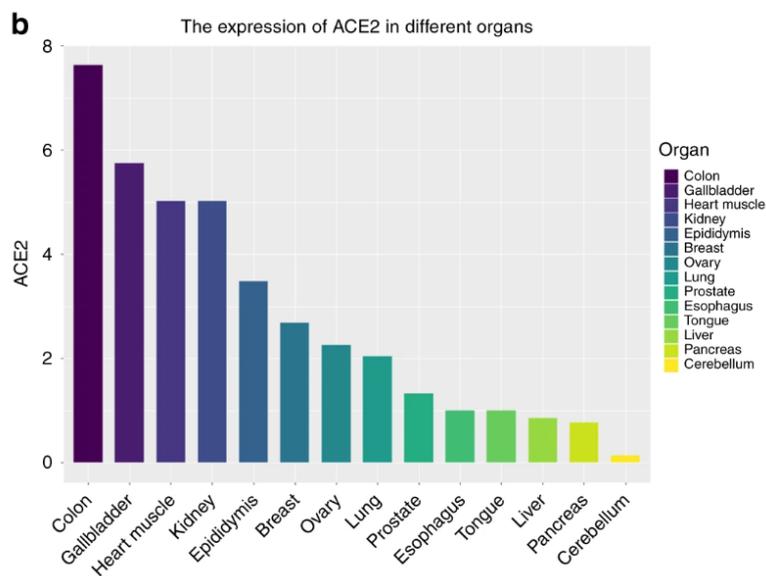
Además, las mujeres no solo pueden presentar alelos heterocigotos ventajosos, sino que de por sí la actividad de ECA en ellas es menor, tanto en individuos sanas como en patológicas, lo que hace que estén mejor protegidas frente a los efectos nocivos de la Ang II [12].

### **3.4 Formas de ECA-2 y su expresión en diferentes tejidos**

ECA-2 presenta dos isoformas, una soluble (sECA-2) y otra unida a la membrana. Esta última es específica a nivel celular, pues ECA-2 se expresa en múltiples tejidos [11, 12]. Un hallazgo interesante es que en diversas enfermedades cardíacas, renales y pulmonares se produce la liberación de sECA-2 al plasma, este fenómeno también ha

sido observado en la infección por SARS-CoV-2. Es más, en estudios in vitro se comprueba que sECA-2 es capaz de bloquear la unión de la proteína spike del SARS-CoV-2 a la ECA-2 de membrana, de manera que podría constituir otra estrategia de tratamiento en el futuro [13].

La unión del SARS-CoV-2 a la ECA-2 de membrana es un paso imprescindible para el ingreso del virus al ser humano, por lo que sería lógico pensar que aquellos tejidos con mayor expresión de ECA-2 fueran los más dañados. ECA-2 está presente en los tejidos de numerosos órganos, en la figura 4 se muestra un gráfico perteneciente a un estudio publicado por la *International journal of oral science*, en el que se analizaron 14 tejidos humanos y se objetivó el nivel de expresión de ECA-2 en ellos [14].



**Figura 4. Expresión de ECA-2 en diferentes tejidos [14].** Datos obtenidos por secuenciación de ARN.

Al tratarse de un virus respiratorio, inicialmente las células afectadas deberían ser las de este tracto. Acorde con esta hipótesis, en ese mismo estudio [14], se halló una alta expresión de ECA-2 en las células epiteliales de la cavidad oral y en las células epiteliales nasales, lo que es consecuente con un inicio de la infección en el tracto respiratorio superior [14]. La mucosa oral expresa ECA-2, principalmente en las células epiteliales de la lengua, lo que explica la ageusia que padecen los pacientes. La anosmia también puede ser explicada por la alta expresión de ECA-2 en las células del epitelio nasal [11].

En la COVID-19 los órganos más afectados son los pulmones, siendo la neumonía la complicación que más hospitalizaciones causa [15]. Curiosamente, la expresión de ECA-2 en los pulmones está bastante restringida a las células epiteliales alveolares de tipo II (AT2), las células endoteliales y los macrófagos. Las células AT2 concentran el 83% de la expresión de ECA-2 en los pulmones, por lo que se cree que el virus las utiliza para reproducirse y propagarse [13]. Estas células son las encargadas de la producción del surfactante pulmonar, fundamental para mantener la tensión superficial de los alveolos y evitar su colapso, el principal problema es que, al expresar mucha enzima, la infección por parte del SARS-CoV-2 puede llegar a romper el equilibrio ECA/ECA-2; causando un

exceso de activación de SRAA, aumento de la permeabilidad vascular y edema pulmonar [11]. La actividad de la ECA-2 pulmonar no muestra diferencias significativas entre ambos sexos, pero sí se ha comprobado que los hombres presentan mayor nivel de expresión de la enzima en los pulmones; en concreto expresan tres veces más [15].

Uno de los principales factores de riesgo para desarrollar COVID-19 grave es el hábito tabáquico, pues asocia una probabilidad 1,4 veces mayor de desarrollar formas graves de la enfermedad y 2,4 veces mayor de necesitar cuidados intensivos. Además, se ha visto que el tabaco es capaz de aumentar la expresión de ECA-2 en los pulmones debido a la acción de la nicotina, por lo que fumar aumenta la susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2 [11]. El tabaco a su vez es capaz de alterar la homeostasis del SRAA, lo que facilita un peor desenlace de la enfermedad [10].

Tras la neumonía, las lesiones cardíacas y renales son las complicaciones más frecuentes en la COVID-19 [15]. La expresión de ECA-2 en el corazón es menor que en los intestinos, no obstante, es mayor que la expresión en el pulmón [16]. En las enfermedades cardiovasculares se altera la expresión cardíaca de ECA-2 y los niveles de sECA-2, de hecho, las lesiones cardíacas producidas por la COVID-19 pueden atribuirse, al menos en parte, a las alteraciones de la enzima. Las lesiones causadas por la infección pueden tener un origen indirecto o un origen directo. Indirectamente pueden ser consecuencia de lesiones pulmonares graves que reduzcan los niveles de oxígeno o bien como resultado de la característica tormenta de citoquinas. Cuando se originan de manera directa, la causa es la disminución de la expresión y actividad de la ECA-2 [13].

Sorprendentemente ECA-2 se expresa escasamente en los cardiomiocitos y abundantemente en los pericitos, de manera que el virus puede atacarlos y provocar disfunción de las células endoteliales capilares; pudiendo causar finalmente trastornos de la microcirculación. Los pacientes que padecen insuficiencia cardíaca previa a la infección expresan mayor cantidad de ECA-2 que los sanos, por lo que la posibilidad de infarto y de daño cardíaco tras la COVID-19 es también mayor [16].

En el riñón, ECA-2, se expresa en los podocitos, las células mesangiales, el epitelio de la cápsula de Bowman, el ribete en cepillo del túbulo proximal y en los túbulos colectores. Los podocitos son especialmente sensibles a SRAA, de manera que los aumentos de Ang II son capaces de producir que estos adquieran un fenotipo disfuncional que induce a la hiperfiltración de la nefrona y que se manifiesta con proteinuria. De hecho, la proteinuria de leve a moderada, es el hallazgo clínico más frecuente en los pacientes con daño renal por COVID-19. La hematuria también es una manifestación de daño renal encontrada en la infección por SARS-CoV-2, puede ser debida a la coagulopatía, la inflamación renal o a la alteración de la barrera glomerular que se produce en la enfermedad [17].

Por otra parte, la expresión de ECA-2 es más alta en los enterocitos del íleon y del colon que en el propio pulmón, esto hace que el SARS-CoV-2 se pueda detectar en las heces de gran parte de los pacientes. Las células del epitelio intestinal necesitan ECA-2 para su homeostasis, de ahí que la infección por SARS-CoV-2 esté asociada a inflamación intestinal con calprotectina fecal elevada. Los síntomas gastrointestinales más comunes

son la diarrea, las náuseas y los vómitos, no obstante, también se han hallado cambios histológicos intestinales y sangrado esofágico en pacientes graves [18, 19].

El sistema reproductor masculino y el femenino son también lugares de expresión de ECA-2, es más, se ha encontrado coexpresión de ECA-2 y TMPRSS2 en los testículos, el endometrio y la placenta. En el sistema reproductor masculino se ha encontrado una alta expresión de ECA-2 principalmente en los testículos, en concreto en las espermatogonias y las células de Leydig y de Sertoli [20].

La expresión de ECA-2 testicular varía con la edad, de manera que empieza a aumentar en los hombres en la pubertad y alcanza su máximo nivel durante la vida reproductiva [20]. Las cifras máximas de la enzima se alcanzan alrededor de los 30 años, lo que sugiere que sean los pacientes jóvenes los que están más expuestos al riesgo de disfunción testicular por SARS-CoV-2 [21].

Análogamente, también encontramos en los testículos Ang 1-7 y su receptor Mas, lo que indica que son unos órganos sensibles a las variaciones del SRAA [20]. En la actualidad no hay evidencia suficiente como para afirmar que los gametos masculinos se puedan ver afectados por la infección, no obstante, sí que se conoce que la fiebre afecta a la espermatogénesis, por lo que la fertilidad masculina podría verse disminuida entre los 72-90 días posteriores a la infección debido a una disminución de la concentración y la motilidad de los espermatozoides [21].

Desde 2011 se conoce que ECA-2 se expresa en las células epiteliales y del estroma del endometrio y que esta expresión varía durante el ciclo menstrual, siendo más abundante en la fase secretora que en la proliferativa [22]. La expresión de ECA-2 también se da en el ovario, el útero, la vagina e incluso en el embrión [23]. Además, el SRAA, está implicado en la esteroidogénesis, la foliculogénesis, la maduración de los ovocitos y la ovulación; lo que implica que el virus podría afectar a la fertilidad femenina e incluso producir abortos espontáneos [22].

### ***3.5 Hipótesis del papel del cromosoma X y de las hormonas sexuales femeninas***

La explicación a las diferencias encontradas en el comportamiento del virus entre hombres y mujeres no está clara y las hipótesis son numerosas.

Una de las posibles teorías se basa en la presencia de dos cromosomas X en las mujeres, pues este cromosoma contiene el mayor número de genes relacionados con la inmunidad de todo el genoma. Ante una infección viral, los genes reguladores del sistema inmunitario codificados por el cromosoma X, se asocian a niveles más bajos de carga viral y a menor inflamación por la menor producción de IL-6 (interleucina 6). Los niveles más altos de TLR7 (toll like receptor 7) de las mujeres hacen que cuenten con una mayor resistencia hacia las infecciones virales, además, el número de linfocitos TCD4 que producen es mayor y encima estos presentan una mejor respuesta inmunitaria. De igual manera, la producción de anticuerpos de ellas es más alta, perdurando también más estos en el tiempo [24].

En un estudio realizado en Wuhan en el que se analizó el suero de 331 pacientes ingresados por SARS-CoV-2, se encontró que las mujeres producían mayor cantidad de IgG en la fase inicial de la enfermedad y que los niveles de esta inmunoglobulina en las mujeres con COVID-19 grave eran superiores a los de los hombres en la misma situación; lo que podría explicar por qué hay mayor progresión hacia enfermedad grave en los varones [25].

Por norma general, las mujeres tienen una respuesta inmunitaria mayor frente a las infecciones y las vacunas, lo que se debe al papel de las hormonas sexuales, dado que estas poseen propiedades inmunorreguladoras [5]. Los estrógenos son considerados inmunoestimuladores, mientras que la progesterona y los andrógenos se consideran más bien inmunosupresores [10].

Los efectos del estradiol dependen de la concentración en la que se halle, de manera que a niveles bajos tiene propiedades proinflamatorias que potencian la respuesta inmunológica y a niveles altos sus propiedades pasan a ser antiinflamatorias. Los estrógenos tienen también la capacidad de regular la expresión de ECA-2 a la baja en las células del epitelio bronquial [26]. De hecho, se ha observado que cuando los niveles de estrógenos disminuyen mucho, como ocurre tras la menopausia, el riesgo de infección grave por SARS-CoV-2 aumenta [10].

En estudios in vivo se ha comprobado que en hembras de ratón ovariectomizadas se produce un aumento de la expresión de ECA-2 que favorece la entrada del virus en la célula. Es más, un estudio publicado por la *International Journal of Molecular Sciences* [27], ha demostrado que los estrógenos compiten con la proteína spike por los sitios de unión del virus al receptor, lo que hace que el receptor ECA-2 sea menos susceptible a interactuar con el SARS-CoV-2. El uso de estrógenos para el tratamiento de la COVID-19 también está siendo objeto de estudio, en investigaciones in vitro se ha comprobado que los estrógenos reducen los niveles de TMPRSS2 de manera que podrían reducir la susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2 [28].

