

Universidad
de Oviedo



Universidad de Oviedo

Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias

Máster en Biomedicina y Oncología Molecular

GENÉTICA DE LA HIPERTENSIÓN Y SU RELACIÓN CON EL RIESGO DE COVID-19 SEVERO

Erica García Álvarez
11 de julio de 2023

Trabajo Fin de Máster

ABREVIATURAS

ACE-1	Enzima convertidora de la angiotensina I
ACE-2	Enzima convertidora de la angiotensina II
AGT	Angiotensinógeno
AGTR1	Receptor de angiotensina II de tipo 1
AGTR2	Receptor de angiotensina II de tipo 2
Ang	Angiotensina
ARAs	Antagonistas del receptor AGTR1
ARN	Ácido ribonucleico
COVID-19	Enfermedad del coronavirus (<i>Coronavirus Disease 2019</i>)
ECV	Enfermedad cardiovascular
G-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocito
GWAs	Estudio de asociación del genoma completo
IECAs	Inhibidores de la ECA
IL-10	Interleucina-10
IL-1β	Interleucina 1 β
IL-2	Interleucina-2
IL-6	Interleucina-6
IL-7	Interleucina-7
IP-10	Proteína 10 kD inducida por interferón gamma
ISPA	Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias
MASR	Receptor Mas
MCP-1	Proteína quimioatrayente de monocitos 1
MERS-CoV	Síndrome respiratorio de Oriente Medio
MIP	Proteína inflamatoria de macrófagos
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
RT-PCR	PCR en tiempo real
SARS-CoV	Coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo
SARS-CoV-2	Coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2
SDRA	Síndrome de dificultad respiratoria aguda grave
SNP	Polimorfismo de nucleótido único
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
TMPRSS2	Serina proteasa 2 transmembrana
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa
UCI	Unidad de cuidados intensivos

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Dña. Erica García Álvarez, estudiante del Máster Universitario en Biomedicina y Oncología Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Oviedo, DECLARA:

Que el Trabajo de Fin de Máster titulado *GENÉTICA DE LA HIPERTENSIÓN Y SU RELACIÓN CON EL RIESGO DE COVID-19 SEVERO*, que presenta para su exposición y defensa es original y que todas las fuentes empleadas para su realización han sido debidamente citadas en el mismo.

En Gijón (Asturias), a 11 de Julio de 2023.

Firma

ÍNDICE

Resumen.....	1
1. Introducción.....	2
1.1. Epidemiología del SARS-CoV-2 y la COVID-19.....	2
1.2. Tormenta de citoquinas.....	5
1.3. Sistema renina-angiotensina-aldosterona.....	6
1.4. COVID-19 y desregulación del SRAA.....	8
1.5. Enfermedad cardiovascular y COVID-19.....	10
1.6. Variación genética y riesgo de COVID-19.....	12
1.7. Anticuerpos anti-Ang II en la COVID-19.....	12
1.8. La COVID-19 en Asturias.....	13
2. Hipótesis y objetivos.....	17
3. Material y métodos.....	18
3.1. Pacientes del estudio.....	18
3.2. Genotipado de los polimorfismos.....	19
3.3. Frecuencias descritas de los alelos/genotipos.....	21
3.4. Análisis estadístico.....	22
4. Resultados y discusión.....	23
4.1. Descripción de la muestra.....	23
4.2. Genotipos ACE-1 en los pacientes COVID-19.....	25
4.3. Genotipos AGTR1 en los pacientes COVID-19.....	28
4.4. Genotipos ACE-2 en los pacientes COVID-19.....	30
4.5. Genotipos AGT en los pacientes COVID-19.....	33
4.6. Limitaciones del estudio.....	35
5. Conclusiones.....	37
6. Bibliografía.....	38

RESUMEN

Genética de la hipertensión y su relación con el riesgo de COVID-19 severo.

El sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) es esencial para mantener la homeostasis cardiovascular, regulando la función vasopresora y la presión arterial, entre otras funciones. Su disfunción puede causar hipertensión arterial y otras enfermedades cardio-metabólicas. Estas enfermedades presentan un componente de riesgo genético y se ha descrito una asociación entre las variantes en genes del SRAA, como ACE-1, AGT, y AGTR1, y el riesgo de desarrollar hipertensión. Por otro lado, la hipertensión es un factor de riesgo conocido para el desarrollo de formas severas de la COVID-19. Existe una conexión adicional entre el SRAA y la COVID-19 debido a que la proteína de membrana ACE-2 es utilizada por el virus SARS-CoV-2 para ingresar a las células a través de la unión con la proteína espiga (S) de la cápside viral. La expresión de ACE-2 está regulada por los otros componentes del SRAA, y se ha observado que algunas variantes en estos genes están asociadas al riesgo de desarrollar formas severas de COVID-19. Estos hallazgos sugieren que la genética en los componentes del SRAA podrían influir tanto en la predisposición a la hipertensión como en la susceptibilidad a la COVID-19 severa. El objetivo de este estudio ha sido determinar el perfil de variables antropométricas (edad, sexo) y cardiovasculares (hipertensión, diabetes, dislipemia) preexistentes en los pacientes al ingreso en la planta COVID-19 del HUCA durante las oleadas pandémicas, y analizar la relación entre las frecuencias de las variantes en ACE-2, ACE-1, AGTR1 y AGT y las comorbilidades definidas que afectan a la severidad de la COVID-19. Hallamos que la presencia de las comorbilidades hipertensión, diabetes y dislipemia reducirían el umbral de protección de las vacunas frente al ingreso hospitalario, al estar más representadas en los vacunados en comparación con los no vacunados en el grupo de menores de 65 años. Concluimos que los genotipos difieren entre vacunados y no vacunados para menores y mayores de 65 (ACE-1 y AGT), sólo para los menores (AGTR1) o sólo en las mujeres mayores (ACE-2).

ABSTRACT

Genetics of hypertension and its relationship with the risk of severe COVID-19.

The renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) is essential for maintaining cardiovascular homeostasis, regulating vasoconstrictor function and blood pressure, among other functions. Its dysfunction can lead to arterial hypertension and other cardio-metabolic diseases. These diseases have a genetic risk component, and an association has been described between variants in RAAS genes, such as ACE-1, AGT, and AGTR1, and the risk of developing hypertension. On the other hand, hypertension is a known risk factor for the development of severe forms of COVID-19. There is an additional connection between RAAS and COVID-19 because the ACE-2 membrane protein is used by the SARS-CoV-2 virus to enter cells through binding with the viral capsid spike (S) protein. The expression of ACE-2 is regulated by the other components of RAAS, and it has been observed that some variants in these genes are associated with the risk of developing severe forms of COVID-19. These findings suggest that genetics in RAAS components could influence both predisposition to hypertension and susceptibility to severe COVID-19. The objective of this study was to determine the profile of pre-existing anthropometric variables (age, sex) and cardiovascular variables (hypertension, diabetes, dyslipidemia) in patients admitted to the COVID-19 ward at HUCA during the pandemic waves, and to analyze the relationship between the frequencies of variants in ACE-2, ACE-1, AGTR1, and AGT and the defined comorbidities that affect the severity of COVID-19. We found that the presence of comorbidities such as hypertension, diabetes, and dyslipidemia would reduce the threshold of vaccine protection against hospital admission, as they were more prevalent among vaccinated individuals compared to unvaccinated individuals in the under 65 years age group. We conclude that genotypes differ between vaccinated and unvaccinated individuals for those under and over 65 (ACE-1 and AGT), only for those under 65 (AGTR1), or only in older women (ACE-2).

1. INTRODUCCIÓN.

El coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2) es el responsable de la enfermedad COVID-19, que cursa con neumonía bilateral en los casos severos, aunque muchos infectados pueden permanecer asintomáticos o con síntomas leves. Este virus fue identificado por primera vez en la ciudad de Wuhan, provincia china de Hubei, en diciembre de 2019, y se extendió rápidamente por el mundo causando una pandemia global con decenas de millones de afectados y fallecidos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró oficialmente el 11 de marzo de 2020 que la situación constituía una pandemia. La COVID-19 se manifiesta con síntomas de malestar, fiebre, disnea, y neumonía severa en muchos casos. El SARS-CoV-2 se transmite principalmente a través de gotas respiratorias que son liberadas cuando una persona infectada tose, estornuda o habla. La enfermedad ha causado un número significativo de hospitalizaciones y muertes en todo el mundo, especialmente durante las primeras oleadas pandémicas en 2020 y 2021 y en personas vulnerables por tener edad avanzada y patologías previas. Los sistemas de salud se han enfrentado a desafíos sin precedentes, con una escasez de suministros médicos y una sobrecarga de trabajo para los profesionales sanitarios en las primeras fases de la pandemia. A pesar de estos desafíos, la comunidad científica ha trabajado para controlar la propagación de la COVID-19 y encontrar soluciones efectivas. Se han implementado medidas de protección y desarrollado vacunas en tiempo récord, lo que unido a la gran tasa de infecciones ha ido creando una inmunidad de grupo que redujo la severidad de los síntomas entre los infectados. Especialmente la vacunación ha demostrado ser efectiva en la reducción de los casos graves y muertes relacionadas con la enfermedad (Ciotti et al., 2020; Hu et al., 2021; Kim et al., 2020).

1.1. EPIDEMIOLOGÍA DEL SARS-COV-2 Y LA COVID-19.

El SARS-CoV-2 pertenece a la familia de los coronavirus y su genoma fue secuenciado poco después de presentarse los primeros casos. Se trata de un virus de ARN monocatenario positivo emparentado con el SARS-CoV-1 y el MERS-CoV. En comparación con estos tiene una capacidad infectiva mucho mayor, aunque su letalidad es considerablemente menor. Muchas personas infectadas pueden ser asintomáticas o

tener síntomas leves, como fiebre, tos seca, fatiga y dificultad para respirar. Pero también hay casos graves y críticos que requieren hospitalización e ingreso en las unidades de cuidados intensivos. El principal modo de transmisión del virus es respiratorio y mediante el contacto directo con personas infectadas. La RT-PCR en tiempo real con sondas Taqman es el método más utilizado para diagnosticar la enfermedad. Esta prueba detecta el material genético del virus en exudados nasofaríngeos, además de calcular la carga viral y determinar la variante del virus en caso necesario (Datta et al., 2020).

La proteína viral S (Spike) del SARS-CoV-2 posee dos subunidades, S1 y S2, claves en el proceso infeccioso (Figura 1). El reconocimiento del dominio RBD de unión al receptor (ACE-2) situado en la subunidad S1 de la proteína viral favorece la unión y el inicio del proceso patológico (Hoffmann et al., 2020).

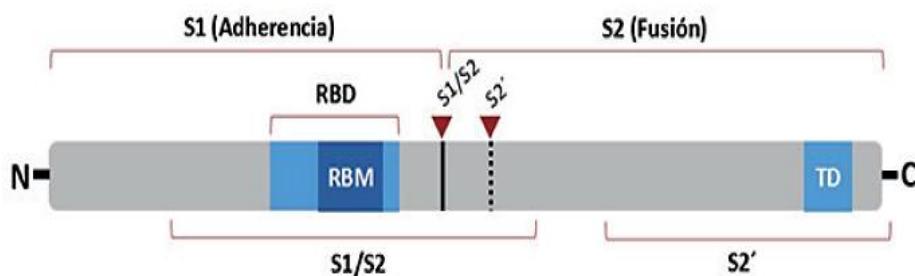


Figura 1. Proteína S del SARS-CoV-2. El dominio RBD está situado en la subunidad S1 de la proteína viral favoreciendo la unión y el inicio del proceso patológico. La subunidad S2 también se encuentra implicada en la infección. Modificado de Hoffmann et al., 2020.

La subunidad S2 del SARS-CoV-2 se encuentra implicada en la fusión de las membrana viral y celular donde es fundamental la participación de la serin-proteasa de transmembrana de tipo II (TMPRSS2) para que el genoma viral penetre en la célula infectada (Hoffmann et al., 2020; Pastrian, 2020; Zhang et al., 2020).

El SARS-CoV-2 posee un sitio de corte para la furina, una inserción de 4 aminoácidos PRRRA en la secuencia de la proteína S. Este sitio de corte favorece el procesamiento de los viriones y aumenta la capacidad infecciosa del virus. El sitio furina está ausente en SARS-CoV-1 y ello podría explicar la menor capacidad infectiva de este. Por otro lado, el sitio furina se pierde tras varios pases de cultivo del virus en células Vero, lo que

convierte al SARS-CoV-2 en menos infeccioso. Por el contrario, la variante Delta tiene una mutación que aumenta la actividad de la furina lo que podría explicar la mayor infectividad de esta comparada con variantes previas como la alfa o inglesa (**Datta et al., 2020; Medina-Enriquez et al., 2020**).

La proteína S del virus se une a la enzima convertidora de la angiotensina II (ACE-2) presente en la membrana de varios tipos celulares, evento clave para la infección. SARS-CoV-1 utiliza también ACE-2 como receptor, frente al MERS que infecta a través de otro receptor celular. La infección por SARS-CoV-2 en las células epiteliales alveolares va a desatar una respuesta inmune con producción de citoquinas proinflamatorias como el TNF- α , IL-2, IL-6, IL-7 o IL-10, y otros mediadores como el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), la proteína 10 kD inducida por interferón gamma (IP-10), la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1) o la proteína inflamatoria de macrófagos (MIP). Aunque esta respuesta inmunitaria es en principio beneficiosa al tener como objetivo controlar la infección, puede sobrepasar un nivel que lo convierte en perjudicial para el tejido pulmonar. Este proceso se conoce como “tormenta de citoquinas” y conduce a una lisis del tejido pulmonar con neumonía severa, y puede valorarse mediante cuantificación de los niveles circulantes de moléculas como la IL-6. Niveles elevados de estas citoquinas y factores inflamatorios se asocian con una progresión más grave de la enfermedad y riesgo de mortalidad elevado. El dímero D es un marcador de coagulación sanguínea que también puede estar elevado en pacientes con COVID-19 que han experimentado trombosis, que es una causa frecuente de mortalidad. Es importante tener en cuenta que la COVID-19 no se limita al pulmón y puede afectar a otros órganos con consecuencias más graves en personas con factores de riesgo o condiciones médicas preexistentes. La comprensión de los mecanismos y los marcadores asociados con la gravedad de la enfermedad es fundamental para el manejo y el tratamiento adecuado de los pacientes afectados (**Coto et al., 2021; Domingo et al., 2020; Maguiña et al., 2020**).

