

Universidad CEU San Pablo
CEINDO – CEU Escuela Internacional
de Doctorado

PROGRAMA en MEDICINA TRASLACIONAL



CEU

*Escuela Internacional
de Doctorado*

Implicaciones pronósticas del
índice neutrófilo-linfocito en la
COVID-19

TESIS DOCTORAL

Presentada por: Sara Jimeno Ruiz

Dirigida por: Prof. Alejandro López Escobar

MADRID

Octubre 2021



CEU | *Universidad
San Pablo*

ALEJANDRO LÓPEZ ESCOBAR, PROFESOR ASOCIADO DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD CEU SAN PABLO DE MADRID Y MÉDICO ESPECIALISTA EN PEDIATRÍA Y NEONATOLOGÍA DE HM HOSPITALES

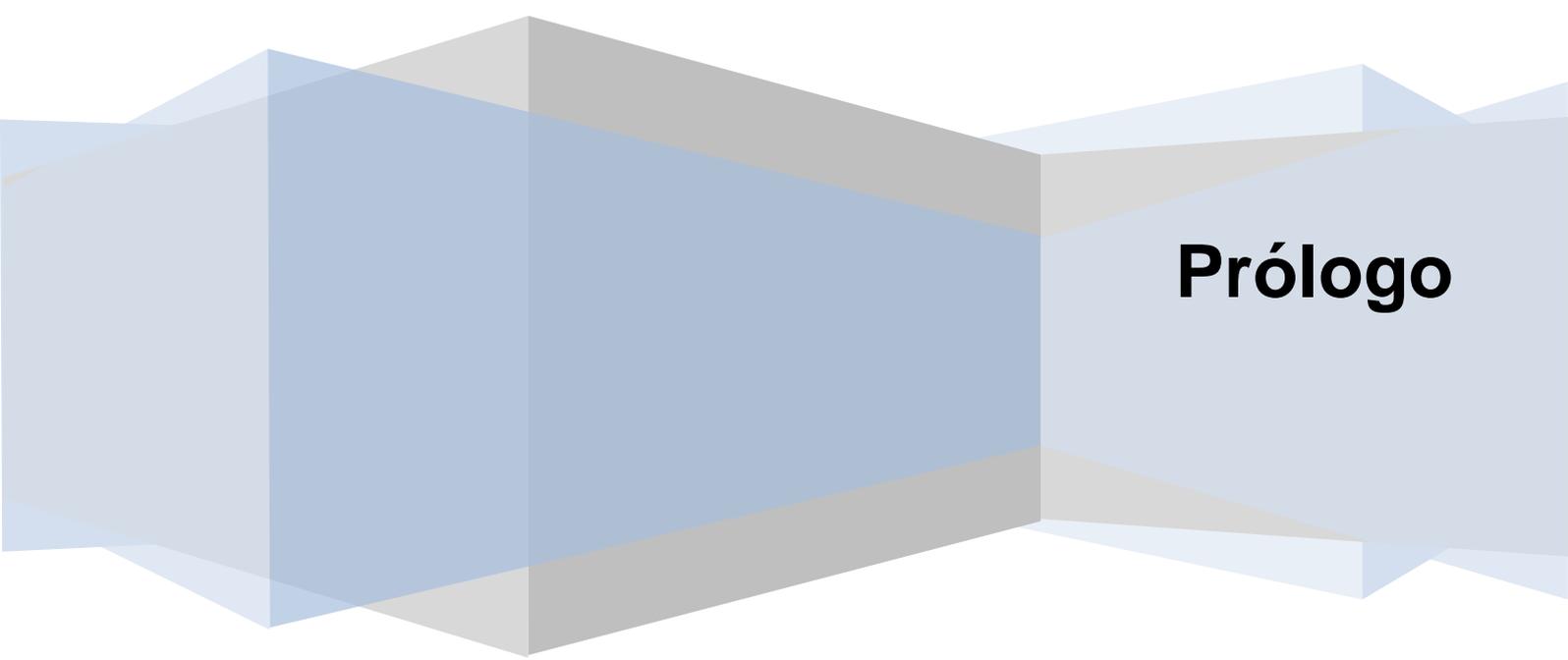
CERTIFICA:

Que D^a. Sara Jimeno Ruiz ha realizado bajo mi dirección el proyecto de investigación “Implicaciones pronósticas del índice neutrófilo-linfocito en la COVID-19”, con el que pretende optar al grado de Doctor en Medicina.