La progesterona en cambio posee propiedades exclusivamente antiinflamatorias, además de poseer actividad glucocorticoide y mineralocorticoide parcial [26].

### **3.6 Importancia de los andrógenos en la COVID-19**

Se han planteado dos hipótesis entorno al papel de la testosterona. Por un lado, se cree que esta podría actuar facilitando la infección por el SARS-CoV-2, y por otro se plantea que los niveles reducidos de testosterona favorezcan el aumento de las citoquinas proinflamatorias y estas conduzcan hacia un peor pronóstico de la enfermedad [5,10].

Mientras los estrógenos disminuyen los niveles de TMPRSS2, la testosterona promueve su expresión [26]. El gen de TMPRSS2 está regulado por el receptor de andrógenos, tanto en la próstata, como en tejidos no prostáticos como el pulmón. TMPRSS2 se encuentra regulado al alza en el cáncer de próstata localizado y en el metastásico, apoyando la progresión del tumor y viéndose involucrado en una traslocación genética frecuente en este tipo de cáncer [29]. En los pacientes con cáncer de próstata tratados con terapias

de privación de andrógenos los niveles de TMPRSS2 disminuyen, lo que es consecuente con lo observado en pacientes con cáncer de próstata e infección por SARS-CoV-2, en los que este tipo de terapia se asoció a mejor pronóstico [27, 29]. La estimulación de TMPRSS2 por los andrógenos, sumada al hecho de que los niveles de ECA-2 pulmonar son mayores en los hombres, sugiere que la entrada del virus en la célula huésped, así como la replicación de este, sean un proceso más sencillo de alcanzar en ellos [15, 27].

En general se acepta que una mayor expresión de ECA-2 está asociada a mayor riesgo de infección, dado que es el punto de entrada predominante del SARS-CoV-2 en la célula huésped [26]. Mientras que en las hembras de ratón la ovariectomía producía un aumento de la expresión de ECA-2 y con ello un incremento del riesgo de infección, en los machos sometidos a castración, la reducción de la testosterona resultó en una disminución del riesgo al bajar los niveles de la enzima [27]. El hecho de que la testosterona aumente potencialmente la susceptibilidad a la infección puede explicar que los hombres tengan una tasa de infección mayor, pero no explica por qué ellos poseen tasas de muerte superiores. Siendo la tormenta de citoquinas la principal causa de muerte en la COVID-19, habría que profundizar en la modulación de la respuesta inmune por parte de los andrógenos para encontrar respuestas a las diferencias sexuales en la infección por SARS-CoV-2 [30].

Los andrógenos modulan la inmunidad innata y la adaptativa, actúan suprimiendo las respuestas inflamatorias al disminuir la actividad de las células mononucleares en sangre periférica y la liberación de citoquinas. Esta inmunosupresión mediada por los andrógenos debería proteger mejor a los hombres de la tormenta de citoquinas que se produce en la COVID-19 grave, pero, al contrario, parece que ellos están más expuestos a esta reacción [26]. Los estudios indican que la testosterona es capaz de suprimir la actividad de IL-6 y de TNF- $\alpha$  (factor de necrosis tumoral alfa) mediante la inhibición NF- $\kappa$ B (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas), que es un complejo proteico esencial para la producción de citoquinas. Además, la expresión de IL-10 y de TGF- $\beta$  (factor de crecimiento transformante beta), están reguladas al alza por la testosterona mejorando la respuesta antiinflamatoria [30].

A medida que avanzaba la pandemia los investigadores se dieron cuenta de que los hombres infectados por SARS-CoV-2 que padecían hipogonadismo presentaban proporciones más altas de neutrófilos y de linfocitos. La disminución del nivel de andrógenos estaba asociada a niveles más altos de citoquinas proinflamatorias, entre las que se encontraban IL-1, IL-2 y TNF- $\alpha$ , además, el hipogonadismo también se asoció a niveles altos de proteína C reactiva. Dado que la neutrofilia está implicada en la tormenta de citoquinas, la segunda hipótesis planteada para explicar la diferencia de comportamiento del virus entre hombres y mujeres fue la de la reducción de la testosterona [30].

Los niveles de ECA-2 testicular son muy superiores a los encontrados en los ovarios, este hecho convierte a estos órganos en un objetivo potencial del SARS-CoV-2 [26]. Si el virus infecta el testículo, la producción de testosterona puede verse afectada, lo que puede generar un hipogonadismo primario en hombres jóvenes o agravar un hipogonadismo preexistente principalmente en ancianos [31]. Los niveles de testosterona van

disminuyendo en los hombres con el envejecimiento, a razón de aproximadamente un 2% anual a partir de los 30 años. La edad por sí sola no disminuye los niveles de testosterona, pero sí lo hacen la obesidad, la diabetes tipo II o el síndrome metabólico; condiciones más frecuentes a medida que envejecemos y que hacen que la prevalencia de hipogonadismo aumente con la edad [30].

La prevalencia de obesidad en los hospitalizados por COVID-19 es alta, aproximadamente del 42%. Índices de masa corporal (IMC) de más de 35kg/m<sup>2</sup> están asociados a alto riesgo de ingreso en UCI y de necesitar ventilación mecánica invasiva. La obesidad y el hipogonadismo están bastante relacionados, de hecho, existe el término "MOSH" que hace referencia a la obesidad masculina asociada a hipogonadismo secundario. Este término hace referencia a una patología compleja que comprende disfunción del tejido adiposo, aumento del nivel de estrógenos, alteración de la GnRH, resistencia a la insulina y apnea obstructiva del sueño. También es sabido que el hipogonadismo masculino, incluso el subclínico, se asocia a niveles de IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$  más altos, lo que favorece el estado proinflamatorio. Además, ECA-2 se expresa también en los adipocitos, de manera que los hombres obesos tienen mayor extensión de tejido adiposo y por tanto de receptores disponibles para el SARS-CoV-2 [31].

Se han realizado una serie de estudios que correlacionan los niveles de testosterona con la gravedad de la COVID-19. En un estudio de cohortes realizado en el hospital de Barnes Jewish en Missouri [32], los hombres con concentraciones de testosterona menores al rango de referencia (<2,5 ng/ml), tenían concentraciones crónicamente elevadas de mediadores inflamatorios. Se encontró también que aquellos que padecían COVID-19 grave tenían concentraciones de testosterona total (TT) entre un 65% y un 85% más bajas que los que cursaron con COVID-19 leve, y, es más, estas diferencias eran independientes de otros factores de riesgo como la edad, el IMC, el tabaquismo, las comorbilidades o la raza. Así mismo, los varones que requirieron ingreso en UCI, ventilación artificial o fallecieron, poseían concentraciones más bajas de testosterona que los que no lo hicieron [32].

Los resultados del estudio anterior [32] concuerdan con un estudio italiano publicado por la revista *Andrology* [33]. En este estudio se realizaron cálculos de los niveles de testosterona total y de testosterona libre calculada (TLC), dando como resultado que los niveles más bajos estaban asociados a peor resultado clínico, a más probabilidad de ingreso en UCI, a síndrome de distrés respiratorio agudo más grave al ingreso en UCI y mayor tasa de fallecimiento. En concreto, los niveles bajos de TT y de TLC estaban asociados a niveles altos de LDH sérica, ferritina y procalcitonina; así como un aumento del número de neutrófilos y a una disminución del número de linfocitos. Además, los niveles de TT y de TLC no estaban relacionados con la edad, lo que enfatiza que es el propio descenso de testosterona el implicado en el peor resultado clínico [33].

En el mismo sentido, en un estudio realizado en el hospital de Leishenshan [34], en Wuhan, se estudiaron también los niveles de LH y prolactina. El resultado fue que los pacientes con COVID-19 presentaban niveles de LH elevados en suero y una relación testosterona/LH sumamente disminuida. La prolactina (PRL) también se elevó de manera significativa en los pacientes y los niveles altos de esta hormona pueden acabar

suprimiendo la secreción de gonadotropinas y afectar a la fertilidad. No obstante, esta elevación puede estar influenciada por factores externos como el estrés. La conclusión a la que llegaron los investigadores del estudio fue que estas variaciones seguramente fueron debidas a una disfunción testicular causada por daños a las células de Leydig en la infección por SARS-CoV-2 [34].

Por otra parte, es interesante resaltar que, viendo el estado proinflamatorio que se produce con la disminución de los niveles de testosterona, en algunos estudios se optó por probar si se podía revertir la situación mediante la terapia con testosterona exógena. El resultado fue positivo, pues los niveles de IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$  disminuían. Estos resultados van en consonancia con el uso de testosterona en varones con EPOC, en los que la testosterona exógena reduce la progresión de la patología y tiene un efector protector sobre el volumen espiratorio forzado y la capacidad vital forzada [30].

Las dos hipótesis planteadas en torno al papel de la testosterona explican en parte el porqué de la mayor mortalidad masculina, pero ninguna de las dos explica en su totalidad esta problemática. Por un lado, es cierto que la testosterona favorece la entrada viral al promover la expresión de TMPRSS2, pero a su vez protege a los varones de alcanzar estados proinflamatorios por su papel inmunosupresor. Por otro lado, los niveles disminuidos de esta hormona favorecen el aumento de las citoquinas proinflamatorias y ello se traduce en un incremento de los ingresos en UCI, del SDRA y de la mortalidad [5, 10, 26, 30, 31, 32, 33]. Aún quedan muchas preguntas sin resolver, como por qué las mujeres, quienes tienen niveles de testosterona mucho más bajos, presentan una mortalidad menor incluso una vez alcanzada la menopausia [30].

Diferentes estudios están buscando en las hormonas sexuales las respuestas a las diferencias encontradas en el comportamiento de este virus en hombres y mujeres. Es por ello, por lo que utilizar la determinación de los andrógenos plasmáticos como marcador pronóstico de la infección por SARS-CoV-2, puede servirnos como llave para desarrollar una línea de tratamiento que tenga en cuenta las particularidades del eje hipotálamo-hipofisis-gónada de cada uno de los sexos.

#### **4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

El papel de las hormonas sexuales en la COVID-19 parece importante a nivel inmunológico y fisiopatológico. En concreto, los andrógenos pueden tener una implicación fundamental en la infección por el SARS-CoV-2 y en la propia evolución de la enfermedad, de manera que la determinación de estos parámetros en plasma podría servir para identificar al grupo poblacional susceptible de padecer COVID-19 grave. A nivel de laboratorio el uso de los andrógenos plasmáticos en estos pacientes podría implementarse como una herramienta más para intentar predecir el pronóstico de la enfermedad.

Dado el conocido impacto de los esteroides sexuales sobre la respuesta inmune, las relaciones descritas entre dichos esteroides y la infección por SARS-CoV-2 y el incremento del riesgo de infección grave y fallecimiento entre los varones que padecen COVID-19 frente a las mujeres; nuestro objetivo es esclarecer si los niveles séricos de los principales esteroides sexuales (testosterona, testosterona libre, estradiol,

androstenediona, DHEA y DHEA-S) determinados en las primeras 24 horas del diagnóstico de infección por SARS-COV2, pueden relacionar con el riesgo de infección grave (definido como el combinado de ingreso en UCI y/o mortalidad). Por tanto, el estudio tiene como finalidad analizar el comportamiento de los niveles séricos de esteroides sexuales en estos pacientes, comprobar si existe relación con los datos clínicos y en concreto con la situación de gravedad.

Los pacientes se dividieron en dos grupos en función de un criterio de gravedad. Se estableció como COVID-19 grave a aquellos pacientes que ingresaron en UCI y/o murieron y como COVID-19 no grave a aquellos que no ingresaron en UCI y/o no fallecieron.

#### **4.1 Objetivos**

- Analizar los niveles séricos de esteroides sexuales en una muestra de pacientes varones con infección por SARS-CoV-2.
- Establecer si existe una asociación entre los esteroides sexuales y el riesgo de infección grave por SARS-CoV-2 (definido como la combinación de ingreso en UCI y/o fallecimiento).
- Analizar la capacidad predictiva de cada uno de los biomarcadores analizados y el riesgo de desarrollar una infección grave por SARS-CoV-2.

## **5. METODOLOGÍA**

### **5.1 Población a estudio**

Partiendo de la base de datos del proyecto de investigación del IDIVAL (Instituto de Investigación Sanitaria Valdecilla) “Análisis de los niveles de andrógenos y metabolitos relacionados en pacientes SARS-CoV-2” (INN-VAL 20/15) dirigido por María Teresa García Unzueta, se han seleccionado 98 pacientes varones con diagnóstico de infección de SARS-CoV-2. El estudio fue aprobado por el CEIm de Cantabria y se trata de un estudio transversal.