Entre los factores que se asocian con la gravedad de la COVID-19 y el riesgo de muerte están el sexo masculino, la edad avanzada, la presencia de hipertensión, diabetes, dislipemia y de enfermedades cardiovasculares preexistentes. Es importante destacar que estos factores cardiovasculares tienden a estar relacionados con la edad, lo que significa que todos ellos contribuyen al aumento del riesgo de desarrollar una forma

severa de COVID-19 a medida que una persona envejece (**Wilk-Sledziowska** et al., 2022).

Los pacientes con casos severos de COVID-19, especialmente aquellos de edad avanzada y con comorbilidades como la hipertensión o la diabetes, presentan un mayor riesgo de mortalidad. En estas el SARS-CoV-2 puede causar daño en otros órganos como el riñón, el corazón e incluso el cerebro. Este daño multiorgánico puede ser consecuencia de la tormenta de citoquinas, más que por una invasión directa del virus en estos órganos (**Domingo** et al., 2020).

1.2. TORMENTA DE CITOQUINAS.

La tormenta de citoquinas es una respuesta inmunitaria exagerada y desregulada que puede ocurrir en algunas personas con COVID-19 y otras enfermedades infecciosas. La infección de los neumocitos de tipo II por el SARS-CoV-2 resulta en una liberación masiva de citoquinas proinflamatorias y quimiocinas, como la interleucina-6 (IL-6), la interleucina-1 beta (IL-1 β), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), etc. Esta liberación favorece el reclutamiento de neutrófilos y monocitos-macrófagos, que a su vez secretan citoquinas (**Domingo** et al., 2020).

La apoptosis de los neumocitos infectados mediada por Fas/FasL o por la vía TRAIL-DR-5 es favorecida por la infección de las células endoteliales pulmonares y alveolares y el paso de las citoquinas a la circulación sistémica. Como resultado de todo esto, se produce una alteración en la integridad de la barrera alveolo-capilar con formación de edemas en los alvéolos. La combinación de la respuesta inflamatoria exacerbada y la disfunción endotelial desencadenan cascadas de coagulación que resultan en la formación de trombos microcirculatorios (**Figura 2**) (**Domingo** et al., 2020; **Hu** et al., 2021; **Mangalmurti & Hunter**, 2020).

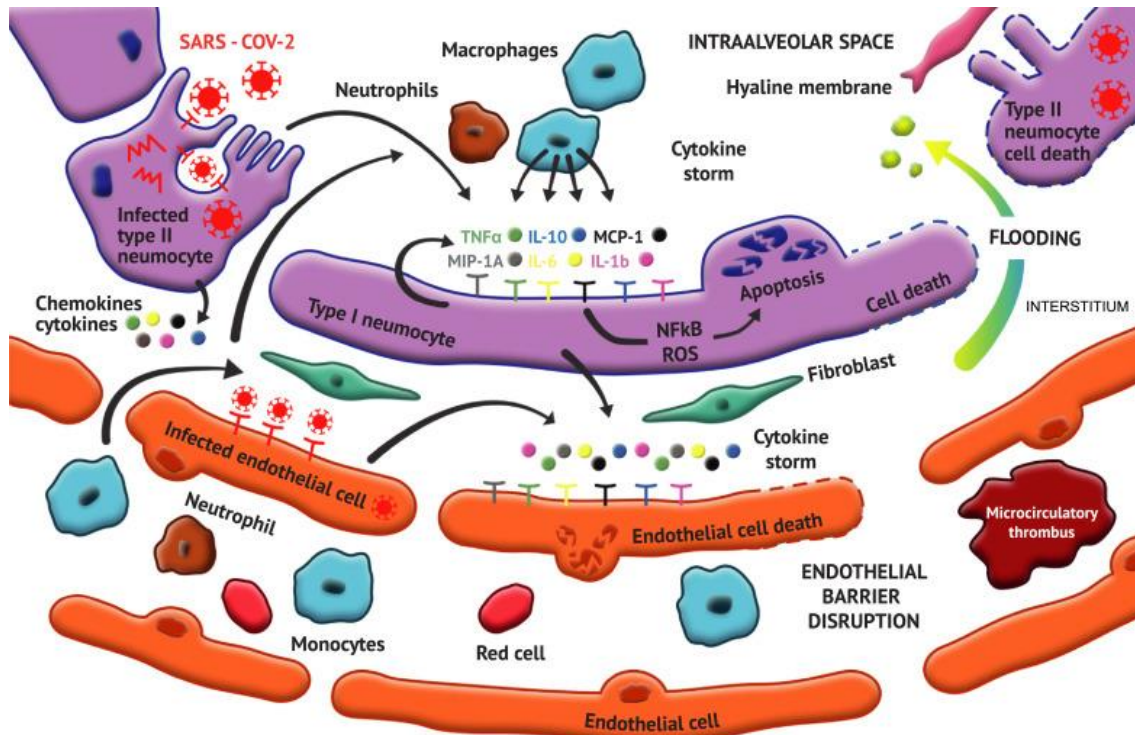


Figura 2. Tormenta de citoquinas. Los neumocitos de tipo II infectados sufren una apoptosis debido a la liberación de citoquinas y quimiocinas proinflamatorias. Esto conlleva a la pérdida de integridad en la barrera alveolocapilar y a un estado hiperinflamatorio que pueden favorecer la aparición de edemas o coágulos. Extraído de **Domingo** et al., 2020.

La respuesta inmunológica excesiva, conocida como tormenta de citoquinas, puede ocasionar daños en diversos órganos del cuerpo y manifestarse con síntomas graves. En situaciones extremas, esta respuesta puede desencadenar el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) o en la muerte del paciente. Es importante destacar que no todas las personas afectadas por COVID-19 experimentarán una tormenta de citoquinas dado que la mayoría de los casos de la enfermedad son leves o moderados (**Domingo** et al., 2020).

1.3. SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA-ALDOSTERONA.

El sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) es un regulador complejo de la homeostasia vascular por activación en cascada hasta la producción de angiotensina y otros mediadores. La acción del SRAA ayuda a mantener una correcta regulación fisiopatológica de órganos como el corazón, los riñones o los pulmones. Sin embargo, su desregulación está implicada en enfermedades como la hipertensión arterial, la

insuficiencia cardíaca y las enfermedades renales. Por esta razón, los medicamentos que actúan sobre este sistema como los inhibidores de la ECA (IECAs) y los antagonistas del receptor de la angiotensina (ARAs) se emplean para tratar la hipertensión y otras condiciones relacionadas (Cafiero et al., 2021; Coto et al., 2021; Pastrian, 2020).

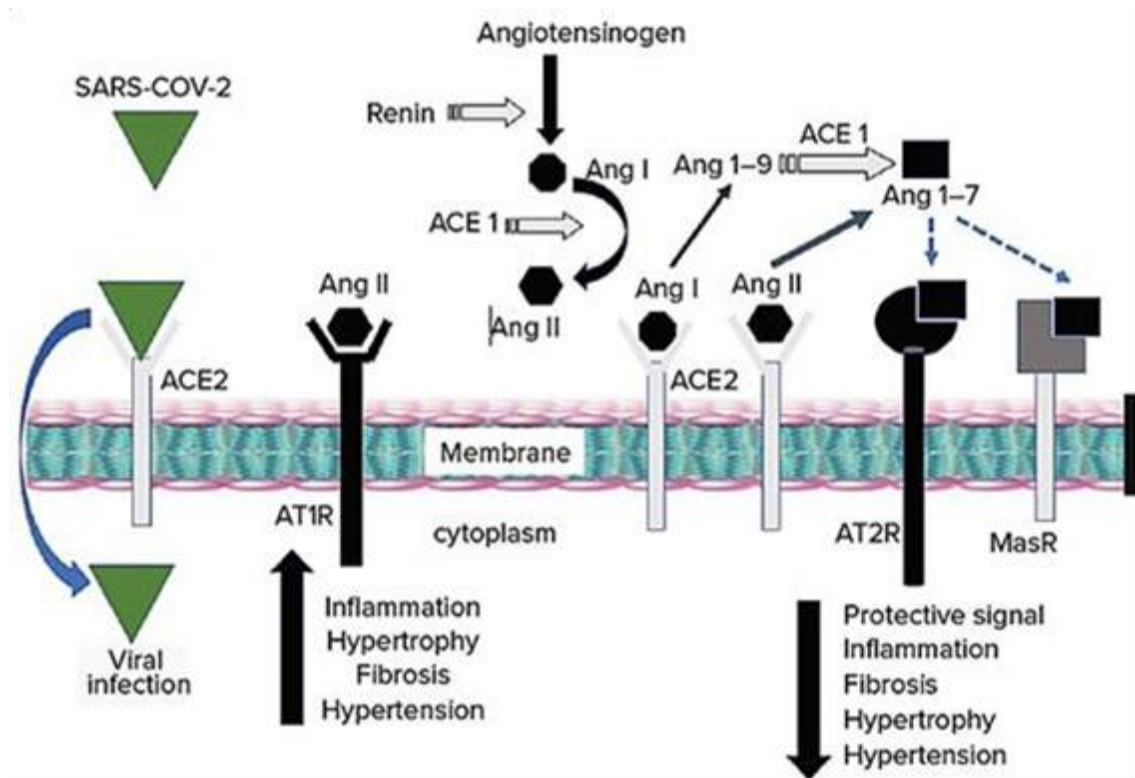


Figura 3. El sistema renina-angiotensina-aldosterona. La renina participa en la formación de angiotensina I, que mediante la acción de ACE-1 se convertirá en angiotensina II que se unirá a AGTR1. ACE-2 cataliza la formación de angiotensina 1-7 a partir de angiotensina II, que se unirá a AGT2R y MasR. Dependiendo de las vías activadas por los AGTRs, el resultado global puede ser perjudicial o beneficioso para la enfermedad cardiovascular. Extraído de Coto et al., 2021.

El angiotensinógeno producido en el hígado es el precursor de la vía, empezando la cascada con su hidrólisis a angiotensina I gracias a la acción de la renina liberada por el riñón (Figura 3). La conversión de la angiotensina I en angiotensina II está mediada por la enzima convertidora de la angiotensina (ACE-1), que se encuentra principalmente en los pulmones, aunque hay una forma circulante en sangre. La angiotensina II se une a un receptor acoplado a proteínas G, el AGTR1. La angiotensina II es un potente vasoconstrictor de los vasos sanguíneos, por lo que niveles elevados aumentan la presión arterial. Además, la unión Ang II-AGTR1 provocará una respuesta inflamatoria, procesos fibróticos, hipertrofia, etc. La angiotensina II también estimula la liberación de

aldosterona, una hormona producida por las glándulas suprarrenales que actúa sobre los riñones para aumentar la reabsorción de sodio y la excreción de potasio, lo que también contribuye a un aumento en la presión arterial (**Bhalla** et al., 2021; **Coto** et al., 2021; **Gómez** et al., 2020).

Los efectos de la Ang II pueden ser contrarrestados por la acción de ACE-2, una proteína de membrana que cataliza la conversión de angiotensina II en angiotensina 1-7. La angiotensina I puede ser catalizada por ACE-2 directamente y transformada en angiotensina 1-9, que se convertirá en angiotensina 1-7 por la acción del ACE-1. La angiotensina 1-7 se une al receptor de angiotensina tipo 2 (AGT2R) y a un receptor acoplado a proteínas G conocido como receptor Mas (MASR), lo que desencadena vasodilatación, procesos antiinflamatorios, efectos antifibróticos, etc. (**Coto** et al., 2021; **Pastrian**, 2020).

Un desequilibrio a favor de ACE-1 promueve la enfermedad cardiovascular y pulmonar, pudiendo provocar hipertensión que es un factor de riesgo para la COVID-19 severa. Los efectos antagónicos han de ser regulados de forma precisa para mantener la homeostasia cardiovascular. Algunos estudios han sugerido que el virus SARS-CoV-2 podría afectar el SRAA y aumentar la expresión de ACE-2, lo que podría tener implicaciones en la gravedad y el pronóstico de la enfermedad (**Coto** et al., 2021).

1.4. COVID-19 Y DESREGULACIÓN DEL SRAA.

Un componente fundamental del SRAA es la enzima convertidora de la angiotensina II, que es el receptor celular para el SARS-CoV-2 (y del SARS-CoV-1) a través de su unión al dominio RBD de la proteína S (**Figura 4**). La unión del virus al ACE-2 disminuiría los receptores disponibles para la angiotensina II e inhibe la activación de la vía AGT2R, por lo que el ACE-2 tendría un papel importante en la inflamación desencadenada por la infección. Las células que expresan niveles más altos de ACE-2 como las epiteliales alveolares de tipo II, los enterocitos del intestino delgado o las células de la cavidad oral y nasofaríngeas, son particularmente susceptibles a la infección (**Caffero** et al., 2021; **Coto** et al., 2021; **Hoffmann** et al., 2020; **Pastrian**, 2020).