Fdo. Alejandro López Escobar

“Si no conozco una cosa, la investigaré”

Louis Pasteur



Prólogo

PRÓLOGO

Hubo un tiempo en el que pasé mucho miedo. Miedo por mi familia, por mis amigos, por mis compañeros... miedo a perder el mundo tal y como lo conocía. Miedo al abismo, miedo incluso a no despertar una mañana. Después afloró el pavor a lo desconocido, a no saber bien cómo sanar, a no saber qué esperar. Temí que el miedo, la tristeza o el cansancio me bloquearan. La cabeza rápidamente aprendió que era mejor no pensar, sólo seguir el ritmo, aguantar el pulso de los acontecimientos.

Hubo un tiempo en el que el reloj se ralentizó. Las noches nunca habían sido tan largas, ni las pesadillas tan vívidas. Los sueños traían a la memoria muchas emociones ahogadas durante los turnos interminables. Pero amanecía cada día y, después de circular con los ojos empañados por un Madrid dormido e irreal, nos esperaban nuestros pacientes. De una forma totalmente mágica se creó un admirable engranaje de personas trabajando por y para los demás. Todos compartiendo los mismos miedos y la misma incertidumbre. Todos ayudando, apoyando y consolando. Las miradas y las sonrisas veladas por las mascarillas daban abrazos invisibles. El sentimiento de EQUIPO fue extraordinario, colosal.

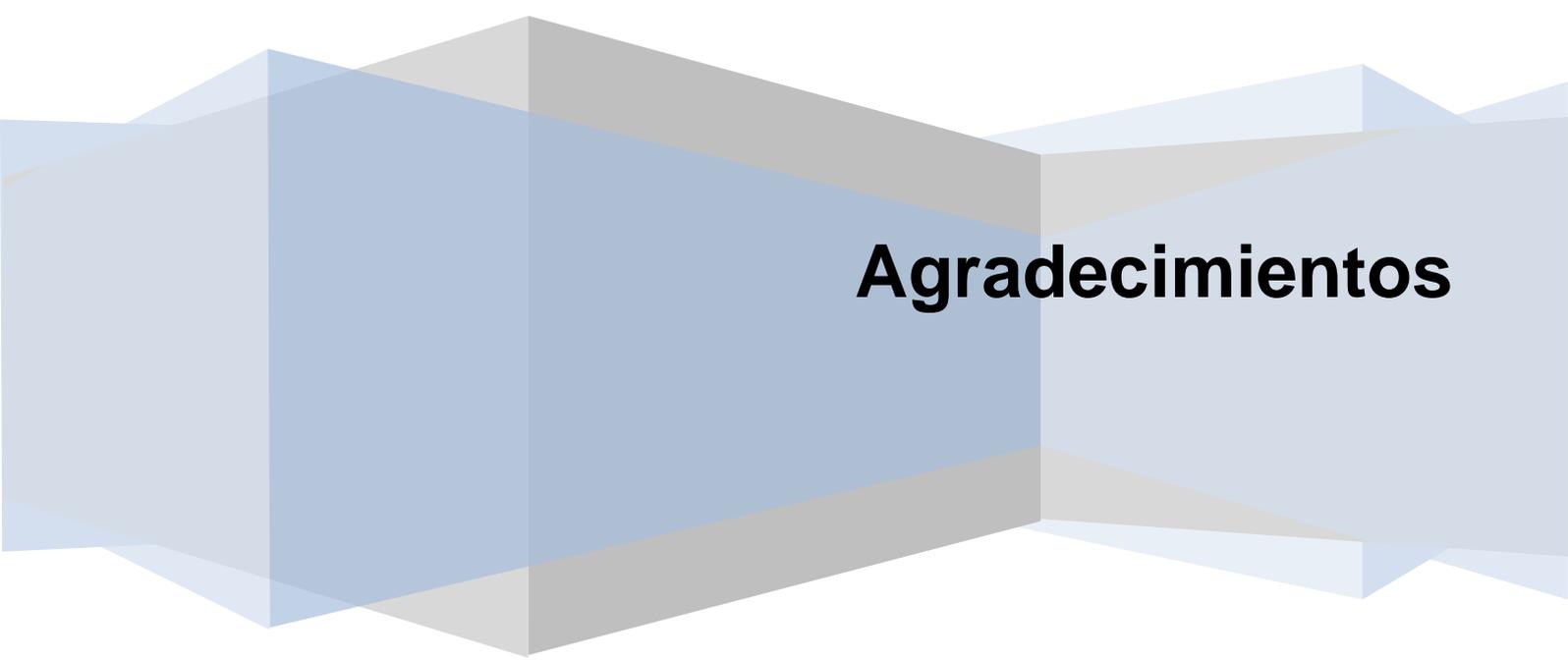
Han pasado los meses y debemos aceptar que nunca seremos los mismos. Los recuerdos permanecen muy recientes y las heridas siguen doliendo, pero el espíritu de trabajo de aquellos meses ayuda a seguir dando sentido a nuestra profesión.