Todos los pacientes incluidos en el estudio presentan diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 según RT-cuantitativa-PCR (qRT-PCR) y/o por clínica compatible y resultado positivo mediante prueba serológica de anticuerpos, y fueron ingresados en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV), ya fuera en planta de hospitalización o en unidad de cuidados intensivos. En todos los casos los pacientes han sido informados del objetivo del estudio y han prestado su consentimiento informado, escrito o verbal, para la utilización del excedente de muestra de su proceso asistencial. Una vez obtenido el consentimiento, y antes de 24 horas, se obtuvieron muestras séricas del excedente de las muestras enviadas al laboratorio. Estas se congelaron de manera inmediata a -80°C para el posterior análisis de los parámetros específicos.

Los datos demográficos y clínicos se obtuvieron de la historia clínica de los pacientes. La revisión de cada una de las historias se realizó por dos observadores independientes pertenecientes al grupo de investigación del proyecto, y posteriormente, de existir incoherencias entre ambos observadores, un tercero revisa de nuevo los datos dando fe de la fiabilidad de la revisión y obtención de estos.

## **5.2 Criterios de inclusión en el estudio**

- Diagnóstico confirmado de infección por SARS-CoV-2 mediante RT cuantitativa-PCR (qRT-PCR) y/o por clínica compatible y resultado positivo mediante prueba serológica de anticuerpos.
- Edad mayor de 18 años.
- Sexo masculino.
- Ingreso en HUMV, en planta de hospitalización o en UCI.
- Prestación de consentimiento informado.

## **5.3 Determinaciones analíticas**

Los datos analíticos básicos propios del proceso asistencial se obtuvieron, tanto de la historia clínica del paciente, como del Sistema de Información Corporativa de Laboratorios (LISCAN) bajo supervisión de la dirección del proyecto.

- El hemograma para el análisis de la hemoglobina, el hematocrito y el número de hematíes se realizó empleando el analizador DXL800 de Beckman Coulter® y análisis del dímero D y el fibrinógeno se realizó en la plataforma ACL Top de Werfen®.
- Los datos gasométricos y del metabolismo ácido/base se obtuvieron del análisis en sangre total arterial o venosa mediante tecnología de electrodo selectivo en un ABL 800 (Radiometer).
- Las determinaciones bioquímicas séricas básicas utilizadas en el proceso asistencial (glucosa, creatinina, ALT y LDH) se determinaron mediante análisis espectrofotométrico automatizado estandarizado en un equipo Atellica CH Solution (Siemens® Healthineers, Tarrytown, NY, USA) y la determinación de ferritina, PCR y PCT mediante inmunoanálisis automatizado estandarizado en un equipo Atellica IM Solution (Siemens® Healthineers, Tarrytown, NY, USA), usando los reactivos suministrados por Siemens y siguiendo estrictamente las instrucciones suministradas por el fabricante en ficha técnica.
- Las determinaciones más específicas del ensayo son las de los niveles de esteroides sexuales séricos (testosterona, testosterona libre, estradiol, DHEA-S y SHBG), que se analizaron mediante inmunoquimioluminiscencia específica automatizada (CLIA) en un Maglumi 2000 (Snibe, Shanghai Int Holding Corp, Hamburg, Germany).
- DHEA y androstenediona se analizaron mediante Radioinmunoensayo específico (RIA) de DRG® (DRG Instruments GmbH, Germany). Siendo el inmunoensayo una técnica basada en la reacción específica antígeno-anticuerpo dotada de alta sensibilidad y especificidad.

En cada ensayo se incluyeron pacientes de ambos grupos de estudio (COVID-19 grave y no grave) para para minimizar las variaciones intra e inter ensayo que pudieran inferir en los resultados y conclusiones obtenidas en el estudio.

#### **5.4 Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó utilizando IBM SPSS Statistics 26.

Para saber si las variables con las que trabajábamos presentaban o no una distribución normal, realizamos el test de Kolmogorov-Smirnov. Los resultados obtenidos se expresaron mediante media  $\pm$  desviación estándar, en las variables que presentaban una distribución normal, y mediana (rango intercuartílico), en las que no presentaban dicha distribución. Una  $p < 0,05$  se consideró estadísticamente significativa.

Para comparar los dos grupos de pacientes utilizamos la T-Student para datos independientes, cuando las variables presentaban una distribución normal, y la U de Mann-Whitney, cuando la distribución no era normal. Las correlaciones se realizaron mediante la  $r$  de Pearson o la  $Rho$  de Spearman en función de la distribución de la variable.

Se empleó el análisis de regresión logística multivariante para calcular la fuerza de las asociaciones. Los niveles de testosterona, testosterona libre, androstenediona, DHEA, DHEA-S y estradiol se categorizaron de forma dicotómica (valores altos frente a bajos, excepto para el estradiol, en el que los valores bajos fueron la referencia) según la mediana y se calcularon las odds ratio (OR) con intervalos de confianza del 95% (IC 95%) ajustados por la edad, la presencia de obesidad, el hábito tabáquico, la presencia de enfermedad renal y el diagnóstico de diabetes; para el riesgo de infección grave (ingreso en UCI y/o muerte).

Además, cuando se identificó una asociación significativa, se estimaron las tendencias de exposición-respuesta (gradiente biológico, patrón dosis-respuesta) mediante un modelo de regresión logística con todos los posibles factores de confusión y la categorización ordinal de las variables según tertiles.

Por último, para determinar y comparar la capacidad predictiva de cada variable sobre el riesgo de infección grave por SARS-CoV-2, se determinaron las curvas receiver operating characteristic (ROC) y el área bajo la curva (AUC).

## 6. RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran los datos demográficos y las características clínicas de los pacientes incluidos en el proyecto. 98 varones ingresados en el HUMV conforman la población del estudio, fueron divididos en dos grupos según un criterio de gravedad, de manera que aquellos pacientes que ingresaron en UCI y/o fallecieron conformaron el grupo de “COVID-19 grave” (n=54) y el resto se incluyó en el grupo de “COVID-19 no grave” (n=44).

Los pacientes tenían una media de edad de 63,65±15,53 años, el 38,8% presentaba obesidad, el 7,4% eran fumadores, el 51,5% padecía hipertensión arterial, el 15,6% presentaba diabetes, el 50,5% presentaba dislipemia, el 7,1% padecía una enfermedad cardiovascular y el 2,5% presentaba inmunosupresión; sin existir diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos estudiados.

**Tabla 1: Características basales de la población del estudio.**

Variable		Población total n=98	COVID-19 no grave n=44	COVID-19 grave n=54	p
Edad (años)		63,65±15,53	61,66±16,20	65,28±14,91	0,253
Obesidad	No	60 (61,2%)	31 (70,5%)	28 (52,8%)	0,096
	Sí	38 (38,8%)	13 (29,5%)	25 (47,2%)	
Fumador	No	88 (92,6%)	38 (90,5%)	50 (94,3%)	0,696
	Sí	7 (7,4%)	4 (9,5%)	3 (5,7%)	
HTA	No	47 (48,5)	23 (52,3%)	23 (45,3%)	0,544
	Sí	50 (51,5%)	21 (47,7%)	29 (54,7%)	
Diabetes	No	76 (84,4%)	37 (86,0%)	39 (83,0%)	0,776
	Sí	14 (15,6%)	6 (14,0%)	8 (17,0%)	
Dislipemia	No	45 (49,5%)	22 (53,7%)	23 (46,0%)	0,530
	Sí	46 (50,5%)	19 (46,3%)	27 (54,0%)	
Enfermedad cardiovascular	No	91 (92,9%)	41 (93,2%)	50 (92,6%)	1,000
	Sí	7 (7,1%)	3 (6,8%)	4 (7,4%)	
Inmunosupresión	No	78 (97,5%)	37 (94,9%)	41 (100%)	0,234
	Sí	2 (2,5%)	2 (5,1%)	0 (0%)	

\*Dentro de la variable fumador solo diferenciamos entre fumadores en activo y no fumadores, donde incluimos tanto a los exfumadores como a aquellos que no habían fumado nunca. Definimos como inmunosupresión a aquellos pacientes de nuestra muestra que habían sido trasplantados o tenían VIH con abandono del tratamiento antirretroviral.

Respecto a la sintomatología más frecuente en la COVID-19 (tabla 2), en nuestra muestra solo encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en la neumonía y la disnea. En el grupo de pacientes graves el 94,4% presentaron neumonía frente al 79,5% del grupo con enfermedad más leve ( $p=0,032$ ). En el caso de la disnea, un 70,4% de los pacientes graves la padecieron, frente al 22,7% de los pacientes no graves ( $p<0,001$ ). No se encontraron diferencias estadísticamente relevantes entre ambos grupos con relación al resto de los síntomas característicos de la enfermedad.

**Tabla 2: Sintomatología más frecuente de la COVID-19 en la población del estudio.**

Variable		Población total n=98	COVID-19 no grave n=44	COVID-19 grave n=54	p
Fiebre	No	35 (35,7%)	15 (34,1%)	20 (37,0%)	0,834
	Sí	63 (64,3%)	29 (65,9%)	34 (63,0%)	
Neumonía	No	12 (12,2%)	9 (20,5%)	3 (5,6%)	<b>0,032</b>
	Sí	86 (87,8%)	35 (79,5%)	51 (94,4%)	
Dolor costado al respirar	No	85 (86,7%)	38 (86,4%)	47 (87,0%)	1,000
	Sí	13 (13,3%)	6 (13,6%)	7 (13,0%)	
Dolor costado al toser	No	92 (93,9%)	40 (90,9%)	52 (96,3%)	0,404
	Sí	6 (6,1%)	4 (9,1%)	2 (3,7%)	
Astenia	No	56 (57,1%)	21 (47,7%)	35 (64,8%)	0,104
	Sí	42 (42,9%)	23 (52,3%)	19 (35,2%)	
Rinorrea	No	93 (94,9%)	40 (90,9%)	53 (98,1%)	0,171
	Sí	5 (5,1%)	4 (9,1%)	1 (1,9%)	
Tos seca	No	34 (34,7%)	13 (29,5%)	21 (38,9%)	0,396
	Sí	64 (65,3%)	31 (70,5%)	33 (61,1%)	
Mialgias	No	83 (84,7%)	34 (77,3%)	49 (90,7%)	0,091
	Sí	15 (15,3%)	10 (22,7%)	5 (9,3%)	
Cefalea	No	72 (73,5%)	29 (65,9%)	43 (79,6%)	0,168
	Sí	26 (26,5%)	15 (34,1%)	11 (20,4%)	
Disnea	No	50 (51,0%)	34 (77,3%)	16 (29,6%)	<b>&lt;0,001</b>
	Sí	48 (49,0%)	10 (22,7%)	38 (70,4%)	
Anosmia	No	88 (89,8%)	39 (88,6%)	49 (90,7%)	0,750
	Sí	10 (10,2%)	5 (11,4%)	5 (9,3%)	
Ageusia	No	83 (84,7%)	37 (84,1%)	46 (85,2%)	1,000
	Sí	15 (15,3%)	7 (15,9%)	8 (14,8%)	

Odinofagia	No	87 (88,8%)	41 (93,2%)	46 (85,2%)	0,336
	Sí	11 (11,2%)	3 (6,8%)	8 (14,8%)	
Vómitos	No	93 (94,9%)	42 (95,5%)	51 (94,4%)	1,000
	Sí	6 (5,1%)	2 (4,5%)	3 (5,6%)	
Dolor abdominal	No	90 (92,8%)	39 (88,6%)	51 (96,2%)	0,239
	Sí	7 (7,2%)	5 (11,4%)	2 (3,8%)	
Diarrea	No	82 (83,7%)	35 (79,5%)	47 (87,0%)	0,412
	Sí	16 (16,3%)	9 (20,5%)	7 (13,0%)	
Rash	No	97 (99%)	44 (100%)	53 (98,1%)	1,000
	Sí	1 (1%)	0 (0%)	1 (1,9%)	

En la tabla 3 se muestran los resultados de los parámetros bioquímicos más relevantes en la población del estudio. Comparando la bioquímica basal de los pacientes con COVID-19 grave y no grave encontramos diferencias estadísticamente significativas en varias variables.

Destacan niveles más elevados de glucemia en el grupo grave con una mediana (rango intercuartílico) de 137,00 (87,50) frente a 103,50 (20,00) mg/dl en el grupo de COVID-19 leve ( $p<0,001$ ); y niveles más elevados de LDH en el grupo grave con una mediana (RIQ) de 360 (193) frente a 290 (115) U/l en el no grave ( $p=0,002$ ).

Encontramos, también en el grupo grave, una peor SatO<sub>2</sub> con una mediana (RIQ) de 89,00 (5,00) frente a 94,50 (4,00) % en el grupo leve ( $p<0,001$ ); y una peor PaFi con una mediana (RIQ) de 134 (71) frente a 318 (120) en los no graves ( $p<0,001$ ).