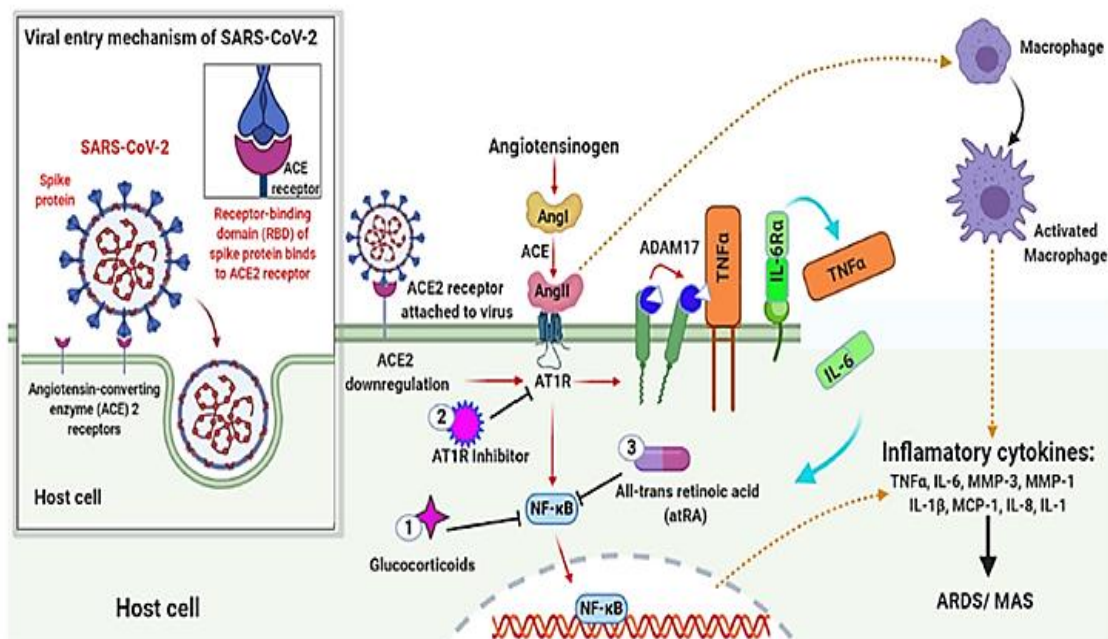


Figura 4. Consecuencias de la infección por el virus SARS-CoV-2 en el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). La interacción entre la proteína S del virus y ACE-2 es esencial para iniciar la infección. El SARS-CoV-2 reduce la expresión de ACE-2, lo que resulta en un aumento de la concentración de Ang II que se une a AGTR1. Esto a su vez regula la expresión de ciertas citoquinas inflamatorias a través de la vía de señalización NF-κB, lo que permite la activación de macrófagos que también generan citoquinas inflamatorias. Todo esto contribuye al desarrollo del síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) y el síndrome de activación macrófagica (MAS). Extraído de **Banu et al., 2020**.

Las variantes genéticas en los componentes del SRAA han sido asociadas con un mayor riesgo de desarrollar diversas enfermedades cardiovasculares, como la hipertensión arterial, la hipertrofia cardíaca y la insuficiencia renal, entre otras. Las variantes genéticas que favorezcan un aumento de la expresión del ACE-2 o un desbalance a favor de ACE-1 y AGTR1 predisponen a enfermedad cardiovascular. Así, el genotipo DD para el polimorfismo de inserción/delección en el intrón 16 del gen ACE-1 se asocia a mayores niveles enzimáticos y riesgo incrementado de hipertensión, hipertrofia cardíaca, nefropatías, etc. Otro ejemplo sería que el alelo C del polimorfismo rs5186 en la región 3' UTR del gen del receptor de angiotensina tipo 1 (AGTR1) asociado a mayor riesgo de desarrollar una enfermedad cardiovascular, fundamentalmente hipertensión (**Cafiero et al., 2021; Coto et al., 2010; Coto et al., 2021; Gómez et al., 2020**).

1.5. ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR Y COVID-19.

La evidencia epidemiológica respalda la asociación entre los factores de riesgo cardiovascular y la gravedad de la enfermedad, así como con una mayor mortalidad en pacientes con COVID-19. Además, los pacientes con manifestaciones más severas de la COVID-19 tienen un mayor riesgo de sufrir problemas cardíacos (**Cheng et al., 2020; Matsushita et al., 2020**).

La edad avanzada, el sexo masculino, el tabaquismo, la hipertensión, la diabetes, la obesidad, la dislipemia o los antecedentes de enfermedad cardiovascular (ECV) aumentan el riesgo de desarrollar formas graves de COVID-19. Todos son frecuentes y representan un importante desafío para la salud a nivel global. Es fundamental tener en cuenta que estos factores de riesgo no son independientes y que pueden interactuar entre sí, lo que se traduce en un incremento del riesgo. De manera general, los factores cardiovasculares están asociados con la edad incrementándose así el riesgo de desarrollar una forma severa de COVID-19 a medida que se envejece (**Berenguer et al., 2021**).

La hipertensión es uno de los factores de riesgo cardiovascular más prevalentes y significativos, así como la comorbilidad más frecuente en pacientes con COVID-19. La última encuesta nacional de salud de 2017 muestra una prevalencia muy alta entre la población española de factores de riesgo cardiovascular y otras enfermedades crónicas. Un 19,8% de la población sufre hipertensión arterial, un 17,9% tiene el colesterol elevado, un 17,4% sufre obesidad y un 7,8% está diagnosticada de diabetes (**Figura 5**). En este escenario cabe esperar que las poblaciones con mayor prevalencia de estos factores sean más vulnerables a la COVID-19 severa con mortalidad elevada (**Gobierno de España, 2018; Oparil et al., 2018**).

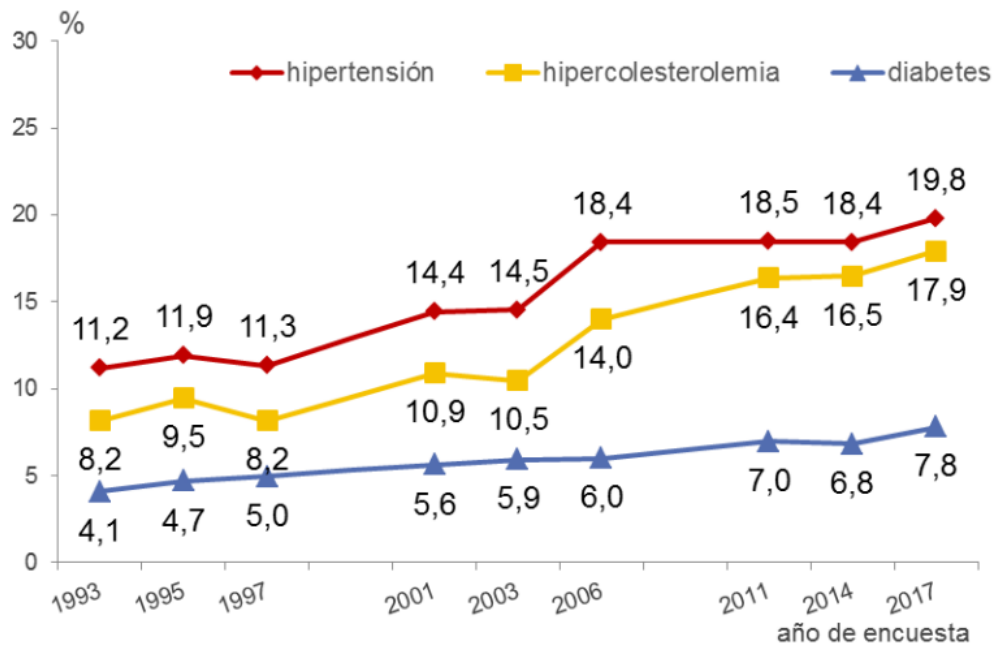


Figura 5. Evolución de las principales comorbilidades en España desde 1993 hasta 2017. A lo largo de estos años, ha aumentado la prevalencia de factores de riesgo cardiovascular y de otras enfermedades crónicas. A fecha de 2017 todos ellos aumentaron al menos un punto porcentual. Estas cifras resultan preocupantes ya que un exceso de comorbilidades aumenta el riesgo de sufrir un COVID-19 severo. Extraído del **Gobierno de España**, 2018.

Desde el punto de vista fisiopatológico el estado inflamatorio crónico subyacente en personas con comorbilidades puede ser un factor de riesgo. Se sabe que los pacientes con estas condiciones presentan niveles elevados de marcadores inflamatorios y el riesgo de desarrollar eventos trombóticos en personas con un estado inflamatorio elevado se incrementa tras la infección por el SARS-CoV-2.

La infección por COVID-19 puede tener también importantes implicaciones en el riesgo cardiovascular. El SARS-CoV-2 se une a los receptores de la enzima convertidora de angiotensina II (ACE-2) y ACE-2 contrarresta la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona al degradar la angiotensina II y convertirla en angiotensina 1-7. La angiotensina II es un vasoconstrictor potente implicado en la fisiopatología de las enfermedades cardiovasculares, mientras que la angiotensina 1-7 ha demostrado tener efectos cardioprotectores, posiblemente debido a sus propiedades vasodilatadoras, antifibróticas, antiinflamatorias y antitrombóticas. Esto incluye la inhibición de citoquinas proinflamatorias y la reducción de la formación de trombos. La disminución de la expresión del receptor ACE-2 inducida por la unión del SARS-CoV-2 puede llevar

a un desequilibrio entre la angiotensina II y la angiotensina 1-7, lo que resulta en alteraciones en la homeostasis circulatoria normal, especialmente en el endotelio de los capilares pulmonares. Este desequilibrio puede contribuir a la coagulopatía microvascular inmunotrombótica asociada con el compromiso respiratorio en COVID-19 (**Lau & McAlister**, 2021; **Cheng et al.**, 2020).

1.6. VARIACIÓN GENÉTICA Y RIESGO DE COVID-19.

Los factores de riesgo mencionados se relacionan principalmente con aspectos adquiridos a través del estilo de vida. Sin embargo, existe también un componente genético de predisposición a patología cardiovascular mediada por genes como los del SRAA. Por otro lado, el componente de riesgo genético para la COVID-19 severa también se ha constatado en varios estudios, incluidos algunos a escala del genoma completo como los GWAs (*Genome wide association studies*) o secuenciación de exomas. Los genes cuyas variantes se han relacionado con el riesgo de COVID-19 pertenecen a varias vías/mecanismos implicados en la infección y/o la respuesta inmunitaria. Entre otros, las variantes en los genes del SRAA podrían conferir riesgo de desarrollar enfermedad severa, aunque el efecto podría estar mediado por un riesgo de hipertensión conferido por estos genes (**Gómez et al.**, 2020).

En términos globales, la región del genoma que muestra el mayor grado de asociación en todos los estudios publicados es una del cromosoma 3 que contiene el “cluster” de citoquinas y receptores de citoquinas (CCR1, CCR9, CCR5) (**Ellinghaus et al.**, 2020).

1.7. ANTICUERPOS ANTI-ANG II EN LA COVID-19.

Ciertas complicaciones graves como la dificultad respiratoria, la desregulación de la presión arterial o la formación de coágulos sanguíneos son características de la infección por SARS-CoV-2. Una disminución en la actividad del ACE-2, principal receptor de entrada del virus en las células podría explicar esas complicaciones al catalizar la conversión de un péptido vasoconstrictor en uno vasodilatador (**Briquez et al.**, 2022).

La presencia de autoanticuerpos contra varias proteínas podría contribuir a la COVID-19 severa. Así, autoanticuerpos contra proteínas de la coagulación o contra interferones se han identificado en un número significativamente elevado de pacientes con COVID-19 severo, especialmente a edades avanzadas. Recientemente, se ha descrito la presencia de autoanticuerpos contra la Ang II en casos severos, lo que se asocia con una desregulación de la presión arterial y una menor capacidad de oxigenación. Una respuesta inflamatoria más intensa y una mayor gravedad de la enfermedad en pacientes con COVID-19 se ha relacionado también con la presencia de autoanticuerpos específicos contra AGTR1 y ACE-2. La respuesta inmunitaria dirigida a las proteínas S o al dominio de unión al receptor (RBD) del SARS-CoV-2 puede también generar anticuerpos anti-Ang II, que tienen la capacidad de unirse tanto a la Ang II como a las proteínas Spike/RBD ya que ambas tendrían regiones epitópicas similares. Estaríamos así ante un mecanismo retroalimentado en el que la infección dispara una respuesta con anticuerpos antivirales que a su vez puedan reconocer componentes del SRAA con la consiguiente desregulación cardiovascular (**Briquez et al., 2022**).

1.8. LA COVID-19 EN ASTURIAS.

Hasta el 16 de junio de 2023 en España se habían registrado 13.905.048 de casos confirmados de COVID-19 y 121.622 fallecimientos. Estas cifras serían más bajas de las reales, especialmente para los infectados ya que muchos asintomáticos no han sido registrados al carecer de tests positivos (**Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias, 2023**).

En el Principado de Asturias hemos tenido 5 oleadas pandémicas desde febrero del 2020 (**Figura 6**). Aunque en España hubo seis oleadas pandémicas en Asturias la cuarta ola apenas tuvo incidencia, por lo que nuestra cuarta se corresponde con la quinta española. La pandemia en Asturias comenzó oficialmente el 29 de febrero de 2020, cuando se registró el primer caso en la región. A medida que se sucedieron las oleadas de la pandemia, surgieron y se identificaron diferentes variantes del virus SARS-CoV-2. Durante la primera y segunda oleada, predominó la variante original del virus (Wuhan-1). En la tercera oleada, destacó la variante inglesa o alfa. En las cuarta y quinta oleada, dominó la variante delta (**Dirección General de Salud Pública, 2022**).