Nunca fuimos héroes, tan sólo individuos vulnerables dando lo mejor de sí mismos.

Sara Jimeno Ruiz

(Diciembre 2020)

Relato ganador de la Iniciativa “Entre Nosotros” HM Hospitales



Agradecimientos

AGRADECIMIENTOS

Han sido años de duro trabajo en los que quiero agradecer el apoyo profesional y emocional a numerosas personas que me han acompañado en el camino.

A mi profesión, a mis pacientes y a mis alumnos. Gracias por haberme enseñado tanto, con tanta intensidad. No imagino otra forma de vivir que no sea esta.

A mis profesores y a mis adjuntos de la residencia. Gracias por transmitirme vuestra experiencia, por haberme enseñado a ser una buena médica.

Gracias a HM Hospitales y la Universidad CEU San Pablo por haberme ayudado a crecer.

A los “guerreros de la batalla”. Gracias a internistas, intensivistas, neumólogo... por permitirnos trabajar codo a codo. Gracias por toda vuestra ayuda.

A mis compañeros pediatras y amigos. ¡Qué sería de nosotros sin nosotros! Gracias por el apoyo incondicional, por el afecto y el cariño. Trabajo feliz rodeada de gente tan valiosa. Os admiro muchísimo.

Merecen un agradecimiento especial dos personas que se han dejado la piel y los codos tratando de vencer la dramática situación de la pandemia.

Gracias a Alejandro, mi director de tesis. Eres un océano infinito de buenas ideas. Gracias por tu solidaridad y por confiar siempre en mí. Gracias por ayudarme a enderezar tantos y tantos momentos de flaqueza; en la batalla y durante todo el trabajo posterior. Nada de esto hubiera sido posible sin tu determinación y tu energía.

Gracias a Silvina. Trabajas con ilusión y con pasión a pesar de los obstáculos y eso mueve el mundo a tu alrededor. Gracias por tus ideas, por impulsarme a continuar.

Gracias siempre a mi familia. Soy lo que soy gracias a vosotros. Gracias a mis padres, por haberme enseñado a ser una buena persona, a creer en mí y a trabajar con tesón y con entusiasmo. Gracias por acompañarme en tantas rutas de la vida. Gracias por vuestra paciencia. Gracias infinitas por cuidar de lo más importante cuando mi cuerpo y mente luchaban contra la enfermedad.