**Tabla 3: Bioquímica basal en la población del estudio.**

Variable	Población total n=98	COVID-19 no grave n=44	COVID-19 grave n=54	p
Creatinina (mg/dl)	1,00±0,42 0,91 (0,34)	0,91±0,27 0,90 (0,29)	1,08±0,50 0,94 (0,44)	0,113
Filtrado glomerular (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	77,07±18,27 88,00 (24,30)	81,52±14,08 90,00 (9,00)	73,44±20,50 84,50 (33,50)	0,066
Glucosa (mg/dl)	141,00±57,77 117,00 (63,75)	121,89±46,11 103,50 (20,00)	156,57±61,90 137,00 (87,50)	<b>&lt;0,001</b>
ALT (U/l)	47,67±34,44 41,00 (31,00)	43,34±26,24 39,00 (28,50)	51,26±39,89 42,00 (33,00)	0,365
LDH (U/l)	343±129 321 (137)	303±112 290 (115)	379±134 360 (193)	<b>0,002</b>

SatO <sub>2</sub> (%)	94,21±5,30 95,00 (3,00)	95,41±2,70 96,00 (4,00)	93,24±6,57 95,00 (3,25)	0,104
Peor SatO <sub>2</sub> (%)	90,27±5,64 91,00 (6,00)	93,61±3,47 94,50 (4,00)	87,55±5,61 89,00 (5,00)	<0,001
PaFi	306±118	384±92	242±97	<0,001
Peor PaFi	222±125 180 (186)	335±93 318 (120)	130±50 134 (71)	<0,001

\*ALT (GPT): Alanina aminotransferasa. LDH: Lactato deshidrogenasa. PaFi: PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>.

En la tabla 4 se muestran los datos bioquímicos más relevantes de los parámetros inflamatorios utilizados en el seguimiento clínico de estos pacientes. Encontramos niveles más elevados de leucocitos con una mediana (RIQ) de 8,10 (5,03) en los pacientes graves frente a 6,40 (2,98) x10<sup>3</sup>/μl en los leves (p=0,011); de la PCR con una mediana (RIQ) 10,70 (13,75) frente a 7,40 (8,50) mg/dl (p=0,048); de la procalcitonina con una mediana (RIQ) de 0,20 (0,32) frente a 0,10 (0,08) ng/ml (p=0,007) y de la ferritina con una mediana (RIQ) de 1330 (1102) frente a 648 (741) ng/ml (p=0,005).

Los linfocitos por su parte presentan niveles más bajos en los pacientes graves, con una mediana (RIQ) de 0,60 (0,80) frente a 1,00 (0,60) x10<sup>3</sup>/μl en los pacientes con enfermedad leve (p<0,001).

**Tabla 4: Parámetros inflamatorios en la población del estudio.**

Variable	Población total n=98	COVID-19 no grave n=44	COVID-19 grave n=54	p
Leucocitos (x10 <sup>3</sup> /μl)	7,81±3,59 7,05 (3,77)	6,77±2,79 6,40 (2,98)	8,65±3,95 8,10 (5,03)	<b>0,011</b>
Linfocitos (x10 <sup>3</sup> /μl)	1,00±0,68 0,90 (0,75)	1,17±0,55 1,00 (0,60)	0,86±0,76 0,60 (0,80)	<b>&lt;0,001</b>
Fibrinógeno (mg/dl)	763±207	785±192	746±218	0,368
Dímero D (ng/ml)	1818±5743 610 (712)	2244±8154 610 (566)	1443±1988 611 (1067)	0,750
PCR (mg/dl)	9,75±7,11 9,20 (11,05)	8,04±6,02 7,40 (8,50)	11,14±7,67 10,70 (13,75)	<b>0,048</b>
Procalcitonina (ng/ml)	0,87±3,02 0,16 (0,30)	0,36±0,93 0,10 (0,08)	1,04±3,46 0,20 (0,32)	<b>0,007</b>
Ferritina (ng/ml)	1007±733 904 (1014)	795±571 648 (741)	1218±818 1330 (1102)	<b>0,005</b>
Lactato (mmol/l)	1,50±0,85 1,40 (0,50)	1,50±0,57 1,50 (-)	1,50±0,87 1,40 (0,50)	0,819

En la tabla 5 se muestran los niveles séricos de las hormonas sexuales en las primeras 24 horas de la infección por SARS-CoV-2. Identificamos niveles más bajos de los diferentes andrógenos analizados y más altos de estrógenos entre los pacientes con infección grave respecto a los pacientes con infección no grave.

En la testosterona pasamos de una mediana (RIQ) de 1,47 (1,24) en los leves a 0,82 (0,94) ng/ml en los graves ( $p < 0,001$ ). En la testosterona libre de una mediana (RIQ) de 4,85 (4,82) a 3,75 (3,31) pg/ml ( $p = 0,005$ ). En la DHEA-S de una mediana (RIQ) de 110,05 (102,05) a 68,87 (91,71) microg/dl ( $p = 0,009$ ); y, finalmente en la DHEA, de una mediana (RIQ) de 2,30 (1,5) a 1,26 (1,3) ng/ml ( $p < 0,001$ ).

En contraposición, encontramos un aumento de los niveles de estradiol en los pacientes graves, con una mediana (RIQ) de 46,15 (51,77) en estos, frente a 31,30 (22,74) pg/ml en los leves ( $p = 0,001$ ).

Al analizar el ratio testosterona total/estradiol observamos niveles más bajos en los pacientes con formas graves de la enfermedad, encontrando una mediana (RIQ) de 0,16 (0,35) en estos, frente a 0,48 (0,65) ng/pg en el grupo contrario ( $p < 0,001$ ).

**Tabla 5: Hormonas sexuales en la población del estudio.**

Variable	Población total n=98	COVID-19 no grave n=44	COVID-19 grave n=54	p
Testosterona total (ng/ml)	1,47±1,23 1,20 (1,37)	1,91±1,43 1,47 (1,24)	1,11±0,89 0,82 (0,94)	<b>&lt;0,001</b>
Testosterona libre (pg/ml)	5,38±4,60 4,31 (3,95)	6,84±5,80 4,85 (4,82)	4,18±2,78 3,75 (3,31)	<b>0,005</b>
DHEA-S (microg/dl)	110,80±88,91 92,97 (108,30)	134,28±98,261 110,05 (102,05)	91,72±76,20 68,87 (91,71)	<b>0,009</b>
Estradiol (pg/ml)	50,77±47,40 37,34 (22,60)	33,78±13,78 31,30 (22,74)	64,61±59,35 46,15 (51,77)	<b>0,001</b>
SHBG (nmol/l)	37,23±20,80 34,84 (26,76)	39,03±18,90 35,38 (23,16)	35,72±22,34 30,62 (29,67)	0,192
DHEA (ng/ml)	2,27±2,10 1,65 (1,7)	2,96±2,64 2,30 (1,5)	1,69±1,26 1,26 (1,3)	<b>&lt;0,001</b>
Androstendiona (ng/ml)	1,91±1,36 1,45 (1,8)	2,01±1,14 1,75 (1,5)	1,82±1,52 1,40 (1,8)	0,143
Ratio TT /estradiol (ng/pg)	0,47±0,59 0,29 (0,51)	0,70±0,75 0,48 (0,65)	0,28±0,31 0,16 (0,35)	<b>&lt;0,001</b>

\*DHEA-S: Dehidroepiandrosterona sulfato. SHBG: Globulina fijadora de hormonas sexuales. DHEA: Dehidroepiandrosterona. TT: Testosterona total.

Para establecer el grado de asociación entre los biomarcadores analizados y el riesgo de infección grave, decidimos categorizar los esteroides sexuales en función de la mediana y calcular las OR con su intervalo de confianza al 95%, siendo el valor superior la referencia, excepto para el estradiol en el que el inferior fue la referencia (tabla 6).

Los pacientes con los niveles de andrógenos por debajo de la mediana presentaron mayor riesgo de COVID-19 grave, siendo esta asociación significativa en el caso de la testosterona OR cruda=4,77 e IC 95% (2,02-11,27), la DHEA-S OR cruda=2,31 e IC 95% (1,02-5,22), la DHEA OR cruda=4,33 e IC 95% (1,80-10,42) y el ratio testosterona total/estradiol OR cruda=5,80 e IC 95% (2,41-13,96).

En el caso del estradiol el comportamiento fue el contrario, con un mayor riesgo entre los pacientes con los niveles más elevados de esta hormona, OR cruda=3,29 e IC 95% (1,43-7,56); aunque esta última asociación perdía la significación tras ajustar por las principales variables confusoras.

**Tabla 6: Odds ratio cruda y ajustada, con sus IC al 95%, en relación con las variables a estudio categorizadas en función de la mediana y el riesgo de COVID-19 grave.**

Variable	Puntos de corte	COVID-19		OR cruda	(IC 95%)	OR ajustada	(IC 95%)
		NO GRAVE n=44	GRAVE n=54				
<b>Testosterona total (ng/ml)</b>							
Alto (referencia)	1,196+	31	18	1,00	-	1,00	-
Bajo	<= 1,195	13	36	4,77	2,02-11,27	9,67	2,74-34,08
<b>Testosterona libre (pg/ml)</b>							
Alto (referencia)	4,315+	26	22	1,00	-	1,00	-
Bajo	<=4,314	18	31	2,04	0,90-4,59	2,19	0,79-6,09
<b>DHEA-S (microg/dl)</b>							
Alto (referencia)	92,971+	27	22	1,00	-	1,00	-
Bajo	<=92,970	17	32	2,31	1,02-5,22	2,76	0,99-7,67
<b>Estradiol (pg/ml)</b>							
Bajo (referencia)	<=37,340	29	20	1,00	-	1,00	-
Alto	37,341+	15	34	3,29	1,43-7,56	2,33	0,89-6,10
<b>SHBG (nmol/l)</b>							
Alto (referencia)	34,85+	23	25	1,00	-	1,00	-
Bajo	<= 34,84	21	28	1,23	0,55-2,73	1,25	0,42-3,69
<b>DHEA (ng/ml)</b>							
Alto (referencia)	1,8+	29	17	1,00	-	1,00	-
Bajo	<= 1,7	13	33	4,33	1,80-10,42	5,46	1,74-17,20
<b>Androstendiona (ng/ml)</b>							
Alto (referencia)	1,6+	24	22	1,00	-	1,00	-
Bajo	<= 1,5	18	28	1,70	0,74-3,88	2,36	0,84-6,65

<b>Ratio TT / Estradiol (ng/pg)</b>							
Alto (referencia)	0,30+	32	17	1,00	-	1,00	-
Bajo	<= 0,29	12	37	5,80	2,41-13,96	6,58	2,18-19,87

\*OR ajustada por edad, presencia de obesidad, hábito tabáquico, enfermedad renal y diagnóstico de diabetes. DHEA-S: Dehidroepiandrosterona sulfato. SHBG: Globulina fijadora de hormonas sexuales. DHEA: Dehidroepiandrosterona. TT: Testosterona total.

Para analizar si existe un patrón dosis-respuesta categorizamos los esteroides sexuales en tertiles, siendo el tercil superior (T3) la referencia, excepto para el estradiol en el que el tercil inferior (T1) fue la referencia. Llegando a la conclusión de que a menor nivel de andrógenos y mayor de estrógenos había un mayor riesgo de padecer COVID-19 grave (tabla 7).