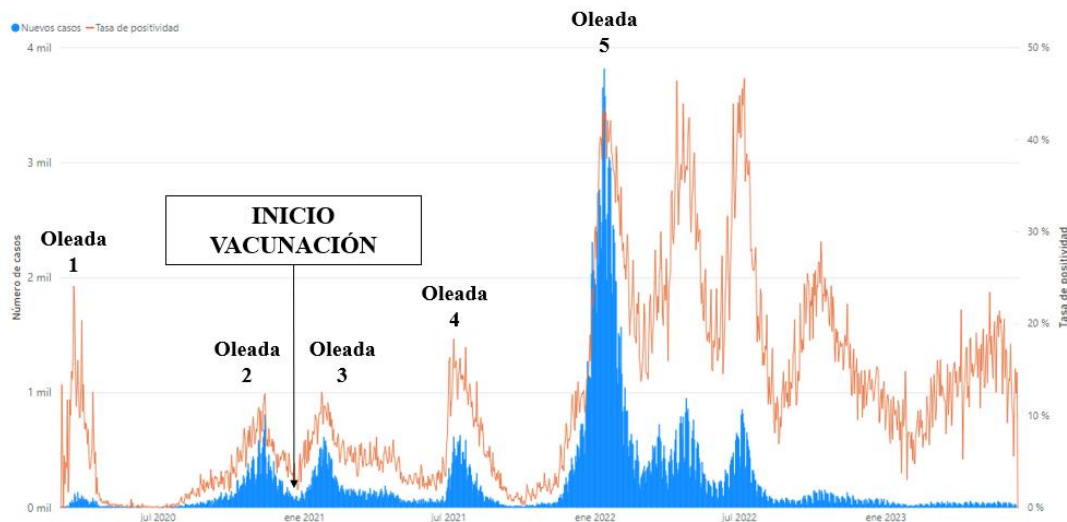


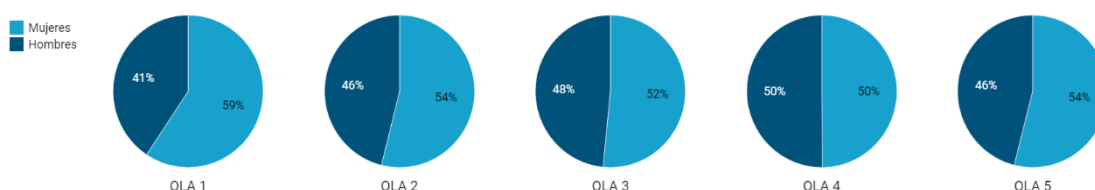
Figura 6. Evolución de la pandemia por COVID-19 en Asturias. La primera y segunda oleadas estuvieron dominadas por la variante original de Wuhan, la tercera por la variante alfa o inglesa y la cuarta y la quinta por la variante delta. En enero de 2021 comenzó la campaña de vacunación en los mayores de 65 y en los colectivos de riesgo. Modificado del **Observatorio de Salud del Principado de Asturias** (<https://obsaludasturias.com/obsa/>).

En Asturias hay registrados un total de 269.089 casos, de los cuales un 55% serían mujeres. Durante la primera oleada, que coincidió con el período de confinamiento general en España, se registró el menor número de casos de todas las oleadas, aunque con alta mortalidad asociada. Tanto la segunda como la tercera oleada presentaron números de casos bastante similares, pero se caracterizaron por el notable incremento de ingresos en los centros sociosanitarios y elevada mortalidad. La cuarta oleada afectó principalmente a la población joven, no vacunada aún, y con una incidencia hospitalaria baja probablemente gracias a la protección de la vacuna sobre los mayores de 65 años. La quinta oleada fue la más grande en número de casos, con 122.950 confirmados y casi 4.000 diagnosticados en un solo día. Esto generó un fuerte incremento en las tasas de hospitalización, aunque no se llegó al punto de colapso asistencial al estar vacunada casi toda la población de riesgo (**Dirección General de Salud Pública, 2022**).

La campaña de vacunación se inició en enero de 2021, entre el pico de la segunda y la tercera oleada. Este hecho marca dos momentos fundamentales de la pandemia. Dentro de la estrategia de vacunación en España se utilizaron las vacunas basadas en ARN mensajero de Pfizer/BioNTech y Moderna, y en menor grado las basadas en un vector adenoviral de AstraZeneca-Oxford o Janssen/Johnson & Johnson. En un principio, se dio prioridad a la vacunación de personas mayores de 65 años por ser el grupo de mayor

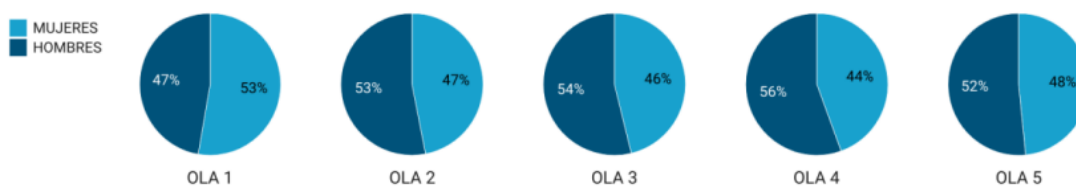
vulnerabilidad, así como a los colectivos de riesgo como los trabajadores del sector sociosanitario. Posteriormente se amplió la vacunación al resto de los grupos de edad. Durante las dos últimas oleadas analizadas, la mayoría de la población en Asturias ya había completado la pauta de vacunación contra la COVID-19, y a 15 de junio de 2023 un total de 932.128 personas habían recibido la pauta completa de vacunación en Asturias, lo que supone el 92,78% del total con un 95,34% de la población diana (Darby & Hiscox, 2021; Dirección General de Salud Pública, 2022; Vasireddy et al., 2021).

Casos COVID-19 según ola y sexo. Asturias, 2020-22.



DIRECCION GENERAL DE SALUD PUBLICA. Hasta 27.02.2022. Datos provisionales. Definición Ministerio
 Gráfico: Observatorio de Salud en Asturias. OBSA • Fuente: Sistema Vigilancia Epidemiológica Asturias • Descargar los datos • Creado con Datawrapper

Casos COVID-19 con ingreso en hospital según ola y sexo. Asturias, 2020-22.



DIRECCION GENERAL DE SALUD PUBLICA. Hasta 27.02.2022. Datos provisionales. Definición Ministerio
 Gráfico: MM, MH y EG para Observatorio de Salud en Asturias. OBSA • Fuente: Sistema Vigilancia Epidemiológica Asturias • Creado con Datawrapper

Figura 7. Distribución por sexo y ola de los casos COVID-19 y de los ingresos en hospital por COVID-19 en Asturias. En Asturias, las mujeres representan más del 50% de los casos de COVID-19 registrados, aunque ingresaron en menor proporción en planta hospitalaria. Extraído del Observatorio de Salud del Principado de Asturias (<https://obsaludasturias.com/obsa/>).

En líneas generales, a lo largo de las distintas oleadas, se evidencia una mayor incidencia de casos en mujeres, posiblemente debido a su mayor representación en el sector sociosanitario. No obstante, al analizar las hospitalizaciones se observa que a pesar de que el número de mujeres contagiadas es mayor, la tasa de ingreso de hombres es más elevada, especialmente en las unidades de cuidados intensivos (Figura 7) (Dirección General de Salud Pública, 2022).

La prevalencia más alta de hombres entre los pacientes ingresados en UCI durante la pandemia indicaría que el sexo masculino sea un factor de riesgo para desarrollar

formas más graves de COVID-19 (**Figura 8**). La edad promedio de los pacientes en Asturias fue de 46,01 años. Las personas que fueron ingresadas presentaron una edad promedio de 72 años, con 64 años para las que ingresaron en UCI (**Dirección General de Salud Pública, 2022**).



Figura 8. Distribución por sexo de los ingresos por COVID-19 en UCI en Asturias. A pesar de la mayor representación femenina entre el número total de contagiados son los varones los que ingresan en las unidades de cuidados intensivos en mayor proporción. Extraído del Observatorio de Salud del Principado de Asturias (<https://obsaludasturias.com/obsa/>).

Durante las diferentes oleadas de la pandemia se ha notado un cambio notable en la distribución de casos por edad, probablemente como consecuencia de la vacunación e infecciones previas y de la evolución del virus a través de sus variantes. En particular, se ha observado una reducción en la edad promedio de casos durante las oleadas 4 y 5. Durante la primera oleada, el promedio de edad fue de 62 años hasta disminuir a 33 años en la cuarta oleada, en la cual hubo una prevalencia elevada entre jóvenes. Este fenómeno puede ser atribuido al inicio de la vacunación para las personas mayores de 65 años y los colectivos de alto riesgo en enero de 2021 (**Dirección General de Salud Pública, 2022**).

Se estima que el número de fallecidos debido a o por causa del COVID-19 ha sido de 3.534 personas, con los mayores de 85 años presentando las tasas más altas de defunción. Este grupo etario es más vulnerable con una mayor prevalencia de enfermedades crónicas como hipertensión, cardiopatía, demencia, diabetes o insuficiencia renal, lo que puede contribuir a un mayor riesgo de fallecimiento por COVID-19. Se ha observado una disminución considerable en la tasa de letalidad, pasando del 10% en la primera oleada a sólo un 2,6% del total de casos, debido al aumento de casos entre los jóvenes durante las dos últimas oleadas (**Dirección General de Salud Pública, 2022**).

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

El sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) juega un papel fundamental en la patogenia de la COVID-19, a través del papel de ACE-2 como receptor de SARS-CoV-1 y de su regulación de la homeostasia cardiovascular. Siendo las patologías cardiovasculares, como la hipertensión, factores de riesgo para COVID-19 severo y mortalidad asociada. Por otro lado, las variantes genéticas en los genes del SRAA (ACE-1, ACE-2, AGTR1 y AGT) se han asociado al riesgo de enfermedad cardiovascular y de COVID-19 severo. Nuestra hipótesis ha sido que estas variantes genéticas podrían conferir riesgo genético para COVID-19 severo que requería hospitalización, de forma dependiente o independiente de las patologías cardiovasculares previas. Para verificarla hemos diseñado un estudio con los siguientes objetivos:

1. Determinar el perfil de variables antropométricas (edad, sexo) y cardiovasculares (hipertensión, diabetes, dislipemia) preexistentes al ingreso por neumonía en la planta COVID-19 del HUCA, durante las oleadas pandémicas 1-5.
2. Analizar las frecuencias de las variantes genéticas del SRAA en los pacientes anteriores. En concreto, las variantes de ACE-2 (rs2285666), ACE-1 (rs4343), AT1R (rs5186) y AGT (rs4762).
3. Definir la correlación entre las variantes genéticas del SRAA y las hipertensión, diabetes y dislipemia en estos pacientes.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

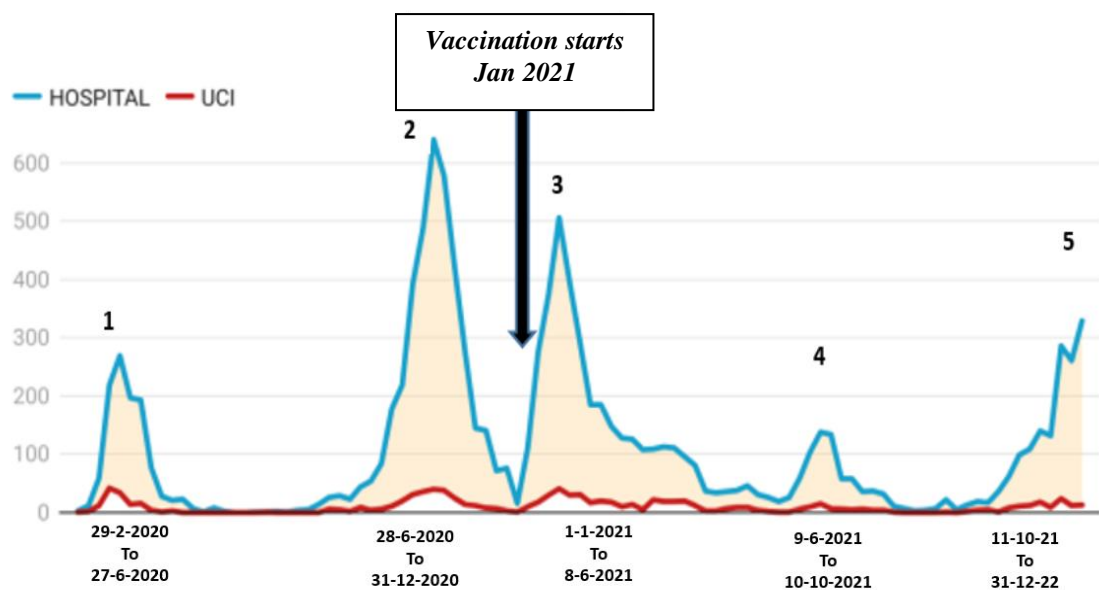
3.1. PACIENTES DEL ESTUDIO.

El trabajo realizado se enmarca en un proyecto financiado por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) en la convocatoria del 2021, cuyo objetivo es conocer la base genética de la COVID-19 severa. Cuenta con la aprobación del Comité de Investigación Ética de Asturias, y todos los pacientes o sus tutores (en caso de incapacidad de aquellos) dieron consentimiento para participar en el estudio.

Las variables analizadas se recogieron en una hoja Excel a partir de las historias clínicas de los pacientes por los facultativos de la planta COVID-19 del HUCA. Para todos los pacientes se reclutaron datos sobre la fecha de ingreso, edad, sexo, vacunación frente a la COVID-19 y presencia de comorbilidades hipertensión, dislipemia y diabetes preexistentes.

El único criterio de inclusión fue el ingreso hospitalario por neumonía bilateral con test positivo para SARS-CoV-2. Se excluyeron pacientes con inmunodepresión, ya que presentan un riesgo de COVID-19 inherente a su condición, y pacientes de origen no caucásico para evitar los sesgos en las frecuencias génicas introducidos por la mezcla de poblaciones diferentes. Además, se excluyeron aquellos pacientes que sólo habían recibido una dosis de la vacuna contra la COVID-19, ya que no contaban con la pauta completa.