**Tabla 7: Odds ratio cruda y ajustada, con sus IC al 95%, en relación con las variables a estudio categorizadas en función de tertiles y el riesgo de COVID-19 grave.**

Variable	Puntos de corte	COVID-19		OR cruda	(IC 95%)	OR ajustada	(IC 95%)
		NO GRAVE n=44	GRAVE n=54				
<b>Testosterona total (ng/ml) (Tertiles)</b>							
Alto (referencia)	1,603+	21	11	1,00	-	1,00	-
Medio	0,782 - 1,602	16	17	2,03	0,75 – 5,51	2,41	0,74 – 7,78
Bajo	<= 0,781	7	26	7,09	2,34 - 21,48	6,62	1,68 - 26,05
<b>Tendencia lineal p</b>				<b>0,001</b>		<b>0,007</b>	
<b>Testosterona libre (pg/ml) (Tertiles)</b>							
Alto (referencia)	5,327+	19	13	1,00	-	1,00	-
Medio	3,081 - 5,326	16	16	1,46	0,54 – 3,93	1,92	0,61 – 6,04
Bajo	<= 3,080	9	24	3,90	1,38 – 11,04	3,85	1,05 – 14,15
<b>Tendencia lineal p</b>				<b>0,011</b>		<b>0,042</b>	
<b>DHEAs (microg/ml) (Tertiles)</b>							
Alto (referencia)	124,90+	19	13	1,00	-	1,00	-
Medio	56,37- 124,90	16	17	1,55	0,58 – 4,15	1,14	0,31 – 4,16
Bajo	<= 56,37	9	24	3,90	1,38 – 11,04	5,59	1,32 – 23,71
<b>Tendencia lineal p</b>				<b>0,011</b>		<b>0,014</b>	
<b>Estradiol (pg/ml) (Tertiles)</b>							
Bajo (referencia)	<= 29,860	20	13	1,00	-	1,00	-
Medio	29,861 - 47,660	16	17	1,64	0,62 – 4,34	1,42	0,45 – 4,54
Alto	47,661	8	24	4,62	1,60 – 13,35	3,25	0,93 – 11,34
<b>Tendencia lineal p</b>				<b>0,005</b>		<b>0,065</b>	

<b>SHBG (nmol/l)</b>							
<b>(tertiles)</b>							
Alto (referencia)	42,68+	16	16	1,00	-	1,00	-
Medio	24,74 - 42,67	19	13	0,68	0,26 – 1,84	0,68	0,20 – 2,29
Bajo	<= 24,73	9	24	2,67	0,95 – 7,49	3,12	0,75 – 12,88
<b>Tendencia lineal p</b>				0,066		0,113	
<b>DHEA (ng/ml)</b>							
<b>(tertiles)</b>							
Alto (referencia)	2,5+	18	10	1,00	-	1,00	-
Medio	1,2 - 2,4	17	16	1,69	0,60 – 4,75	1,39	0,41 – 4,74
Bajo	<= 1,1	7	24	6,17	1,97 – 19,35	7,23	1,70 – 30,80
<b>Tendencia lineal p</b>				<b>0,002</b>		<b>0,007</b>	
<b>Androstendiona</b>							
<b>(ng/ml) (tertiles)</b>							
Alto (referencia)	2,5+	14	14	1,00	-	1,00	-
Medio	1,2 - 2,4	18	14	0,78	0,28 – 2,15	1,19	0,32 – 4,40
Bajo	<= 1,1	10	22	2,20	0,77 – 6,30	3,37	0,89 – 12,78
<b>Tendencia lineal p</b>				0,133		0,064	
<b>Ratio TT/Estradiol</b>							
<b>(ng/pg)</b>							
Alto (referencia)	0,46+	23	9	1,00	-	1,00	-
Medio	0,17 – 0,45	17	17	2,56	0,92 – 7,11	2,80	0,82 – 9,55
Bajo	<= 0,16	4	28	17,89	4,87 – 65,68	28,82	4,47 - 166,97
<b>Tendencia lineal p</b>				<b>&lt; 0,001</b>		<b>&lt; 0,001</b>	

\*OR ajustada por edad, presencia de obesidad, hábito tabáquico, enfermedad renal y diagnóstico de diabetes. DHEA-S: Dehidroepiandrosterona sulfato. SHBG: Globulina fijadora de hormonas sexuales. DHEA: Dehidroepiandrosterona. TT: Testosterona total.

El cálculo de las curvas ROC (figuras 5, 6 y 7) reveló que, de entre todos los parámetros analizados, el ratio testosterona total/estradiol mostró la mayor capacidad predictora de COVID-19 grave AUC 0,77 ( $p < 0,001$ ), seguido de la DHEA AUC 0,75 ( $p < 0,001$ ), la testosterona total AUC 0,72 ( $p < 0,001$ ) y el estradiol AUC 0,70 ( $p = 0,001$ ); (tabla 8).

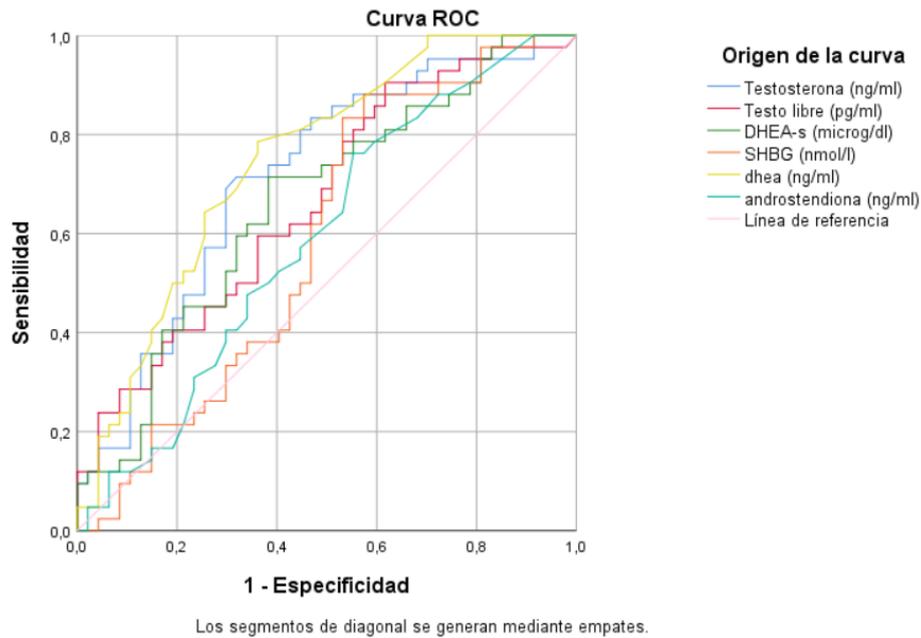


Figura 5. Curva ROC representativa de la sensibilidad frente al inverso de la especificidad de los andrógenos sexuales en función de un criterio de gravedad (ingreso en UCI y/o muerte).

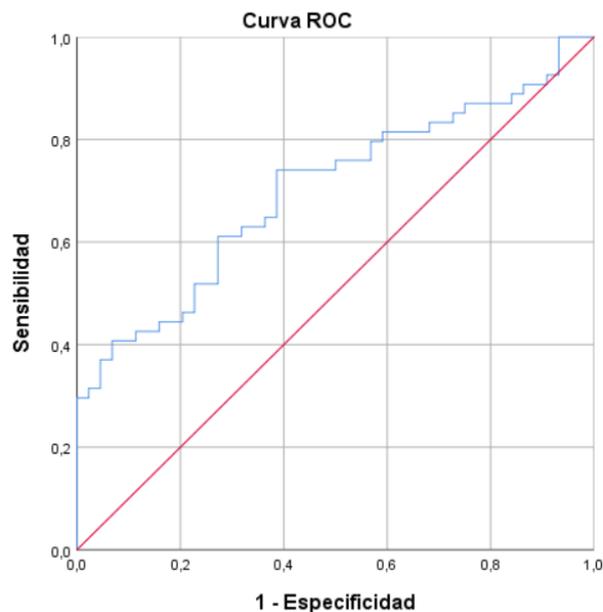


Figura 6. Curva ROC representativa de la sensibilidad frente al inverso de la especificidad del estradiol en función de un criterio de gravedad (ingreso en UCI y/o muerte).

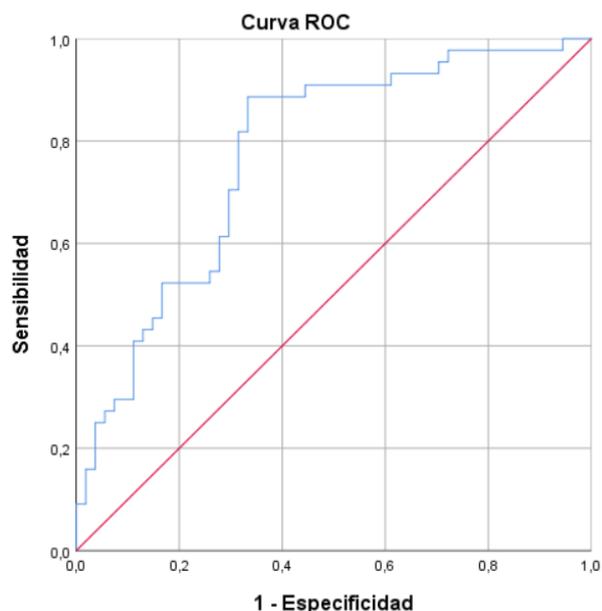


Figura 7. Curva ROC representativa de la sensibilidad frente al inverso de la especificidad del ratio testosterona total/estradiol en función de un criterio de gravedad (ingreso en UCI y/o muerte).

Tabla 8: Área bajo la curva (AUC) de los andrógenos sexuales, el estradiol y el ratio testosterona total/estradiol; en función de un criterio de gravedad (ingreso en UCI y/o muerte).

Variable	AUC	Error estándar	p	IC 95%
Testosterona total (ng/ml)	0,72	0,055	<0,001	0,61-0,82
Testosterona libre (pg/ml)	0,67	0,057	0,007	0,56-0,78
DHEA-S (microg/dl)	0,66	0,058	0,009	0,55-0,78
SHBG (nmol/l)	0,59	0,061	0,160	0,47-0,71
DHEA (ng/ml)	0,75	0,052	<0,001	0,65-0,85
Androstendiona (ng/ml)	0,59	0,060	0,142	0,47-0,71
Estradiol (pg/ml)	0,70	0,052	0,001	0,60-0,80
Ratio TT/estradiol (ng/pg)	0,77	0,048	<0,001	0,68-0,87

\*DHEA-S: Dehidroepiandrosterona sulfato. SHBG: Globulina fijadora de hormonas sexuales. DHEA: Dehidroepiandrosterona. TT: Testosterona total.

## 7. DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro estudio muestran que los pacientes con COVID-19 grave presentan niveles más bajos de andrógenos y más elevados de estradiol que los pacientes con COVID-19 no grave. Los niveles de testosterona total, DHEA y el ratio testosterona total/estradiol se asociaron de forma significativa con un mayor riesgo de presentar una infección grave. De entre todos los biomarcadores analizados, el ratio testosterona total/estradiol fue el que presentó una mayor capacidad predictiva para identificar los pacientes con infección grave según la definición de nuestro estudio.

### 7.1 Hallazgos hormonales

Nuestros resultados muestran niveles más bajos de andrógenos en los pacientes que presentaron COVID-19 grave frente a los que tuvieron un curso leve de la enfermedad. En la testosterona encontramos una mediana (RIQ) de 0,82 (0,94) en los graves frente a 1,47 (1,24) ng/ml en los leves ( $p < 0,001$ ) y en la testosterona libre 3,75 (3,31) en los graves frente a 4,85 (4,82) pg/ml en los leves ( $p = 0,005$ ).

Para comprobar si nuestros resultados estaban influenciados por condiciones preexistentes de los pacientes, decidimos categorizar los esteroides sexuales en tertiles y ajustar las odds ratio por la edad, la presencia de obesidad, el hábito tabáquico, la presencia de enfermedad renal y el diagnóstico de diabetes. Realizadas las odds ratio encontramos que la presencia de unos niveles bajos de testosterona se asoció con un mayor riesgo de presentar una infección grave OR=7,09 IC95% (2,34-21,48) ( $p = 0,001$ ), así como los niveles bajos de testosterona libre OR=3,90 IC95% (1,38-11,04) ( $p = 0,011$ ); manteniendo ambas la significación tras ajustar el análisis por las variables indicadas.

En un estudio previo de Dhindsa et al. [32], las medianas (RIQ) de testosterona de los pacientes graves fueron un 64,9% más bajas al ingreso que las de aquellos que cursaron con COVID-19 leve: 0,53 (0,18-1,14) en los graves frente a 1,51 (0,95-2,17) ng/ml en los leves ( $p = 0,008$ ). En un estudio italiano, además de medir la testosterona total (TT), hicieron cálculos para la testosterona libre (TLc). Los resultados de su estudio fueron que los descensos de TT y TLc estaban asociados a aumentos de los niveles de LDH, ferritina y procalcitonina, así como a un descenso de los linfocitos; y, por tanto, estaban asociados a peor pronóstico de la enfermedad [33]. Comparando nuestro estudio con los anteriores vemos que las conclusiones son similares, los descensos de testosterona y testosterona libre están asociados a peor pronóstico, así como el aumento de la LDH, la ferritina, la procalcitonina y la linfopenia (entre otros). No obstante, a diferencia de los estudios anteriormente descritos, en nuestro estudio la determinación de testosterona libre se hizo de forma directa, lo que confiere mayor fortaleza a nuestros hallazgos, y además nuestra muestra de varones es mayor.

Está demostrado que un estrés agudo, como podría ser una infección grave por SARS-CoV-2, puede causar una supresión aguda del eje hipotálamo-hipófisis-gónada [32]. No podemos olvidar tampoco que, la expresión de ECA-2 testicular, hace que estos órganos sean también afectados por el SARS-CoV-2, por lo que el daño directo del virus también puede influir en la disminución de los niveles de testosterona [21]. Dado que los andrógenos tienen un papel modulador en la inmunidad innata y adaptativa, y son capaces de suprimir la respuesta inflamatoria mediada por la liberación de citoquinas,

podemos concluir que una disminución de los niveles de testosterona podría facilitar el desarrollo de SRDA, el ingreso en UCI y finalmente el fallecimiento [26, 30, 31, 32, 33].