En total se reclutaron 700 pacientes entre marzo de 2020 y enero de 2022, de oleadas dominadas por las variantes Wuhan (original y modificada), alfa (o inglesa), y delta. Por tanto, se trata de ingresos en las oleadas 1-4 completas y principio de la quinta (anterior a la expansión de Ómicron). Las oleadas 4-5 están condicionadas por la campaña de vacunación, que empezó en enero de 2021 coincidiendo con el pico de la oleada 3 (**Figura 9**).



OLA	Comienzo	Fin	Significado
OLA 1	29.02.2020	27.06.2020	
OLA 2	28.06.2020	31.12.2020	
OLA 3	1.01.2021	8.06.2021	
OLA 4	9.06.2021	10.10.2021	Equivale a OLA 5 en España
OLA 5	11.10.2021	continúa	Equivale a OLA 6 en España

Figura 9. Análisis de las oleadas de la pandemia en Asturias. Oleadas 1-5 dominadas por las variantes Wuhan (original y modificada), alfa (o inglesa), y delta. Aunque en España hubo seis oleadas pandémicas en Asturias la cuarta ola apenas tuvo incidencia, por lo que nuestra cuarta se corresponde con la quinta española. La campaña de vacunación comenzó en enero de 2021. Modificado del **Observatorio de Salud del Principado de Asturias** (<https://obsaludasturias.com/obsa/>).

3.2. GENOTIPADO DE LOS POLIMORFISMOS.

A partir de los leucocitos de la sangre se obtuvieron las muestras de ADN que fueron almacenadas posteriormente a -20°C en el Laboratorio de Genética Molecular del HUCA. Disponíamos por tanto de una genoteca de ADN de los pacientes almacenada como colección de muestras registrada en el ISCIII.

Estudiamos cuatro polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) vinculados con el riesgo de enfermedades cardiovasculares por sí mismos o por hallarse en desequilibrio de ligamiento con otras variables en los genes del SRAA: rs2285666 (ACE-2), rs4343 (ACE-1), rs5186 (AGTR1) y rs4762 (AGT). Todos fueron determinados mediante PCR en tiempo real con ensayos de discriminación alélica con sondas TaqMan (Thermo

Fisher Scientific). Cada genotipado se realizó a partir de 50 nG de ADN en placas de 96 pocillos en un equipo ABI7500. Se analizó la fluorescencia de las dos sondas alélicas, marcadas en 5' con los fluorocromos FAM o VIC, y en 3' con MGB (quencher de Fisher Sci™). Tras la visualización de la fluorescencia cada muestra fue caracterizada como homocigota (un solo color) o heterocigoto (dos colores) (**Figura 10**). El gen ACE-2 se encuentra en el cromosoma X por lo que sólo las mujeres estudiadas podrían ser heterocigotas.

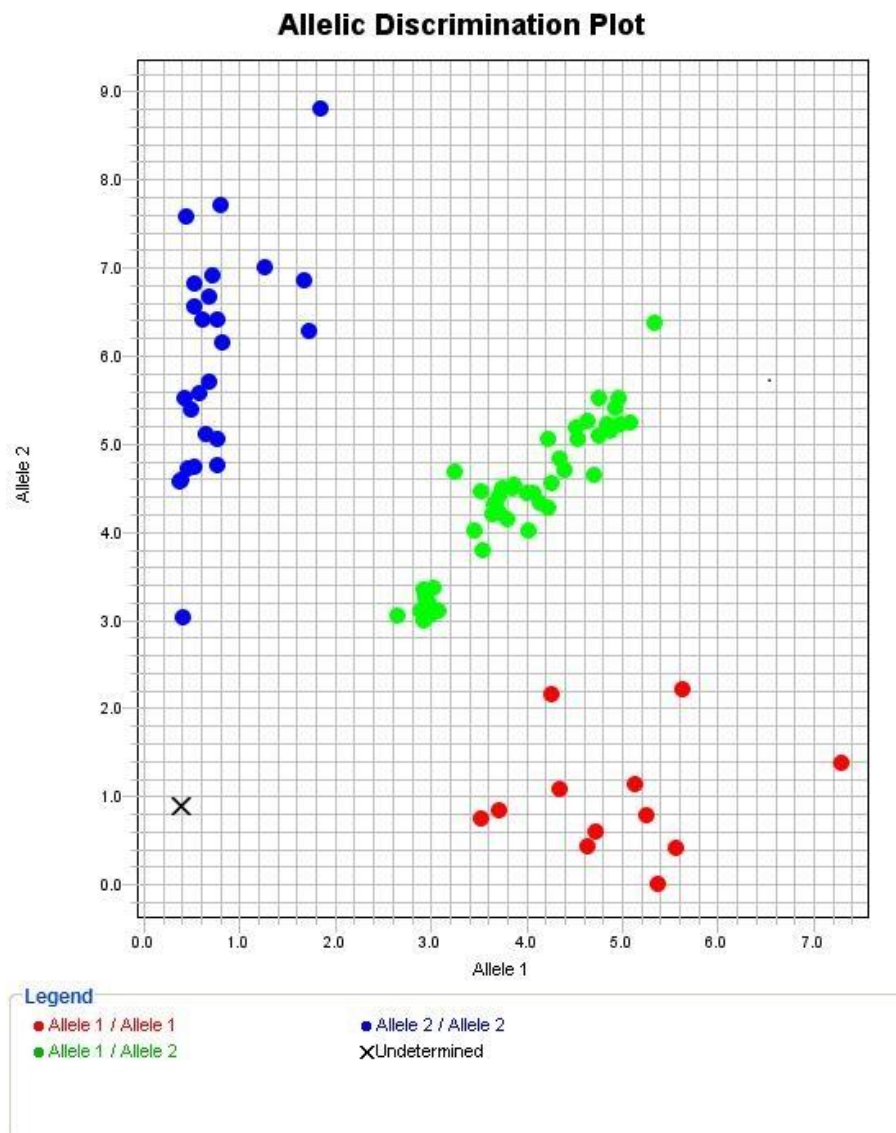


Figura 10. Ensayo TaqMan para el rs4343 (ACE-1). En la figura se observan los heterocigotos AG (verde), los homocigotos AA (rojo) y los homocigotos GG (azul).

Todos los genotipos de cada paciente se incluyeron en la base Excel con el resto de las variables.

3.3. FRECUENCIAS DESCRITAS DE LOS ALELOS/GENOTIPOS.

Las frecuencias alélicas de los SNPs en otras poblaciones fueron extraídas de la base de datos genómicos *Ensembl* (<https://www.ensembl.org>) (**Figura 11**). Las frecuencias halladas en nuestro estudio son similares a las descritas para la población general.

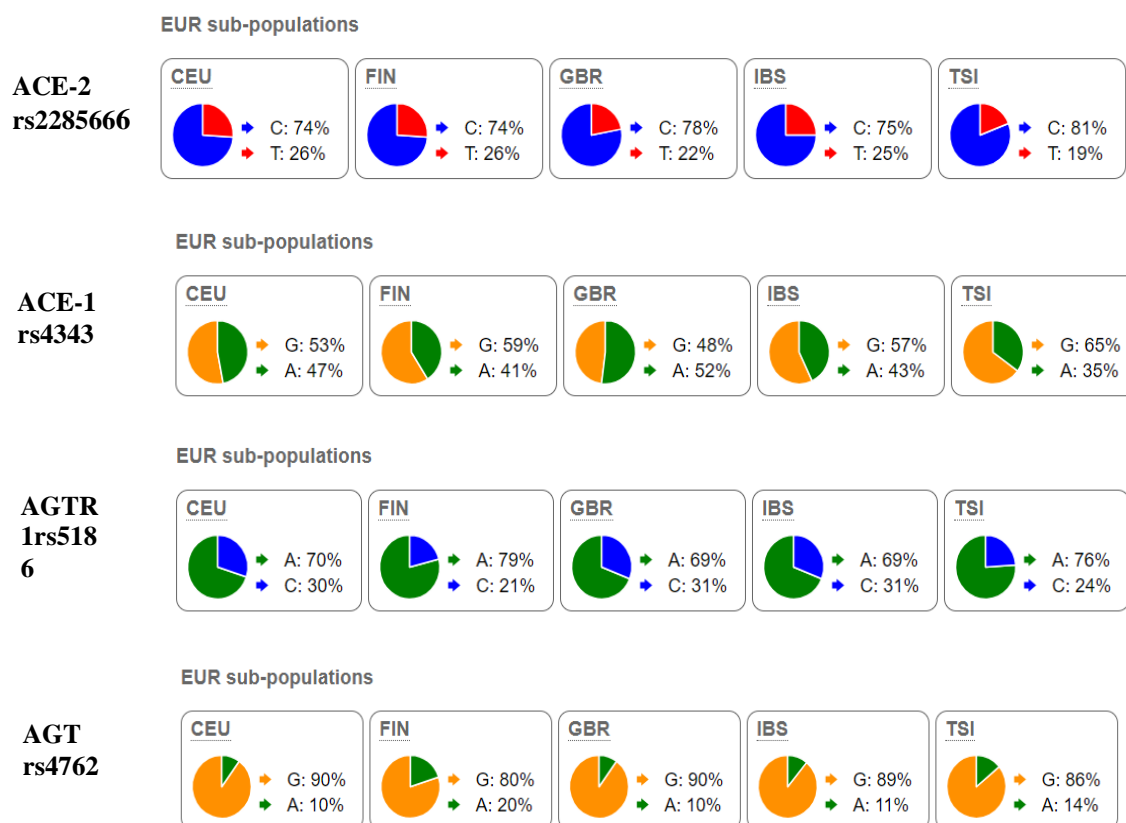


Figura 11. Frecuencias alélicas de los 4 SNPs analizados en diferentes subpoblaciones europeas: finlandeses (FIN), británicos (GBR), españoles (IBS) e italianos de La Toscana (TSI). Extraído de *Ensembl* (<https://www.ensembl.org>).

Las frecuencias de estos SNPs en la población de Asturias son conocidas por trabajos previos del grupo investigador EJE CARDIORENAL, consolidado del ISPA (Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias), y han sido publicados en varios artículos. Siendo todos similares a los descritos entre los Caucásicos en la base *Ensembl*.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

En un base de datos Excel se almacenó toda la información relativa a los sujetos del estudio: oleada de hospitalización, sexo, edad, vacunación frente a la COVID-19, presencia de comorbilidades tales como hipertensión, dislipemia y diabetes y genotipo para cada uno de los cuatro polimorfismos. Para el análisis estadístico se hizo uso del software libre R (www.r-project.org).

En la estadística descriptiva se determinó la distribución de las variables edad, sexo, hipertensión, diabetes, dislipemia y los genotipos para cada una de las oleadas pandémicas. Se analizaron los pacientes vacunados por separado de los no vacunados. Se dicotomizó la variable de la edad en menores y ≥ 65 de años, dado que es el corte de edad para priorizar la vacunación. Y, por otro lado, es la edad de corte que se considera para dividir a los pacientes COVID-19 entre precoz (*early-onset*) y tardío (*late-onset*) y maximizar la asociación genética que se manifiesta preferentemente en sujetos más jóvenes.

Se utilizaron pruebas χ^2 para la comparación de las frecuencias con una $p < 0.05$ como el nivel de significación para rechazar la hipótesis nula. Se empleó un software online de WpCalc (<https://wpcalc.com/en/equilibrium-hardy-weinberg/>) para determinar si las frecuencias halladas de los genotipos de los polimorfismos se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg. En ninguna de las comparaciones, los SNPs presentaron desviación significativa de lo que se esperaba según el principio de Hardy-Weinberg.

Se realizó un análisis utilizando regresión logística con el modelo lineal generalizado (LGM) para determinar la independencia de las variables génicas que mostraban alguna asociación significativa con otras variables. Por ejemplo, se examinó si las diferencias entre vacunados y no vacunados para un genotipo podrían atribuirse a la edad, el sexo, la hipertensión, la diabetes y la dislipemia, incluyendo estas covariables en el LGM.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA.

En la **tabla 1** se resumen las principales variables antropométricas y de riesgo cardiovascular de los pacientes estudiados. En este estudio sólo se han incluido pacientes no vacunados o vacunados con pauta completa (2 o 3 dosis) ingresados durante las oleadas pandémicas entre marzo de 2020 y enero de 2022. Ninguno de los pacientes de las tres primeras oleadas había recibido ninguna dosis de la vacuna contra la COVID-19. Las diferencias entre las primeras tres oleadas son mínimas, excepto por un menor promedio de edad en la tercera oleada. La tercera oleada coincidió con el inicio de la vacunación, lo que significó que las personas mayores de 65 años comenzaron a estar protegidas a partir de enero de 2021, de manera que la menor edad media de la tercera oleada se asocia con una menor presencia de personas mayores de 65 años, que pasaron a estar protegidas frente a enfermedad severa. La cuarta oleada y la quinta tuvieron lugar una vez que ya se había iniciado la campaña de vacunación y fueron causadas mayoritariamente por la variante delta. Estudiamos en total 700 pacientes: 583 no vacunados (oleadas 1-5) y 117 con pauta completa (oleadas 4-5).

Tabla 1. Estadística descriptiva de la muestra (N=700) separada en no vacunados y vacunados frente a la COVID-19.