En nuestro estudio, niveles bajos de la DHEA-S y la DHEA se asociaron a mal pronóstico de la COVID-19. En la DHEA-S encontramos una mediana (RIQ) de 68,87 (91,71) en los pacientes graves frente a 110,05 (102,05) microg/dl en los leves ( $p=0,009$ ); y a su vez en la DHEA una mediana (RIQ) de 1,26 (1,3) en los graves frente a 2,30 (1,5) ng/ml en los que no lo estaban ( $p<0,001$ ). En el análisis dosis-respuesta evidenciamos un claro incremento del riesgo de infección grave en los pacientes en el tercil inferior respecto a los pacientes del tercil superior DHEA-S OR=3,90 IC95% (1,38-11,04) ( $p=0,011$ ) y DHEA OR=6,17 IC95% (1,97-19,35) ( $p=0,002$ ); diferencias que se mantuvieron tras el ajuste por las variables predefinidas.

En un estudio previo de Tomo et al. [46] se analizaron los niveles de DHEA-S en los pacientes con COVID-19, así como la relación DHEA-S/cortisol, y encontraron que ambos disminuían significativamente en los pacientes infectados por el SARS-CoV-2 en comparación con controles. Sin embargo, en ese estudio [46] no tuvieron en cuenta que la secreción pulsátil de cortisol y de ACTH se mantienen en la enfermedad crítica, por lo que el momento del muestreo interfiere en los resultados. Además, su población de estudio estaba formada por mujeres y hombres, y los niveles de DHEA-S solo se modificaban en estos últimos; por lo que sus resultados hay que interpretarlos con cautela.

La ACTH estimula la zona reticular de la corteza suprarrenal para producir DHEA y, a partir de la 17- $\alpha$ -hidroxipregnenolona, se sulfata y forma DHEA-S en las glándulas suprarrenales y los tejidos periféricos. La DHEA-S es una hormona que se opone a los efectos del cortisol, ejerciendo una actividad antiglucocorticoide, además de tener un papel relevante en la modulación del sistema inmune, pues su disminución agrava los estados proinflamatorios dificultando la capacidad del huésped para defenderse de los patógenos. De hecho, en los pacientes con shock séptico los niveles de DHEA-S son muy bajos, por lo que los niveles de esta se consideran un predictor de mortalidad a largo plazo. En el SDRA que se produce en la neumonía por SARS-CoV-2, la IL-6 está especialmente elevada. Actualmente sabemos que la DHEA ejerce un efecto inhibitorio sobre la secreción de IL-6, por lo que su disminución facilita el estado proinflamatorio en la infección. En modelos animales la suplementación con DHEA ha mostrado efectos beneficiosos en el tratamiento de la sepsis, por lo que la utilización de DHEA como terapia adyuvante en la COVID-19 podría resultar interesante [46].

La testosterona circulante se une principalmente a SHBG y a albúmina, por lo que las concentraciones de testosterona y SHBG están relacionadas. [47] En nuestro estudio, la SHBG presentaba niveles más bajos en los pacientes graves, pero no llegamos a encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos comparados. En un metaanálisis previo [48] encontraron que los niveles bajos de SHBG parecían correlacionarse con un peor pronóstico de la infección. No obstante, dado que los niveles de SHBG están inversamente relacionados con la obesidad y la resistencia a la insulina [48], habría que comprobar si es la obesidad la culpable del peor pronóstico, o en efecto, la disminución de los niveles plasmáticos de SHBG podría ser un predictor de la gravedad de la COVID-19.

La androstendiona es una hormona producida en las gónadas masculinas y femeninas, así como en las glándulas suprarrenales, es conocida por su papel clave en la producción de estrógeno y testosterona. La androstendiona en sangre puede convertirse en testosterona y luego en estradiol o en 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona (DHT) en los tejidos periféricos, pero también puede convertirse en estrona y luego en estradiol sin formación de testosterona [49]. En nuestro estudio los niveles de androstendiona no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes graves y los leves.

Los niveles de estradiol de nuestros pacientes también fueron estudiados, encontrándose el estradiol en niveles más altos en los enfermos graves con una mediana (RIQ) de 46,15 (51,77) frente a 31,30 (22,74) pg/ml en los leves ( $p=0,001$ ). De hecho, la media de estradiol en los pacientes graves de nuestro estudio fue de  $64,61\pm 59,35$  frente a  $33,78\pm 13,78$  pg/ml en los pacientes con enfermedad más leve; es decir, prácticamente se duplicaban los niveles. En el análisis dosis-respuesta encontramos una OR=4,62 IC95% (1,60-13,25) ( $p=0,005$ ); no obstante, al ajustar por las variables predefinidas, el estradiol quedó al límite de la significación.

En un estudio de Dhindsa et al. [32], las concentraciones de estradiol no alcanzaron tampoco significación al comparar a los pacientes con enfermedad leve con los admitidos en UCI, con los que requirieron ventilación mecánica y con los que fallecieron. De hecho, en dicho estudio, postularon que podría existir una regulación positiva de la aromatasa por parte de las citoquinas inflamatorias existentes en la infección por SARS-CoV-2, que estimulara la conversión de testosterona en estradiol y justificase el aumento de dicha hormona.

Por todo lo anterior, analizamos la posible utilidad del ratio testosterona total/estradiol como biomarcador predictor del riesgo de desarrollar una infección grave por SARS-CoV-2 [OR=17,89 IC95% (4,87-65,68), ( $p<0,001$ )], y la construcción de las curvas ROC, confirmó que se trata del parámetro más robusto de los analizados para predecir infección grave: AUC=0,77 ( $p<0,001$ ).

En el estudio de Dhindsa et al. [32] realizaron un ratio de estradiol a testosterona con los niveles hormonales de los varones al ingreso. La mediana (RIQ) del ratio estradiol/testosterona fue mayor en los que necesitaron ingreso en UCI 3,4% (1,4%-2,5%) frente a 0,9% (0,6%-1,9%) ( $p<0,001$ ), los que necesitaron ventilación mecánica 5,9% (2,0%-185,5%) frente a 1,4% (0,7%-2,9%) ( $p=0,001$ ) y los que fallecieron 3,2% (1,7%-2,7%) frente a 1,3% (0,6%-3,2%) ( $p=0,009$ ); en comparación con los varones que tuvieron un trascurso más leve de la enfermedad.

Finalmente, en nuestro estudio realizamos una serie curvas ROC de los andrógenos sexuales, el estradiol y el ratio testosterona total/estradiol; todo en función del criterio de gravedad elegido (ingreso en UCI y/o fallecimiento). Dentro de los andrógenos, el mejor predictor de gravedad para la COVID-19 resultó ser la DHEA, con una AUC de 0,75 ( $p<0,001$ ); seguida por la testosterona con una AUC de 0,72 ( $p<0,001$ ). El estradiol obtuvo una AUC de 0,70 ( $p=0,001$ ). Pero, sin duda alguna, el mejor predictor de la gravedad de la infección por SARS-CoV-2 en los pacientes resultó ser el ratio testosterona total/estradiol con una AUC de 0,77 ( $p<0,001$ ).

Ante los buenos resultados encontrados en nuestro estudio, podemos afirmar que la utilización de los andrógenos plasmáticos como marcadores pronósticos del SARS-CoV-2 es una herramienta muy útil para predecir la evolución de la enfermedad y debería ser implementada en la práctica clínica.

### **7.2 Hallazgos generales**

En base a los resultados obtenidos en nuestro estudio, lo primero que podemos destacar es que no existen diferencias estadísticamente significativas entre la edad, el hábito tabáquico, la presencia de obesidad, hipertensión arterial, diabetes, dislipemia, enfermedad cardiovascular e inmunosupresión; entre los dos grupos comparados (COVID-19 grave y COVID-19 no grave). Esta falta de significación estadística entre los grupos estudiados y variables que a priori están asociadas a peor pronóstico de la enfermedad hace que los dos grupos sean perfectamente comparables de acuerdo con los objetivos del estudio.

La neumonía (87,8%), la tos seca (65,3%), la fiebre (64,3%) y la disnea (49,0%) fueron los síntomas predominantes en los pacientes, lo que coincide con los datos recogidos por el Ministerio de Sanidad durante la pandemia [6, 7] y con datos internacionales [1, 11]. Además, la neumonía ( $p=0,032$ ) y la disnea ( $p<0,001$ ); fueron los síntomas más habituales en los pacientes con infección grave por SARS-CoV-2, siendo consecuentes nuestros resultados con los de otros estudios que señalan a la neumonía como la complicación que más ingresos y fallecimientos causa [1, 11, 15].

### **7.3 Hallazgos bioquímicos**

Encontramos cambios en algunos parámetros bioquímicos entre los pacientes con COVID-19 grave y los pacientes con curso más leve. En concreto, hallamos mayores niveles de glucemia con mediana (RIQ) de 137,00 (87,50) en los pacientes graves frente a 103,50 (20,00) mg/dl en los leves ( $p<0,001$ ); y de LDH con mediana (RIQ) de 360,00 (193,00) frente a 290,50 (115,25) U/l ( $p=0,002$ ). A su vez encontramos peores niveles de saturación de oxígeno durante el ingreso con mediana (RIQ) de 89,00 (5,00) en los graves frente a 94,50 (4,00) % en los leves ( $p<0,001$ ); y peor PaFi durante el ingreso con mediana (RIQ) de 134,50 (71,00) frente a 318,00 (120,00) ( $p<0,001$ ).

Existen estudios que reflejan que una cuarta parte de los pacientes críticos, no diabéticos, con infección por SARS-CoV-2, presentan hiperglucemia de estrés debida a la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, aumento de la resistencia a la insulina y liberación de citoquinas proinflamatorias [35]. Por otro lado, la LDH es una enzima relacionada con el daño tisular agudo y crónico, que se considera un marcador inflamatorio. Durante la infección por SARS-CoV-2 se produce un aumento de la enzima debido al daño pulmonar agudo. De hecho, en un estudio de Marhuenda-Egea et al. [36] han encontrado una correlación positiva entre los niveles de PCR, LDH y la PaFi, de manera que la respuesta inflamatoria hacia el virus induzca la apoptosis de células epiteliales y endoteliales del pulmón y este proceso dañe las barreras microvasculares pulmonares produciendo finalmente SDRA. A su vez, en otros estudios, se encontró una saturación de oxígeno menor al ingreso, así como una mayor necesidad de oxigenoterapia en pacientes que acabaron falleciendo por la enfermedad [37].

En nuestro estudio también encontramos mayores niveles de creatinina y menor nivel de filtrado glomerular en los pacientes graves, sin embargo, estos parámetros no llegaron a alcanzar niveles de significación. En algunos estudios se han encontrado niveles de creatinina más altos, así como peores cifras de filtración glomerular entre los pacientes fallecidos por la enfermedad y los supervivientes. De hecho, la lesión renal aguda, podría ser un predictor de gravedad de la COVID-19, estando los niveles altos de creatinina y nitrógeno ureico asociados a mayor gravedad de la infección [37]. Por su parte, la tasa de filtración glomerular estimada se correlaciona bien con la lesión renal aguda por SARS-CoV-2, pero no tan bien con el SDRA ni con la necesidad de ventilación mecánica, es más, una proporción alta de los pacientes ingresados acaba recuperando la función renal [38].

#### **7.4 Hallazgos inflamatorios**

Las alteraciones hematológicas son comunes en la COVID-19. En nuestro estudio encontramos diferencias estadísticamente significativas en los niveles de leucocitos y linfocitos entre los pacientes graves y los pacientes con enfermedad más leve. Encontramos mayores niveles de leucocitos en los pacientes graves con mediana (RIQ) de 8,10 (5,03) en estos, frente a 6,40 (2,98)  $\times 10^3/\mu\text{l}$  en los leves ( $p=0,011$ ); así como menores niveles de linfocitos con mediana (RIQ) de 0,60 (0,80) en los graves frente a 1,00 (0,60)  $\times 10^3/\mu\text{l}$  en los no graves ( $p<0,001$ ).

Los niveles de leucocitos encontrados en los múltiples estudios realizados son variables, hay pacientes que presentan leucocitosis y otros que presentan leucopenia [1, 39, 40]. En un metaanálisis que examinó los parámetros de laboratorio de 3377 pacientes, se encontró un ligero aumento de los leucocitos en pacientes con enfermedad grave, que era aún más acentuado en aquellos pacientes que fallecieron; por lo que este hallazgo podría indicar un empeoramiento clínico de los pacientes y va en consonancia con nuestros resultados [41]. La linfopenia es un hallazgo muy frecuente que, en diversos estudios, se asoció a mayor riesgo de ingreso en UCI, sobre todo cuando se presentaba junto con un aumento de la LDH [1, 39, 40, 41, 42, 43, 44]. En nuestro estudio el grupo de pacientes graves también presentaba mayores niveles de LDH en comparación con el grupo leve ( $p=0,002$ ).

Encontramos también significación estadística en nuestro estudio entre varios parámetros inflamatorios y las formas graves de la enfermedad. En concreto hallamos mayores niveles de PCR con mediana (RIQ) de 10,70 (13,75) en los graves frente a 7,40 (8,50) mg/dl en los leves ( $p=0,048$ ); la procalcitonina con mediana (RIQ) de 0,20 (0,32) frente a 0,10 (0,08) ng/ml ( $p=0,007$ ); y la ferritina con mediana (RIQ) de 1330 (1102) frente a 648 (741) ng/ml ( $p=0,005$ ).

La elevación de la PCR es un hallazgo ampliamente asociado a mal pronóstico en gran cantidad de estudios [39, 40, 42, 43, 44, 45]. Sin embargo, mientras que en algunos estudios la mayoría de los pacientes presentaban niveles de procalcitonina (PCT) normales al ingreso [1, 40], nosotros hallamos niveles significativamente más elevados en el grupo de COVID-19 grave frente al grupo de pacientes con enfermedad leve ( $p=0,007$ ). En un estudio comparativo entre pacientes que fallecieron por COVID-19 y pacientes que sobrevivieron, se encontraron diferencias de solo 0,2 ng/ml en los niveles

de PCT y postularon que la elevación de la PCT podía ser debida a infecciones secundarias, por lo que podría usarse como marcador de infección bacteriana [41]. No obstante, en otro metaanálisis se encontró que la elevación de la PCT se asociaba a un aumento de la mortalidad, pero no a un aumento de ingreso en UCI [45]. La ferritina, como reactante de fase aguda, también se ha encontrado elevada en pacientes graves [40, 42, 45]. La ferritina sérica, utilizada como marcador de inflamación, puede ser útil para monitorizar el pronóstico de pacientes con COVID-19, además, cuando los aumentos de PCR y ferritina se producen juntos, son buen indicador de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) [41, 44].

A su vez, algunos estudios observaron que el fibrinógeno y el dímero D estaban elevados en todos los pacientes con COVID-19, siendo esta elevación especialmente reseñable en los pacientes más graves [39, 40, 41, 42]. En un metaanálisis que revisamos, la elevación del fibrinógeno y del dímero D, se asoció a mayor riesgo de mortalidad, pero no de ingreso en UCI [45]. En nuestro caso, ambos parámetros presentaban niveles mayores en el grupo de pacientes graves, pero no encontramos diferencias significativas entre los dos grupos estudiados.

## **8. LIMITACIONES DEL ESTUDIO**

Nuestro estudio tiene ciertas limitaciones, en primer lugar, la naturaleza retrospectiva del estudio, en segundo lugar, el relativamente pequeño tamaño muestral que puede atenuar nuestra capacidad de identificar diferencias significativas en alguna de las variables entre los dos grupos, y finalmente, el carácter unicéntrico del estudio; por lo que nuevos estudios, con mayor tamaño muestral, deberán confirmar y ampliar nuestros resultados.

## **9. CONCLUSIONES**

Los pacientes con infección grave por SARS-CoV-2 presentan niveles más bajos de andrógenos y más elevados de estradiol respecto a los pacientes con enfermedad leve.

Unos niveles más bajos de andrógenos y más elevados de estradiol en las primeras 24 horas de la infección por SARS-CoV-2 se asociaron con mayor riesgo de desarrollar infección grave (muerte y/o ingreso en UCI).

De todos los biomarcadores analizados el ratio testosterona total/estradiol presentó la mejor capacidad predictiva para el riesgo de infección grave.

## **10. AGRADECIMIENTOS**

A Mayte, mi directora, y a David, mi codirector, por su paciencia, cariño y apoyo durante estos meses.

A mi familia, por ayudarme a recorrer este camino y creer en mí de manera incondicional.

A mis amigas, por su apoyo emocional y comprensión durante toda la carrera.

A Manuel por estar presente siempre que lo he necesitado y hacerme ver el lado bueno de las cosas.

A mí misma, por no rendirme a pesar de las adversidades.

Y finalmente, a todos pacientes que han prestado su consentimiento para la realización de este trabajo, especialmente a los fallecidos durante la pandemia del SARS-CoV-2; no os olvidamos.

Gracias de corazón.

## 11. GLOSARIO DE ABREVIATURAS

- **ALT (GPT):** Alanina aminotransferasa.
- **Ang 1-7:** Angiotensina 1-7.
- **Ang 1-9:** Angiotensina 1-9.
- **Ang I:** Angiotensina I.
- **Ang II:** Angiotensina II.
- **ARA II:** Antagonistas de los receptores de Ang II.
- **AT2:** Células epiteliales alveolares de tipo II.
- **AUC:** Área bajo la curva.
- **CCDC:** Centro Chino para el Control y la Prevención de Enfermedades.
- **COVID-19:** Enfermedad producida por el SARS-CoV-2.
- **DHEA:** Dehidroepiandrosterona.
- **DHEA-S:** Dehidroepiandrosterona sulfato.
- **DM1:** Diabetes tipo 1.
- **DM2:** Diabetes tipo 2.
- **ECA:** Enzima convertidora de la angiotensina.
- **ECA-2:** Enzima convertidora de la angiotensina 2.
- **EMAS:** Sociedad Europea de Menopausia y Andropausia.
- **FiO<sub>2</sub>:** Fracción inspirada de oxígeno.
- **GnRH:** Hormona liberadora de gonadotropinas.
- **HTA:** Hipertensión arterial.
- **HUMV:** Hospital Universitario Marqués de Valdecilla.
- **IAL:** Índice Androgénico Libre.
- **IDIVAL:** Instituto de Investigación Sanitaria Valdecilla.
- **IECAS:** Inhibidores de la ECA.
- **IgG:** Inmunoglobulina G.
- **IL-1:** Interleucina 1.
- **IL-10:** Interleucina 10.
- **IL-2:** Interleucina 2.
- **IL-6:** Interleucina 6.
- **IMC:** Índice de masa corporal.
- **LDH:** Lactato deshidrogenasa.
- **LH:** Hormona luteinizante.
- **LISCAN:** Sistema de Información Corporativa de Laboratorios.
- **MOSH:** Obesidad masculina asociada a hipogonadismo secundario.
- **NF-Kb:** Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas.
- **OMS:** Organización Mundial de la Salud.
- **OR:** Odds ratio.
- **PaFi:** PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>.
- **PaO<sub>2</sub>:** Presión arterial de oxígeno.
- **PCR:** Proteína C reactiva.
- **PCT:** Procalcitonina.
- **PRL:** Prolactina.
- **RENAVE:** Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.
- **RIQ:** Rango intercuartílico.

- **ROC:** Receiver operating characteristic.
- **SARS-CoV-2:** Coronavirus de tipo 2 causante del síndrome respiratorio agudo grave.
- **SatO<sub>2</sub>:** Saturación de oxígeno.
- **SDRA:** Síndrome de distrés respiratorio agudo.
- **sECA-2:** ECA-2 soluble.
- **SHBG:** Globulina fijadora de hormonas sexuales.
- **SIRS:** Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.
- **SRAA:** Sistema renina-angiotensina-aldosterona.
- **TGF- $\beta$ :** Factor de crecimiento transformante beta.
- **TLC:** Testosterona libre calculada.
- **TLR7:** toll like receptor 7.
- **TMPRSS2:** Proteasa de serina transmembrana de tipo II.
- **TNF- $\alpha$ :** Factor de necrosis tumoral alfa.
- **TT:** Testosterona total.
- **UCI:** Unidad de cuidados intensivos.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Chaolin H., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 2020; 395(10223):497-506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
2. Equipo Covid-19. Informe nº 124 sobre la situación de COVID-19 en España. *Red Nac. Vigil. Epidemiológica. Inst. Salud Carlos III* (marzo 2022). [Internet]. [Consultado 2 Abr 2022]. Disponible en: [Informe nº 124 Situación de COVID-19 en España a 30 de marzo de 2022.pdf \(isciii.es\)](https://www.isciii.es/imagenes/medios/Informe%20n%C3%B0%20124%20Situaci%C3%B3n%20de%20COVID-19%20en%20Espa%C3%B1a%20a%2030%20de%20marzo%20de%202022.pdf)
3. The Novel Coronavirus Pneumonia Emergency Response Epidemiology Team. The Epidemiological Characteristics of an Outbreak of 2019 Novel Coronavirus Diseases (COVID-19) China, 2020. [Internet]. [Consultado 2 Abr 2022]. Disponible en: <http://weekly.chinacdc.cn/en/article/id/e53946e2-c6c4-41e9-9a9b-fea8db1a8f51>
4. Michelozzi P., De'Donato F., Scortichini M., De Sario M., Noccioli F., Rossi P., Davoli M. Mortality impacts of the coronavirus disease (COVID-19) outbreak by sex and age: Rapid mortality surveillance system, Italy, 1 February to 18 April 2020. *Eurosurveillance*, 2020; 25(19):2000620. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.19.2000620.
5. Rozenberg S., Vandromme J., Martin C. Are we equal in adversity? Does Covid-19 affect women and men differently? *Maturitas*, 2020; 138, 62-68. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2020.05.009>.
6. Ruiz Cantero M. T. Las estadísticas sanitarias y la invisibilidad por sexo y de género durante la epidemia de COVID-19. *Gac Sanit.* 2021; 35(1):95-98. <https://dx.doi.org/10.1016/j.gaceta.2020.04.008>
7. Martín U., Bacigalupe A., Jiménez Carrillo M. COVID-19 y género: Certezas e incertidumbres en la monitorización de la pandemia. *Rev Esp Salud Pública.* 2021; 95(1):1-11. ID MEDES: 161771
8. Hoffman M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Müller M. A., Drosten C., Pöhlmann S. *et al.* SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell.* 2020; 181(2):271-280. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
9. Rabi FA, Al Zoubi MS, Kasasbeh GA, Salameh DM, Al-Nasser AD. SARS-CoV-2 and Coronavirus Disease 2019: What We Know So Far. *Pathogens.* 2020; 9(3):231. <https://doi.org/10.3390/pathogens9030231>
10. Amgalan A., Kinga Malinowski A., Othman M. COVID-19 and Sex-/Gender-Specific Differences: Understanding the Discrimination. *Semin Thromb Hemost.* 2021; 47(04):341-347 <https://doi.org/10.1055/s-0040-1715455>
11. Beyerstedt S., Casaro E.B. y Rangel É.B. COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2021; 40, 905-919. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04138-6>
12. Gemmati D., Bramanti B., Serino ML., Secchiero P., Zauli G., Tisato V. COVID-19 and Individual Genetic Susceptibility/Receptivity: Role of ACE1/ACE2 Genes, Immunity, Inflammation and Coagulation. Might the Double X-Chromosome in Females Be Protective against SARS-CoV-2 Compared to the Single X-