	Oleadas 1-5 <u>NO VACUNADOS</u> N=583	Oleadas 4-5 <u>VACUNADOS</u> N=117	P-valor <i>NO VAC vs VAC</i>
Hombres	339 (58%)	80 (68%)	0.03942
Mujeres	244 (42%)	37 (32%)	
Edad media	57,42	70,47	2.2x10 ⁻¹⁶
Rango edad	16-95	38-95	
< 65 años	388 (67%)	32 (27%)	2.808x10 ⁻¹⁵
Hipertensos	188 (32%)	72 (62%)	0.000000002175
Diabéticos	106 (18%)	37 (32%)	0.0009978
Dislipémicos	176 (30%)	59 (50%)	0.00002331

El 58% de los ingresados sin vacunar y el 68% de los vacunados son hombres, lo que indicaría que el sexo masculino es un factor de riesgo para desarrollar formas más graves de COVID-19. Esto se constata con más fuerza en los pacientes ingresados en UCI, donde alrededor del 75% eran hombres. Observamos diferencias según la pauta de vacunación contra la COVID-19. La vacunación comenzó en los mayores de 65 años y este hecho se manifiesta en el grupo sin vacunar, donde el 67% eran menores de 65 años con una edad media de 57,42 años y una frecuencia de hipertensión del 32%. Sólo un 27% de los pacientes vacunados tenían menos de 65 años, en concordancia con un efecto protector de la vacuna frente a enfermedad severa. La edad media en este grupo era de 70,47 años y la presencia de comorbilidades, como la hipertensión, que se asocian con la edad, aumentó hasta el 62%. Existen diferencias significativas entre los no vacunados y vacunados para el sexo, la edad, <65, hipertensión, diabetes y dislipemia (**Tabla 1**).

Dado que las variables cardiometabólicas se asocian con la edad y que hemos establecido un corte en <65 por la campaña de vacunación, separamos los ingresados según < 65 y ≥ 65 años y según pauta de vacunación (**Tabla 2**).

Tabla 2. Estadística descriptiva de la muestra (N=700) separados por edad y pauta de vacunación.

	< 65 N=420		≥ 65 N=280	
	<u>NO VACUNADOS</u> N= 388	<u>VACUNADOS</u> N=32	<u>NO VACUNADOS</u> N=195	<u>VACUNADOS</u> N=85
Hombres	229 (59%)	22 (69%)	110 (56%)	58 (68%)
Mujeres	159 (41%)	10 (31%)	85 (44%)	27 (32%)
Edad media	48,17	56,50	75,83	75,72
Rango edad	16-64	38-64	65-95	65-05
Hipertensos	66 (17%)	13 (41%)	122 (62%)	59 (69%)
Diabéticos	36 (9%)	8 (25%)	70 (36%)	29 (34%)
Dislipémicos	94 (24%)	18 (56%)	82 (42%)	41 (48%)

Se observa una mayor frecuencia de las comorbilidades hipertensión, diabetes y dislipemia entre los no vacunados ≥ 65 frente a los no vacunados < 65, lo que se asocia con su mayor edad media, con diferencias significativas ($p=2.2 \times 10^{-16}$; $p= 3.772 \times 10^{-15}$;

p=0.000009728, respectivamente). Entre los vacunados < 65 hay una frecuencia de hipertensos del 41% y entre los ≥ 65 años del 69%, esta diferencia significativa (p=0.004331) se asocia a una mayor edad de los ≥ 65 años (**Tabla 2**).

Se observan diferencias significativas entre los no vacunados y vacunados menores de 65 años para la edad (p=0.000002013), hipertensión (p=0.001018), diabetes (p=0.005251) y dislipemia (p=0.00008241). No se observan dichas diferencias significativas entre los no vacunados y vacunados ≥ 65 años (**Tabla 2**).

4.2. GENOTIPOS ACE-1 EN LOS PACIENTES COVID-19.

En la **tabla 3** se muestran las frecuencias de los genotipos y alelos del polimorfismo del gen ACE-1.

Tabla 3. Frecuencias de los genotipos ACE-1 separados por edad y pauta de vacunación (N=696).

ACE-1 rs4343 A/G	< 65 N=418		≥ 65 N=278	
	<u>NO VACUNADOS</u>	<u>VACUNADOS</u>	<u>NO VACUNADOS</u>	<u>VACUNADOS</u>
	N=388	N=30	N=195	N=83
GG	118 (30%)	8 (27%)	75 (39%)	21 (25%)
AG	201 (52%)	10 (33%)	84 (43%)	26 (31%)
AA	69 (18%)	12 (40%)	36 (18%)	36 (44%)
A	0.44	0.57	0.4	0.41
G	0.56	0.43	0.6	0.59

Para el polimorfismo del gen ACE-1 en los menores de 65 años podemos ver una mayor frecuencia del alelo A en los vacunados frente a los no vacunados, con los homocigotos AA más frecuentes (40% vs 18%), con significación estadística (p=0.01054). Para los ≥ 65 años, observamos también una mayor frecuencia de los homocigotos AA en los vacunados frente a los no vacunados, con significación estadística (p=0.00007859) (**Tabla 3**).

El polimorfismo rs4343 A/G del ACE-1 se encuentra en desequilibrio de ligamiento con el polimorfismo ACE-I/D (G-D y A-I). El genotipo GG se corresponde con el DD que

se ha relacionado con concentraciones más altas de la enzima convertora de la angiotensina (ECA) y mayor riesgo cardiovascular. La frecuencia del alelo A que hemos obtenido en nuestro estudio para el conjunto de pacientes es similar a la descrita en europeos, por lo que este alelo no desempeñaría un papel significativo en el riesgo de hospitalización por COVID-19. En un estudio previo con pacientes de las primeras dos oleadas, se identificó una mayor prevalencia del genotipo DD en pacientes en UCI, mientras que se observaron frecuencias más bajas en los controles y aún más bajas en los pacientes hospitalizados que no requerían cuidados intensivos (**Gómez et al., 2020**).

Se aplicó una regresión logística para determinar la relación entre la mayor frecuencia de los homocigotos AA en el conjunto de pacientes < 65 vacunados frente a los no vacunados con el resto de las variables estudiadas. Con el resultado de que se mantenían significativas tanto el genotipo AA ($p=0.012013$) y la dislipemia ($p=0.000536$). Podemos concluir que el genotipo AA es de riesgo para el ingreso por COVID-19 en pacientes vacunados menores de 65 años independientemente de la presencia de dislipemia.

Tabla 4. Distribución de los genotipos ACE-1 según las variables de interés en los < 65 separados por pauta de vacunación.

	ACE-1 rs4343 A/G					
	< 65 N=418					
	<u>NO VACUNADOS</u> N=388			<u>VACUNADOS</u> N=30		
	GG N=118	AG N=201	AA N=69	GG N=8	AG N=10	AA N=12
HOMBRES	74 (32%)	121 (53%)	34 (15%)	5 (25%)	7 (30%)	8 (40%)
MUJERES	44 (28%)	80 (50%)	35 (22%)	3 (30%)	3 (30%)	4 (40%)
HTA SI	27 (41%)	30 (45%)	9 (14%)	5 (42%)	1 (8%)	6 (50%)
HTA NO	91 (28%)	171 (53%)	60 (19%)	3 (17%)	9 (50%)	6 (33%)
DIAB SI	14 (39%)	17 (47%)	5 (14%)	4 (50%)	2 (25%)	2 (25%)
DIAB NO	104 (30%)	184 (52%)	64 (18%)	4 (18%)	8 (36%)	10 (46%)
HIPERL SI	27 (29%)	54 (57%)	13 (14%)	7 (39%)	5 (28%)	6 (33%)
HIPERL NO	91 (31%)	147 (50%)	56 (19%)	1 (8%)	5 (42%)	6 (50%)

Se observa una mayor prevalencia del genotipo GG entre los individuos hipertensos tanto vacunados como no vacunados menores de 65 años. Para el conjunto total de pacientes menores de 65 años los GG eran el 41% de los hipertensos y el 28% de los normotensos, con $p=0.05086$ (**Tabla 4**). Existe una asociación entre el genotipo GG y el riesgo de hipertensión. La relación entre estas variantes genéticas y el riesgo de desarrollar hipertensión en la población general ha sido ampliamente investigada en el campo de la genética humana. Estudios previos habían asociado el genotipo rs4343 GG y la hipertensión dada la mayor actividad de la ECA (**Dhanachandra Singh et al., 2014; Gómez et al., 2020**).

Tabla 5. Distribución de los genotipos ACE-1 según las variables de interés en los ≥ 65 separados por pauta de vacunación.

	ACE-1 rs4343 A/G					
	≥ 65 N=278					
	<u>NO VACUNADOS</u> N=195			<u>VACUNADOS</u> N=83		
	GG N=75	AG N=84	AA N=36	GG N=21	AG N=26	AA N=36
HOMBRES	42 (38%)	46 (42%)	22 (20%)	13 (23%)	19 (34%)	24 (43%)
MUJERES	33 (39%)	38 (45%)	14 (16%)	8 (30%)	7 (26%)	12 (44%)
HTA SI	49 (40%)	54 (44%)	19 (16%)	10 (17%)	21 (37%)	26 (46%)
HTA NO	26 (36%)	30 (41%)	17 (23%)	11 (42%)	5 (19%)	10 (39%)
DIAB SI	24 (34%)	30 (43%)	16 (23%)	8 (28%)	10 (36%)	10 (36%)
DIAB NO	51 (41%)	54 (43%)	20 (16%)	13 (24%)	16 (29%)	26 (47%)
HIPERL SI	35 (43%)	31 (38%)	16 (19%)	10 (26%)	14 (36%)	15 (38%)
HIPERL NO	40 (35%)	53 (47%)	20 (18%)	11 (25%)	12 (27%)	21 (48%)

Para los ≥ 65 vacunados se observa una mayor frecuencia del genotipo GG entre los normotensos frente a los hipertensos (42% vs 17%), con significación estadística ($p=0.04272$) (**Tabla 5**).

4.3. GENOTIPOS AGTR1 EN LOS PACIENTES COVID-19.

La frecuencia del alelo C observada en los pacientes de nuestro estudio es bastante similar a la documentada en otros estudios realizados en población asturiana (C=0.29) (Coto et al., 2010). En los < 65 los homocigotos AA eran más frecuentes entre los vacunados (74% vs 52%), con significación estadística (p=0.001981). Y en los ≥ 65 los homocigotos AA eran también más frecuentes entre los vacunados (68% vs 56%), pero sin diferencias significativas (p=0.1475) (Tabla 6).

Tabla 6. Frecuencias de los genotipos AGTR1 separados por edad y pauta de vacunación (N=688).

AGTR1 rs5186 A/C	< 65 N=415		≥ 65 N=273	
	NO VACUNADOS N=388	VACUNADOS N=27	NO VACUNADOS N=195	VACUNADOS N=78
CC	31 (8%)	5 (19%)	18 (9%)	7 (9%)
AC	54 (40%)	2 (7%)	68 (35%)	18 (23%)
AA	203 (52%)	20 (74%)	109 (56%)	53 (68%)
C	0.20	0.22	0.27	0.20
A	0.80	0.78	0.73	0.80

El SNP AGTR1 rs5186 se encuentra en la región 3'UTR del gen, en un sitio de unión para un microRNA (miR-155). En presencia del alelo A, el miR-155 se une al ARNm y facilita su degradación. El SNP rs5186 y su asociación con la gravedad en los contagiados de la COVID-19 ya ha sido descrita anteriormente. Diversos autores han descrito que el alelo C es de riesgo para las manifestaciones severas de la enfermedad, dado que está relacionado con una mayor expresión del receptor (Blanco et al., 2012; Ceolotto et al., 2011; Haas et al., 2012; Izmailova et al., 2022; Stanković et al., 2016; Zheng et al., 2010).

Se aplicó una regresión logística para determinar la relación entre la mayor frecuencia de los homocigotos AA en el conjunto de pacientes menores de 65 vacunados frente a los no vacunados con el resto de las variables estudiadas. Con el resultado de que se mantenían significativas tanto el genotipo AC (p=0.002005) y la dislipemia (p=0.000555) (Tabla 7).

Tabla 7. Distribución de los genotipos AGTR1 según las variables de interés en los < 65 separados por pauta de vacunación.

AGTR1 rs5186 A/C						
< 65 N=415						
<u>NO VACUNADOS</u> N=388				<u>VACUNADOS</u> N=27		
	CC N=31	AC N=154	AA N=203	CC N=5	AC N=2	AA N=20
HOMBRES	15 (7%)	87 (38%)	127 (55%)	3 (16%)	2 (10%)	14 (74%)
MUJERES	16 (10%)	67 (42%)	76 (48%)	2 (25%)	0	6 (75%)
HTA SI	7 (11%)	25 (38%)	34 (52%)	1 (10%)	2 (20%)	7 (70%)
HTA NO	24 (8%)	129 (40%)	169 (52%)	4 (24%)	0	13 (76%)
DIAB SI	0	14 (39%)	22 (61%)	2 (29%)	1 (14%)	4 (57%)
DIAB NO	31 (9%)	140 (40%)	181 (51%)	3 (15%)	1 (5%)	16 (80%)
HIPERL SI	4 (4%)	41 (44%)	49 (52%)	4 (23%)	2 (12%)	11 (65%)
HIPERL NO	27 (9%)	113 (38%)	154 (53%)	1 (10%)	0	9 (90%)

Tabla 8. Distribución de los genotipos AGTR1 según las variables de interés en los ≥ 65 separados por pauta de vacunación.

AGTR1 rs5186 A/C						
≥65 N=273						
<u>NO VACUNADOS</u> N=195				<u>VACUNADOS</u> N=78		
	CC N=18	AC N=68	AA N=109	CC N=7	AC N=18	AA N=53
HOMBRES	5 (4%)	38 (35%)	67 (61%)	6 (11%)	13 (24%)	35 (65%)
MUJERES	13 (15%)	30 (35%)	42 (50%)	1 (4%)	5 (21%)	18 (75%)
HTA SI	12 (10%)	42 (34%)	68 (56%)	5 (9%)	14 (25%)	36 (66%)
HTA NO	6 (8%)	26 (36%)	41 (56%)	2 (9%)	4 (17%)	17 (74%)
DIAB SI	9 (13%)	21 (30%)	40 (57%)	3 (11%)	8 (30%)	16 (59%)
DIAB NO	9 (7%)	47 (38%)	69 (55%)	4 (8%)	10 (20%)	37 (72%)
HIPERL SI	9 (11%)	31 (38%)	42 (51%)	4 (11%)	10 (26%)	24 (63%)
HIPERL NO	9 (8%)	37 (33%)	67 (59%)	3 (7%)	8 (20%)	29 (73%)

La distribución según variables para los ≥ 65 no vacunados mostró que el genotipo AA era más prevalente entre los hombres, lo que parece indicar que existe una diferencia entre los sexos ($p=0.02811$). En los pacientes ≥ 65 vacunados el genotipo CC era más común entre los hombres (11% vs 4%) y el AA entre las mujeres (75% vs 65%), sin significación estadística (**Tabla 8**).