- Chromosome in Males? *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(10):3474. <https://doi.org/10.3390/ijms21103474>
13. Yalcin C. H., Sukumaran V., Shurbaji S., Al-Ruweidi M. Do Changes in ACE-2 Expression Affect SARS-CoV-2 Virulence and Related Complications: A Closer Look into Membrane-Bound and Soluble Forms. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(13):6703. <https://doi.org/10.3390/ijms22136703>
  14. Xu H., Zhong L., Deng J. et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *Int J Oral Sci.* 2020; 12(8). <https://doi.org/10.1038/s41368-020-0074-x>
  15. Li Y., Zhou W., Yang L. y You R. Physiological and pathological regulation of ACE2, the SARS-CoV-2 receptor. *Pharmacological Research.* 2020; 157. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104833>
  16. Chen L., Li X., Chen M., Feng Y., Xiong C. The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2. *Cardiovasc. Res.* 2020; 116(6):1097-1100. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa078>
  17. Martínez-Rojas M. A., Vega-Vega O. y Bobadilla N. A. Is the kidney a target of SARS-CoV-2? *Am. J. Physiol. - Ren.* 2020; 318(6):1454-1462. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00160.2020>
  18. Zhang J., Garrett S., Sun J. Gastrointestinal symptoms, pathophysiology, and treatment in COVID-19. *Genes Dis.* 2021; 8(4):385-400. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2020.08.013>
  19. Kariyawasam J. C., Jayarajah U., Riza R., Abeyesuriya V., Seneviratne S. L., Gastrointestinal manifestations in COVID-19. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2021; 115(12):1362–1388. <https://doi.org/10.1093/trstmh/trab042>
  20. Merve Seymen C., The other side of COVID-19 pandemic: Effects on male fertility. *J. Med. Virol.* 2021; 93(3):1396–1402. <https://doi.org/10.1002/jmv.26667>
  21. Malki M. I. COVID-19 and male infertility: An overview of the disease. *Medicine.* 2022; 101(27):e29401. doi: 10.1097/MD.00000000000029401
  22. Li R., Yin T., Fang F., Li Q., Chen J., Wang Y. et al. Potential risks of SARS-CoV-2 infection on reproductive health. *RBMO.* 2020; 41(1):89-95. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.04.018>
  23. Borrás A., Guimerà M., Barral Y., Agustí I., Manau Trullàs M. D. Pandemia del SARS-CoV-2 y reproducción asistida. *Clin Invest Gin Obst.* 2020; 47(3):96-105. DOI: 10.1016/j.gine.2020.06.004
  24. Conti P., Younes A. Coronavirus COV-19/SARS-CoV-2 affects women less than men: clinical response to viral infection. *J. Biol. Regul. Homeost.*, 2020; 34(2):339-343. <https://doi.org/10.23812/Editorial-Conti-3>
  25. Zeng F., Dai C., Cai P., et al. A comparison study of SARS-CoV-2 IgG antibody between male and female COVID-19 patients: a possible reason underlying different outcome between sex. *J Med Virol.* 2020; 92(10):2050-2054. <https://doi.org/10.1002/jmv.25989>
  26. Masterson J. M., Bui C., Zhang Y., Yuan X., Huynh C., Jawanda H. et al. Feminising hormone therapy reduces testicular ACE-2 receptor expression: Implications for treatment or prevention of COVID-19 infection in men. *Andrologia.* 2021; 53(11): e14186. <https://doi.org/10.1111/and.14186>

27. Aguilar-Pineda J. A., Albaghdadi M., Jiang W., Vera-Lopez K. J., Nieto-Montesinos R., Álvarez K. L. F., et al. Structural and Functional Analysis of Female Sex Hormones against SARS-CoV-2 Cell Entry. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(21):11508. <https://doi.org/10.3390/ijms222111508>
28. Rodrigues Lemes R. M., Costa A. J., Bartolomeo C. S., Bervian Bassani T., Sayuri Nishino M., Da Silva Pereira G. J., et al. 17 $\beta$ -estradiol reduces SARS-CoV-2 infection in vitro. *Physiol Rep.* 2021; 9(2):e14707. <https://doi.org/10.14814/phy2.14707>
29. Montopoli M., Zumerle S., Vettor R., Rugge M., Zorzi M., Catapano C. V., et al. Androgen-deprivation therapies for prostate cancer and risk of infection by SARS-CoV-2: a population-based study (N = 4532). *Ann. Oncol.* 2020; 31(8):1040-1045. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.04.479>
30. Auerbach J.M., Khera M. Testosterone's Role in COVID-19. *J Sex Med.* 2021; 18(5):843-848. <https://doi.org/10.1016/j.jsxm.2021.03.004>
31. Giagulli V. A., Guastamacchia E., Magrone T., Jirillo E., Lisco G., De Pergola G., et al. Worse progression of COVID-19 in men: Is testosterone a key factor? *Andrology.* 2021; 9(1):53-64 <https://doi.org/10.1111/andr.12836>
32. Dhindsa S., Zhang N., McPhaul M.J., et al. Association of circulating sex Hormones with inflammation and disease severity in patients with COVID-19. *JAMA Netw Open.* 2021;4(5):e2111398. doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.11398
33. Rastrelli G., Di Stasi V., Inglese F. et al. Low testosterone levels predict clinical adverse outcomes in SARS-CoV-2 pneumonia patients. *Andrology.* 2020; 9:88-98. DOI: 10.1111/andr.12821
34. Ma L., Xie W., Li D., Shi L., Mao Y., Xiong Y., et al. Effect of SARS-CoV-2 infection upon male gonadal function: a single center-based study. *MedRxiv.* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.21.20037267>
35. Diamantopoulos A., Dimopoulou I., Mourelatos P., Vassiliou A.G., Vassiliadi D-A., et al. Endocrine Aspects of ICU-Hospitalized COVID-19 Patients. *J. Pers. Med.* 2022;12(10):1703. <http://dx.doi.org/10.3390/jpm12101703>
36. Marhuenda-Egea F.C., Narro-Serrano J. Evaluation of risk factors for COVID-19 severity or death and their relationship to metabolic pathways. *Heliyon.* 2023; 9(3), <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14161>
37. Ziuzia-Januszewska L., Januszewski M., Sosnowska-Nowak J., Janiszewski M., Dobrzyński P., Jakimiuk A. A., et al. COVID-19 Severity and Mortality in Two Pandemic Waves in Poland and Predictors of Poor Outcomes of SARS-CoV-2 Infection in Hospitalized Young Adults. *Viruses.* 2022;14(8):1700. <http://dx.doi.org/10.3390/v14081700>
38. Cei F., Chiarugi L., Brancati S., Montini M. S., Dolenti S., Di Stefano D., et al. Early reduction of estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR) predicts poor outcome in acutely ill hospitalized COVID-19 patients firstly admitted to medical regular wards (eGFR-COV19 study). *Biomed. Pharmacother.* 2022;153. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113454>
39. Amgalan A., Othman M. Hemostatic laboratory derangements in COVID-19 with a focus on platelet count. *Platelets.* 2020; 31:6, 740-745, <https://doi.org/10.1080/09537104.2020.1768523>
40. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective

- cohort study. *Lancet*. 2020;395(10229):1054–1062. doi:10.1016/S0140-6736(20)30566-3
41. Brandon Michael H., Santos de Oliveira, M.H., Benoit S., Plebani M., Lippi, G. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *CCLM*. vol. 58, no. 7, 2020, págs. 1021-1028. <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0369>
  42. Guan W., Ni Z., Hu Y., Liang W-H., Ou C-Q., He J-X. et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020;382(18):1708–1720. doi:10.1056/NEJMoa2002032
  43. Qin, R., He, L., Yang, Z. et al. Identification of Parameters Representative of Immune Dysfunction in Patients with Severe and Fatal COVID-19 Infection: a Systematic Review and Meta-analysis. *Clinic Rev Allerg Immunol*. 2023; 64, 33–65. <https://doi.org/10.1007/s12016-021-08908-8>
  44. Mermutluoğlu Ç., Dursun R., Aktar F., Dayan S., Çelen MK., Kadiroğlu AK. et al. Evaluation of inflammatory and hematological parameters in patients diagnosed with COVID-19. *J Infect Dev Ctries*. 2022 Oct 31;16(10):1564-1569. doi: 10.3855/jidc.14341. PMID: 36332208.
  45. Huang I., Pranata R., Lim M.A., Oehadian A., Alisjahbana B. C-reactive protein, procalcitonin, D-dimer, and ferritin in severe coronavirus disease-2019: a meta-analysis. *Ther Adv Respir*. 2020;14. doi:10.1177/1753466620937175
  46. Tomo S., Banerjee M., Karli S. et al. Assessment of DHEAS, cortisol, and DHEAS/cortisol ratio in patients with COVID-19: a pilot study. *Hormones*. 2022; 21:515–518. <https://doi.org/10.1007/s42000-022-00382-x>
  47. Yeap B. B., Marriott R. J., Manning L., Dwivedi G., Hankey G. J. et al. Higher pre-morbid serum testosterone predicts COVID-19-related mortality risk in men. *Eur. J. Endocrinol*. 2022; 187(1):159–170. <https://doi.org/10.1530/EJE-22-0104>
  48. Zixin C., Jiabin Z., Yingling J., Jingjing Z. Associations between COVID-19 infection and sex steroid hormones. *Front. Endocrinol*. 2022;13. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.940675>
  49. Badawy M.T., Sobeh M., Xiao J., Farag M.A. Androstenedione (a Natural Steroid and a Drug Supplement): A Comprehensive Review of Its Consumption, Metabolism, Health Effects, and Toxicity with Sex Differences. *Molecules*. 2021;26(20):6210. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26206210>

## 13. ANEXOS

### 13.1 Aprobación de la financiación del proyecto por parte del Programa de Dinamización de la Investigación Biosanitaria de 2020.



#### CONVOCATORIA DE PROGRAMAS DE DINAMIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN 2020. PROGRAMA INN-VAL

#### RESOLUCIÓN DE CONCESIÓN

Tras evaluación externa y de acuerdo con las bases de la convocatoria publicadas en la web de IDIVAL, una vez aceptadas todas las solicitudes presentadas a la convocatoria, se concede financiación a los proyectos que figuran en la tabla adjunta, para su ejecución en un plazo de 2 años.

Su ejecución viene sujeta a las instrucciones de gestión de proyectos de IDIVAL.

Los investigadores principales de los proyectos cuentan con 7 días para renunciar a la concesión de la ayuda, antes de que sea definitiva.

36060111K Firmado  
FRANCISCO digitalmente por  
GALO 36060111K  
PERALTA (R: (R: G39788773)  
G39788773) Fecha: 2020.10.30  
09:37:39 +01'00'

**Galo Peralta**  
**Director de Gestión**

REFERENCIA	INVESTIGADOR PRINCIPAL	TÍTULO	IMPORTE CONCEDIDO (€)
INNAL20/13	GARCIA HEVIA, LORENA	Desarrollo de un virus sintético SARS-CoV-2 basado en nanobiotecnología para el testado de fármacos y sistemas de detección del COVID-19	30.000
INNAL20/33	VIERA ARTILES, JAIME	Maskpirator	30.000
INNAL20/12	FERNANDEZ PEÑA, ROSARIO	Impacto de la pandemia por COVID-19 en el cuidado y las redes de apoyo en cuidadores de personas con demencia en Cantabria (proyecto CAN-DEM)	14.000
INNAL20/31	SARABIA COBO, CARMEN M	Percepción del riesgo y estrategias de afrontamiento en personas mayores ante la pandemia COVID-19 relacionado con el modelo salutogénico: modelo predictivo. Estudio PREASOC-COVID-19	9.624
INNAL20/27	PRIEDE DIAZ, AMADOR	Desarrollo y estudio piloto de una aplicación online para la mejora de la regulación emocional en profesionales sanitarios durante la pandemia por COVID-19	25.000
INNAL20/07	CONDE PORTILLA, OLGA MARIA	Plataforma de validación cuantitativa del nivel de protección de mascarillas comerciales ante diferentes morfologías faciales (VALIDAMASKS)	25.000
INNAL20/02	AYESA ARRIOLA, ROSA	Cohorte de gestantes COVID-19 y de recién nacidos: estudio de aspectos biológicos y psicológicos relacionados con el neurodesarrollo	25.000
INNAL20/05	CAYON DE LAS CUEVAS, JOAQUIN	DATA-COVID: Evaluación de impacto en materia de protección de datos de las soluciones tecnológicas para la geolocalización, rastreo e inmunidad por COVID-19	25.000
INNAL20/15	GARCIA UNZUETA, MARIA TERESA	Análisis de los niveles de andrógenos y metabolitos relacionados en pacientes COVID. relación con clínica, datos analíticos, pronóstico y supervivencia	9.050
INNAL20/01	ALVAREZ DOMINGUEZ, CARMEN	Inmunidad entrenada en el diseño de Nanovacunas Covid-19	25.000
INNAL20/34	VILLAR RAMOS, ANA VICTORIA	Anti-fibrotic treatment for SARS-CoV2 infected lungs	25.000
INNAL20/21	MORIS FELGUEROSO, MARIA	Endomask19: Desarrollo de mascarilla endoscópica de protección frente a gotas y aerosoles expulsados en procedimientos con pacientes COVID	25.000
INNAL20/03	CANTARERO PRIETO, DAVID	Test de estrés o resistencia en el Sistema Cántabro de Salud, desarrollo de tecnologías innovadoras digitales para modelizar escenarios de mayor utilización sanitaria y soluciones de impacto socioeconómico y humano frente a la COVID-19	16.325

## 13.2 Comunicaciones en congresos



Dear Cristina Quinzaños Ruiz,

Congratulations again on the acceptance of your abstract as a **Printed Poster** at ECE 2023, which will be held from 13-16 May 2023 in Istanbul, Turkey.

**Submission number:** 1191

**Title:** Sex hormones as independent predictors of severe COVID-19 in patients with SARS-CoV-2 infection

**Presenting Author:** Gabriela Alexandra Zapata Maldonado

**Programme Code:** P729

**Display Date:** Tuesday 16 May 2023