4.4. GENOTIPOS ACE-2 EN LOS PACIENTES COVID-19.

Debido a que el gen ACE-2 está ubicado en el cromosoma X, hemos realizado una separación de datos entre hombres y mujeres para realizar la comparación. Estudios previos en el Principado de Asturias habían reportado una frecuencia del alelo T de 0.15 en hombres y de 0.19 en mujeres (**Gómez et al., 2020**).

El número limitado de pacientes analizados para este polimorfismo, especialmente en grupos definidos para algunas variables, podría afectar a la fiabilidad de las conclusiones.

Tabla 9. Frecuencias de los genotipos ACE-2 separados por edad y pauta de vacunación (N=693).

ACE-2 rs2285666 C/T	< 65 N=416		≥ 65 N=277	
	NO VACUNADOS N=387	VACUNADOS N=29	NO VACUNADOS N=194	VACUNADOS N=83
MUJERES				
TT	9 (6%)	0	6 (7%)	0
CT	63 (39%)	3 (33%)	35 (41%)	6 (22%)
CC	87 (55%)	6 (67%)	44 (52%)	21 (78%)
T	0.25	0.17	0.28	0.11
C	0.75	0.83	0.72	0.89
HOMBRES				
TT	47 (21%)	3 (15%)	19 (17%)	7 (12%)
CC	181 (79%)	17 (85%)	90 (83%)	49 (88%)

Se puede observar una mayor frecuencia del genotipo CC en las mujeres ≥ 65 vacunadas frente a las no vacunadas (78% vs 52%), con significación estadística ($p=0.04272$), algo que no se evidenció para los hombres. En comparación con las

frecuencias en la población general, el alelo T en las mujeres vacunadas estaría más reducido (**Tabla 9**).

El SNP rs2285666 del gen ACE-2 se encuentra en una posición dentro de las regiones de consenso para el proceso de splicing del ARN, lo que indica que podría tener un impacto en el procesamiento del ARN mensajero y en los niveles de la proteína ACE-2 resultante. Según un estudio, se han observado niveles más altos de ACE-2 en hombres en comparación con las mujeres. Además, este SNP rs2285666 ha sido asociado con los niveles séricos de ACE-2, mostrando niveles más elevados en las personas que portan el alelo T en comparación con aquellos que son homocigotos para el alelo C. Además, se ha descubierto que otro SNP intrónico llamado rs879922, el cual está en desequilibrio de ligamiento con rs2285666, está relacionado con diferencias en la expresión del gen ACE-2 (**Sama et al., 2020; Wu et al., 2017; Zhang et al., 2018**).

Tabla 10. Distribución de los genotipos ACE-2 según las variables de interés en los < 65 separados por pauta de vacunación para las mujeres.

<u>MUJERES</u> ACE2 rs2285666 C/T						
< 65 N=168						
	<u>NO VACUNADOS</u> N=159			<u>VACUNADOS</u> N=9		
	CC N=87	CT N=63	TT N=9	CC N=6	CT N=3	TT N=0
HTA SI	13 (53%)	11 (44%)	1 (3%)	2 (40%)	3 (60%)	0
HTA NO	74 (55%)	52 (39%)	8 (6%)	4 (100%)	0	0
DIAB SI	8 (62%)	5 (38%)	0	1 (33%)	2 (67%)	0
DIAB NO	79 (54%)	58 (40%)	9 (6%)	5 (84%)	1 (16%)	0
HIPERL SI	15 (56%)	12 (44%)	0	3 (50%)	3 (50%)	0
HIPERL NO	72 (55%)	51 (39%)	9 (6%)	3 (100%)	0	0

Para las menores de 65 años, se observa una mayor frecuencia del genotipo CC entre las mujeres normotensas vacunadas que entre las hipertensas (100% vs 40%), pero sin significación estadística ($p=0.05778$). Se hallan diferencias significativas entre mujeres no vacunadas frente a las vacunadas para la dislipemia ($p=0.00947$) (**Tabla 10**).

Tabla 11. Distribución de los genotipos ACE-2 según las variables de interés en los ≥ 65 separados por pauta de vacunación para las mujeres.

MUJERES ACE2 rs2285666 C/T						
≥ 65 N=112						
<u>NO VACUNADOS</u> N=85			<u>VACUNADOS</u> N=27			
	CC N=44	CT N=35	TT N=6	CC N=21	CT N=6	TT N=0
HTA SI	27 (50%)	25 (46%)	2 (4%)	13 (76%)	4 (24%)	0
HTA NO	17 (55%)	10 (32%)	4 (13%)	8 (80%)	2 (20%)	0
DIAB SI	15 (52%)	13 (45%)	1 (3%)	6 (86%)	1 (14%)	0
DIAB NO	29 (52%)	22 (39%)	5 (9%)	15 (75%)	5 (25%)	0
HIPERL SI	20 (57%)	14 (40%)	1 (3%)	10 (84%)	2 (16%)	0
HIPERL NO	24 (48%)	21 (42%)	5 (10%)	11 (74%)	4 (26%)	0

No se encuentran diferencias entre vacunadas y no vacunadas para el grupo ≥ 65 (Tabla 11).

Tabla 12. Distribución de los genotipos ACE-2 según las variables de interés en los < 65 separados por pauta de vacunación para los hombres.

HOMBRES ACE2 rs2285666 C/T				
< 65 N=248				
<u>NO VACUNADOS</u> N=228			<u>VACUNADOS</u> N=20	
	CC N=181	TT N=47	CC N=17	TT N=3
HTA SI	33 (80%)	8 (20%)	5 (84%)	1 (16%)
HTA NO	148 (79%)	39 (21%)	12 (86%)	2 (14%)
DIAB SI	16 (70%)	7 (30%)	4 (100%)	0
DIAB NO	165 (80%)	40 (20%)	13 (81%)	3 (19%)
HIPERL SI	53 (79%)	14 (21%)	9 (82%)	2 (18%)
HIPERL NO	128 (80%)	33 (20%)	8 (89%)	1 (11%)

Se hallan diferencias significativas entre hombres menores de 65 años no vacunados frente a las vacunados para la dislipemia ($p=0.0381$) (**Tabla 12**).

Tabla 13. Distribución de los genotipos ACE-2 según las variables de interés en los ≥ 65 separados por pauta de vacunación para los hombres.

<i>HOMBRES</i>				
ACE2 rs2285666				
C/T				
≥ 65				
N=165				
<u>NO VACUNADOS</u>			<u>VACUNADOS</u>	
N=109			N=56	
	CC	TT	CC	TT
	N=90	N=19	N=49	N=7
HTA SI	55 (81%)	13 (19%)	35 (87%)	5 (13%)
HTA NO	35 (85%)	6 (15%)	14 (87%)	2 (13%)
DIAB SI	33 (80%)	8 (20%)	19 (90%)	2 (10%)
DIAB NO	57 (84%)	11 (16%)	30 (86%)	5 (14%)
HIPERL SI	38 (81%)	9 (19%)	24 (86%)	4 (14%)
HIPERL NO	52 (84%)	10 (16%)	25 (89%)	3 (11%)

No se encuentran diferencias entre vacunados y no vacunados para el grupo ≥ 65 (**Tabla 13**).

4.5. GENOTIPOS AGT EN LOS PACIENTES COVID-19.

Otro de los polimorfismos involucrados en el RAAS es el SNP rs4762 de los genes que codifican el angiotensinógeno (AGT). AGT modula la expresión de angiotensina I que por acción de ACE-1 dará lugar a angiotensina II, que por consiguiente promoverá la enfermedad cardiovascular y pulmonar (**Cafiero et al., 2021; Coto et al., 2021**).

Debido a la falta de muestra de DNA de los pacientes de las primeras oleadas, el número de pacientes analizados es menor que en otros polimorfismos. En la población española, la frecuencia del alelo G es de 0.89, muy similar a la obtenida en el conjunto de la muestra de individuos no vacunados (**Tabla 14**).

Tabla 14. Frecuencias de los genotipos AGT separados por edad y pauta de vacunación (N=413).

AGT rs4762 A/G	< 65 N=246		≥ 65 N=167	
	<u>NO VACUNADOS</u> N=217	<u>VACUNADOS</u> N=29	<u>NO VACUNADOS</u> N= 91	<u>VACUNADOS</u> N=76
GG	176 (81%)	17 (59%)	73 (80%)	44 (58%)
AG	31 (14%)	2 (7%)	17 (19%)	11 (14%)
AA	10 (5%)	10 (34%)	1 (1%)	21 (28%)
A	0.12	0.38	0.10	0.35
G	0.88	0.62	0.90	0.65

Para el AGT observamos una mayor frecuencia del alelo A entre los ingresados vacunados frente a los no vacunados menores de 65 años, siendo los homocigotos AA más frecuentes (34% vs 5%), con significación estadística ($p=0.000000208$). Observamos también una mayor frecuencia del alelo A entre los ingresados vacunados en el grupo ≥ 65 , siendo los homocigotos AA más frecuentes (28% vs 1%), con significación estadística ($p=0.000000208$) (**Tabla 14**).

Tabla 15. Distribución de los genotipos AGT según las variables de interés en los < 65 separados por pauta de vacunación.

	AGT rs4762 A/G					
	< 65 N=246					
	<u>NO VACUNADOS</u> N=217			<u>VACUNADOS</u> N=29		
	GG N=176	AG N=31	AA N=10	GG N=17	AG N=2	AA N=10
HOMBRES	109 (80%)	20 (14%)	8 (6%)	12 (60%)	2 (10%)	6 (30%)
MUJERES	67 (84%)	11 (14%)	2 (2%)	5 (56%)	0	4 (44%)
HTA SI	26 (72%)	7 (19%)	3 (8%)	7 (64%)	0	4 (36%)
HTA NO	150 (83%)	24 (13%)	7 (4%)	10 (56%)	2 (11%)	6 (33%)
DIAB SI	16 (84%)	2 (11%)	1 (5%)	4 (57%)	0	3 (43%)
DIAB NO	160 (81%)	29 (15%)	9 (4%)	13 (59%)	2 (9%)	7 (32%)
HIPERL SI	29 (73%)	8 (20%)	3 (7%)	12 (71%)	1 (6%)	4 (23%)
HIPERL NO	147 (83%)	23 (13%)	7 (4%)	5 (42%)	1 (8%)	6 (50%)

Se aplicó una regresión logística con el sexo, el genotipo AGT, la hipertensión, la diabetes, la dislipemia para los menores de 65 años, con el resultado de que se mantenían significativas tanto el genotipo AA ($p=3.46 \times 10^{-5}$) como la dislipemia ($p=0.000345$) (Tabla 15).

Tabla 16. Distribución de los genotipos AGT según las variables de interés en los ≥ 65 separados por pauta de vacunación.

AGT rs4762						
A/G						
≥ 65						
N=167						
<u>NO VACUNADOS</u>				<u>VACUNADOS</u>		
N=91				N=76		
	GG N=73	AG N=17	AA N=1	GG N=44	AG N=11	AA N=21
HOMBRES	46 (81%)	10 (17%)	1 (2%)	27 (54%)	9 (18%)	14 (28%)
MUJERES	27 (79%)	7 (21%)	0	17 (65%)	2 (8%)	7 (27%)
HTA SI	45 (82%)	9 (16%)	1 (2%)	32 (59%)	7 (13%)	15 (28%)
HTA NO	28 (78%)	8 (22%)	0	12 (55%)	4 (18%)	6 (27%)
DIAB SI	23 (85%)	3 (11%)	1 (4%)	18 (69%)	3 (12%)	5 (19%)
DIAB NO	50 (78%)	14 (22%)	0	26 (52%)	8 (16%)	16 (32%)
HIPERL SI	32 (82%)	7 (18%)	0	23 (62%)	3 (8%)	11 (30%)
HIPERL NO	41 (79%)	10 (19%)	1 (2%)	21 (54%)	8 (20%)	10 (26%)

Para el SNP rs4762 del AGT no vimos diferencias significativas entre los pacientes mayores de 65 años para las comorbilidades (Tabla 16).

4.6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO.

Nuestro estudio presenta varias limitaciones que podrían comprometer la fiabilidad de las conclusiones obtenidas.

Los pacientes incluidos en este estudio fueron los que necesitaron hospitalización en planta, sin seguimiento posterior. Por tanto, sólo podemos analizar la asociación entre las variables y la necesidad de ingreso por neumonía bilateral secundaria al SARS-CoV-2. Algunos pacientes evolucionarán negativamente, precisando asistencia en UCI o

llegando a fallecer. Para obtener una visión más completa y precisa, un estudio más amplio debería incluir la comparación de los pacientes con COVID-19 con individuos de la población general que no presenten manifestaciones de la enfermedad. Esto nos permitiría determinar el verdadero riesgo de desarrollar una forma grave de COVID-19 en relación con la población general. Otra de las limitaciones se relaciona con el número de pacientes que fueron incluidos en el estudio, especialmente en grupos definidos para algunas variables.

5. CONCLUSIONES.

1. De acuerdo con la mayor edad de los ingresados con pauta completa de vacunación, las variables cardiometabólicas eran también más frecuentes en este grupo. Se encontraron diferencias significativas para el sexo al comparar los no vacunados frente a los vacunados.
2. Cuando dividimos a los pacientes según corte a 65 años, observamos que hay mayor frecuencia de hipertensos, diabéticos, dislipémicos en los vacunados comparados con los no vacunados en los menores de 65 años. Por tanto, estas comorbilidades reducirían el umbral de protección de las vacunas frente al ingreso hospitalario.
3. Los genotipos de ACE-1 y AGT, difieren entre vacunados y no vacunados en menores y mayores. Los genotipos de AGTR1, difieren entre vacunados y no vacunados en menores.
4. ACE2, receptor para el virus, en hombres no mostró diferencias entre vacunados y no vacunados ni menores ni en mayores; y en mujeres, los genotipos difieren entre vacunadas y no vacunadas mayores.
5. Las variantes del SRAA podrían ser factores de riesgo para ingreso en planta hospitalaria por COVID-19, tanto de forma independiente como secundaria al riesgo de tener hipertensión.

6. BIBLIOGRAFÍA.

- Banu, N., Panikar, S. S., Leal, L. R., & Leal, A. R.** (2020). Protective role of ACE2 and its downregulation in SARS-CoV-2 infection leading to Macrophage Activation Syndrome: Therapeutic implications. *Life sciences*, 256, 117905. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117905>
- Berenguer, J., Borobia, A. M., Ryan, P., Rodríguez-Baño, J., Bellón, J. M., Jarrín, I., Carratalà, J., Pachón, J., Carcas, A. J., Yllescas, M., Arribas, J. R., & COVID-19@Spain and COVID@HULP Study Groups** (2021). Development and validation of a prediction model for 30-day mortality in hospitalised patients with COVID-19: the COVID-19 SEIMC score. *Thorax*, 76(9), 920–929. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2020-216001>
- Bhalla, V., Blish, C. A., & South, A. M.** (2021). A historical perspective on ACE2 in the COVID-19 era. *Journal of human hypertension*, 35(10), 935–939. <https://doi.org/10.1038/s41371-020-00459-3>
- Briquez, P. S., Rouhani, S. J., Yu, J., Pyzer, A. R., Trujillo, J., Dugan, H. L., Stamper, C. T., Changrob, S., Sperling, A. I., Wilson, P. C., Gajewski, T. F., Hubbell, J. A., & Swartz, M. A.** (2022). Severe COVID-19 induces autoantibodies against angiotensin II that correlate with blood pressure dysregulation and disease severity. *Science advances*, 8(40), eabn3777. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abn3777>
- Blanco, R. R., Austin, H., Vest, R. N., 3rd, Valadri, R., Li, W., Lassegue, B., Song, Q., London, B., Dudley, S. C., Bloom, H. L., Searles, C. D., & Zafari, A. M.** (2012). Angiotensin receptor type 1 single nucleotide polymorphism 1166A/C is associated with malignant arrhythmias and altered circulating miR-155 levels in patients with chronic heart failure. *Journal of cardiac failure*, 18(9), 717–723. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2012.06.531>
- Caffero, C., Rosapepe, F., Palmirotta, R., Re, A., Ottaiano, M. P., Benincasa, G., Perone, R., Varriale, E., D'Amato, G., Cacciamani, A., Micera, A., & Pisconti, S.** (2021). Angiotensin System Polymorphisms' in SARS-CoV-2 Positive Patients: Assessment Between Symptomatic and Asymptomatic Patients: A Pilot Study. *Pharmacogenomics and personalized medicine*, 14, 621–629. <https://doi.org/10.2147/PGPM.S303666>
- Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias; Ministerio de Sanidad.** (2023). Actualización nº 671. Enfermedad por el coronavirus (COVID-19). 16.06.2023.
- Ceolotto, G., Papparella, I., Bortoluzzi, A., Strapazon, G., Ragazzo, F., Bratti, P., Fabricio, A. S., Squarcina, E., Gion, M., Palatini, P., & Semplicini, A.** (2011). Interplay between miR-155, AT1R A1166C polymorphism, and AT1R expression in young untreated hypertensives. *American journal of hypertension*, 24(2), 241–246. <https://doi.org/10.1038/ajh.2010.211>
- Cheng, P., Zhu, H., Witteles, R. M., Wu, J. C., Quertermous, T., Wu, S. M., & Rhee, J. W.** (2020). Cardiovascular Risks in Patients with COVID-19: Potential Mechanisms and Areas of Uncertainty. *Current cardiology reports*, 22(5), 34. <https://doi.org/10.1007/s11886-020-01293-2>
- Ciotti, M., Ciccozzi, M., Terrinoni, A., Jiang, W. C., Wang, C. B., & Bernardini, S.** (2020). The COVID-19 pandemic. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 57(6), 365–388. <https://doi.org/10.1080/10408363.2020.1783198>
- Coto, E., Avanzas, P., & Gómez, J.** (2021). The Renin-Angiotensin-Aldosterone System and Coronavirus Disease 2019. *European cardiology*, 16, e07. <https://doi.org/10.15420/ecr.2020.30>
- Coto, E., Palacín, M., Martín, M., Castro, M. G., Reguero, J. R., García, C., Berrazueta, J. R., Morís, C., Morales, B., Ortega, F., Corao, A. I., Díaz, M., Tavira, B., & Alvarez, V.** (2010). Functional polymorphisms in genes of the Angiotensin and Serotonin systems and risk of hypertrophic cardiomyopathy: AT1R as a potential modifier. *Journal of translational medicine*, 8, 64. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-8-64>

- Darby, A. C., & Hiscox, J. A.** (2021). Covid-19: variants and vaccination. *BMJ (Clinical research ed.)*, 372, n771. <https://doi.org/10.1136/bmj.n771>
- Datta, P. K., Liu, F., Fischer, T., Rappaport, J., & Qin, X.** (2020). SARS-CoV-2 pandemic and research gaps: Understanding SARS-CoV-2 interaction with the ACE2 receptor and implications for therapy. *Theranostics*, 10(16), 7448–7464. <https://doi.org/10.7150/thno.48076>
- Dhanachandra Singh, K.h, Jajodia, A., Kaur, H., Kukreti, R., & Karthikeyan, M.** (2014). Gender specific association of RAS gene polymorphism with essential hypertension: a case-control study. *BioMed research international*, 2014, 538053. <https://doi.org/10.1155/2014/538053>
- Dirección General de Salud Pública.** (2022). Coronavirus en Asturias. Morbilidad y Mortalidad. Informe año 2020-2022. Dos años de pandemia. Informe 9: 28.02.2022. Consejería de Salud, Oviedo.
- Domingo, P., Mur, I., Pomar, V., Corominas, H., Casademont, J., & de Benito, N.** (2020). The four horsemen of a viral Apocalypse: The pathogenesis of SARS-CoV-2 infection (COVID-19). *EBioMedicine*, 58, 102887. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102887>
- Ellinghaus, D., Degenhardt, F., Bujanda, L., Buti, M., Albillos, A., Invernizzi, P., Fernández, J., Prati, D., Baselli, G., Asselta, R., Grimsrud, M. M., Milani, C., Aziz, F., Kässens, J., May, S., Wendorff, M., Wienbrandt, L., Uellendahl-Werth, F., Zheng, T., ... Karlsen, T. H.** (2020). Genomewide Association Study of Severe Covid-19 with Respiratory Failure. *The New England journal of medicine*, 383(16), 1522–1534. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2020283>
- Gobierno de España.** Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. (2018). Encuesta Nacional de Salud España 2017. *AESAN*.
- Gómez, J., Albaiceta, G. M., García-Clemente, M., López-Larrea, C., Amado-Rodríguez, L., Lopez-Alonso, I., Hermida, T., Enriquez, A. I., Herrero, P., Melón, S., Alvarez-Argüelles, M. E., Boga, J. A., Rojo-Alba, S., Cuesta-Llavona, E., Alvarez, V., Lorca, R., & Coto, E.** (2020). Angiotensin-converting enzymes (ACE, ACE2) gene variants and COVID-19 outcome. *Gene*, 762, 145102. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.145102>
- Haas, U., Sczakiel, G., & Laufer, S. D.** (2012). MicroRNA-mediated regulation of gene expression is affected by disease-associated SNPs within the 3'-UTR via altered RNA structure. *RNA biology*, 9(6), 924–937. <https://doi.org/10.4161/rna.20497>
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann, S.** (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271–280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z. L.** (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature reviews. Microbiology*, 19(3), 141–154. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
- Hu, B., Huang, S., & Yin, L.** (2021). The cytokine storm and COVID-19. *Journal of medical virology*, 93(1), 250–256. <https://doi.org/10.1002/jmv.26232>
- Izmailova, O., Shlykova, O., Vatsenko, A., Ivashchenko, D., Dudchenko, M., Koval, T., & Kaidashev, I.** (2022). Allele C (rs5186) of at1r is associated with the severity of COVID-19 in the Ukrainian population. *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 98, 105227. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105227>
- Kim, D., Lee, J. Y., Yang, J. S., Kim, J. W., Kim, V. N., & Chang, H.** (2020). The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell*, 181(4), 914–921.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.011>
- Lau, D., & McAlister, F. A.** (2021). Implications of the COVID-19 Pandemic for Cardiovascular Disease and Risk-Factor Management. *The Canadian journal of cardiology*, 37(5), 722–732. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2020.11.001>

- Maguiña, C., Gastelo, R., & Tequen, A.** (2020). El nuevo Coronavirus y la pandemia del Covid-19. *Revista Médica Herediana*, 31(2), 125-131. <https://doi.org/10.20453/rmh.v31i2.3776>
- Mangalmurti, N., & Hunter, C. A.** (2020). Cytokine Storms: Understanding COVID-19. *Immunity*, 53(1), 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.06.017>
- Matsushita, K., Ding, N., Kou, M., Hu, X., Chen, M., Gao, Y., Honda, Y., Zhao, D., Dowdy, D., Mok, Y., Ishigami, J., & Appel, L. J.** (2020). The Relationship of COVID-19 Severity with Cardiovascular Disease and Its Traditional Risk Factors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Global heart*, 15(1), 64. <https://doi.org/10.5334/gh.814>
- Medina-Enríquez, M. M., Lopez-León, S., Carlos-Escalante, J. A., Aponte-Torres, Z., Cuapio, A., & Wegman-Ostrosky, T.** (2020). ACE2: the molecular doorway to SARS-CoV-2. *Cell & bioscience*, 10(1), 148. <https://doi.org/10.1186/s13578-020-00519-8>
- Oparil, S., Acelayado, M. C., Bakris, G. L., Berlowitz, D. R., Cífková, R., Dominiczak, A. F., Grassi, G., Jordan, J., Poulter, N. R., Rodgers, A., & Whelton, P. K.** (2018). Hypertension. *Nature reviews. Disease primers*, 4, 18014. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.14>
- Pastrian, G.** (2020). Presencia y Expresión del Receptor ACE2 (Target de SARS-CoV-2) en Tejidos Humanos y Cavidad Oral. Posibles Rutas de Infección en Órganos Orales. *International journal of odontostomatology*, 14(4), 501-507. doi: <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2020000400501>
- Sama, I. E., Ravera, A., Santema, B. T., van Goor, H., Ter Maaten, J. M., Cleland, J. G. F., Rienstra, M., Friedrich, A. W., Samani, N. J., Ng, L. L., Dickstein, K., Lang, C. C., Filippatos, G., Anker, S. D., Ponikowski, P., Metra, M., van Veldhuisen, D. J., & Voors, A. A.** (2020). Circulating plasma concentrations of angiotensin-converting enzyme 2 in men and women with heart failure and effects of renin-angiotensin-aldosterone inhibitors. *European heart journal*, 41(19), 1810–1817. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa373>
- Stanković, A., Kolaković, A., Živković, M., Djurić, T., Bundalo, M., Končar, I., Davidović, L., & Alavantić, D.** (2016). Angiotensin receptor type 1 polymorphism A1166C is associated with altered AT1R and miR-155 expression in carotid plaque tissue and development of hypocholechoic carotid plaques. *Atherosclerosis*, 248, 132–139. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.02.032>
- Vasireddy, D., Vanaparthi, R., Mohan, G., Malayala, S. V., & Atluri, P.** (2021). Review of COVID-19 Variants and COVID-19 Vaccine Efficacy: What the Clinician Should Know?. *Journal of clinical medicine research*, 13(6), 317–325. <https://doi.org/10.14740/jocmr4518>
- Wilk-Sledziewska, K., Sielatycki, P. J., Uscinska, N., Bujno, E., Rosolowski, M., Kakareko, K., Sledziewski, R., Ryzewska-Rosolowska, A., Hryszko, T., & Zbroch, E.** (2022). The Impact of Cardiovascular Risk Factors on the Course of COVID-19. *Journal of clinical medicine*, 11(8), 2250. <https://doi.org/10.3390/jcm11082250>
- Wu, Y. H., Li, J. Y., Wang, C., Zhang, L. M., & Qiao, H.** (2017). The ACE2 G8790A Polymorphism: Involvement in Type 2 Diabetes Mellitus Combined with Cerebral Stroke. *Journal of clinical laboratory analysis*, 31(2), e22033. <https://doi.org/10.1002/jcla.22033>
- Zhang, Q., Cong, M., Wang, N., Li, X., Zhang, H., Zhang, K., Jin, M., Wu, N., Qiu, C., & Li, J.** (2018). Association of angiotensin-converting enzyme 2 gene polymorphism and enzymatic activity with essential hypertension in different gender: A case-control study. *Medicine*, 97(42), e12917. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000012917>
- Zhang, X., Li, S., & Niu, S.** (2020). ACE2 and COVID-19 and the resulting ARDS. *Postgraduate medical journal*, 96(1137), 403–407. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2020-137935>
- Zheng, L., Xu, C. C., Chen, W. D., Shen, W. L., Ruan, C. C., Zhu, L. M., Zhu, D. L., & Gao, P. J.** (2010). MicroRNA-155 regulates angiotensin II type 1 receptor expression and phenotypic differentiation in vascular adventitial fibroblasts. *Biochemical and biophysical research communications*, 400(4), 483–488. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.08.067>