Al motor de mi vida. Gracias Pablo, por demostrarme cada día el valor de las cosas más pequeñas, por esa facilidad tuya de disfrutar de cada momento, por tantas lecciones magistrales. Este trabajo entraña una enseñanza: con esfuerzo y perseverancia se pueden alcanzar metas valiosas.

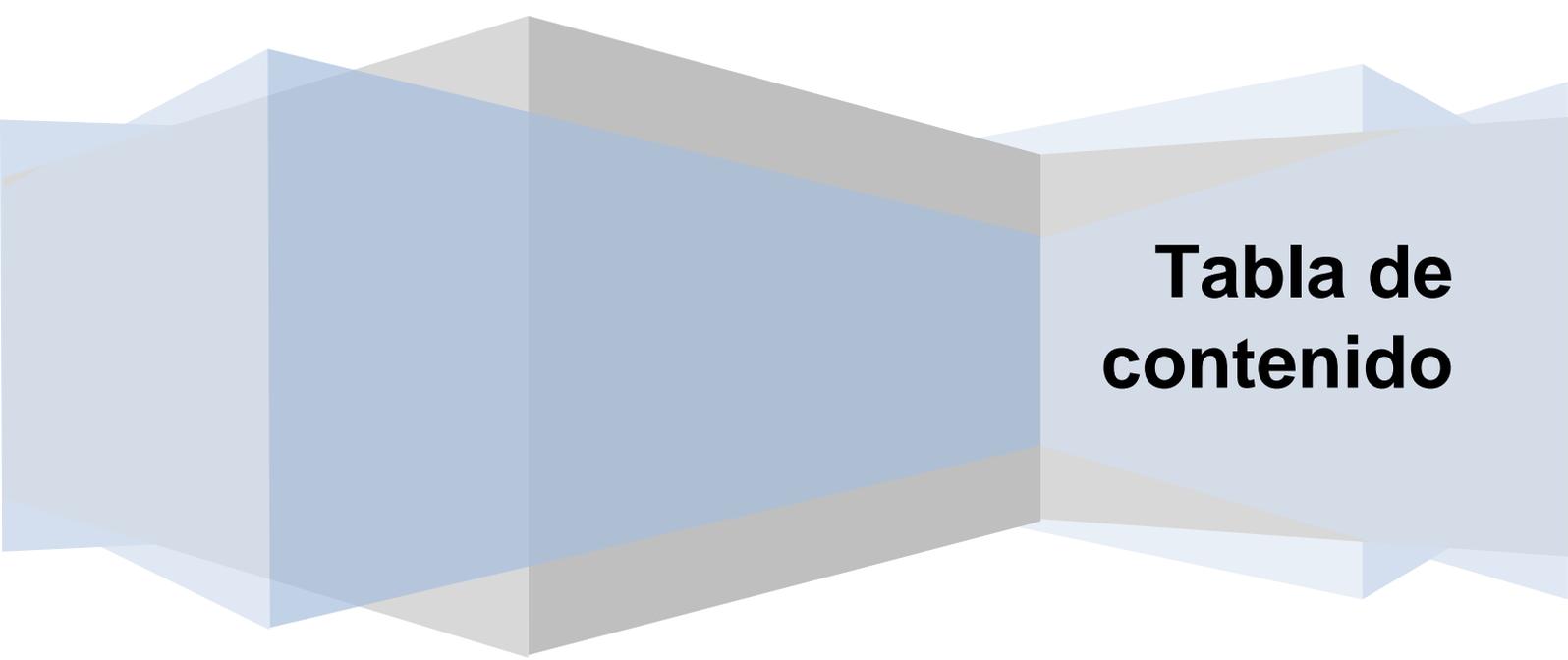
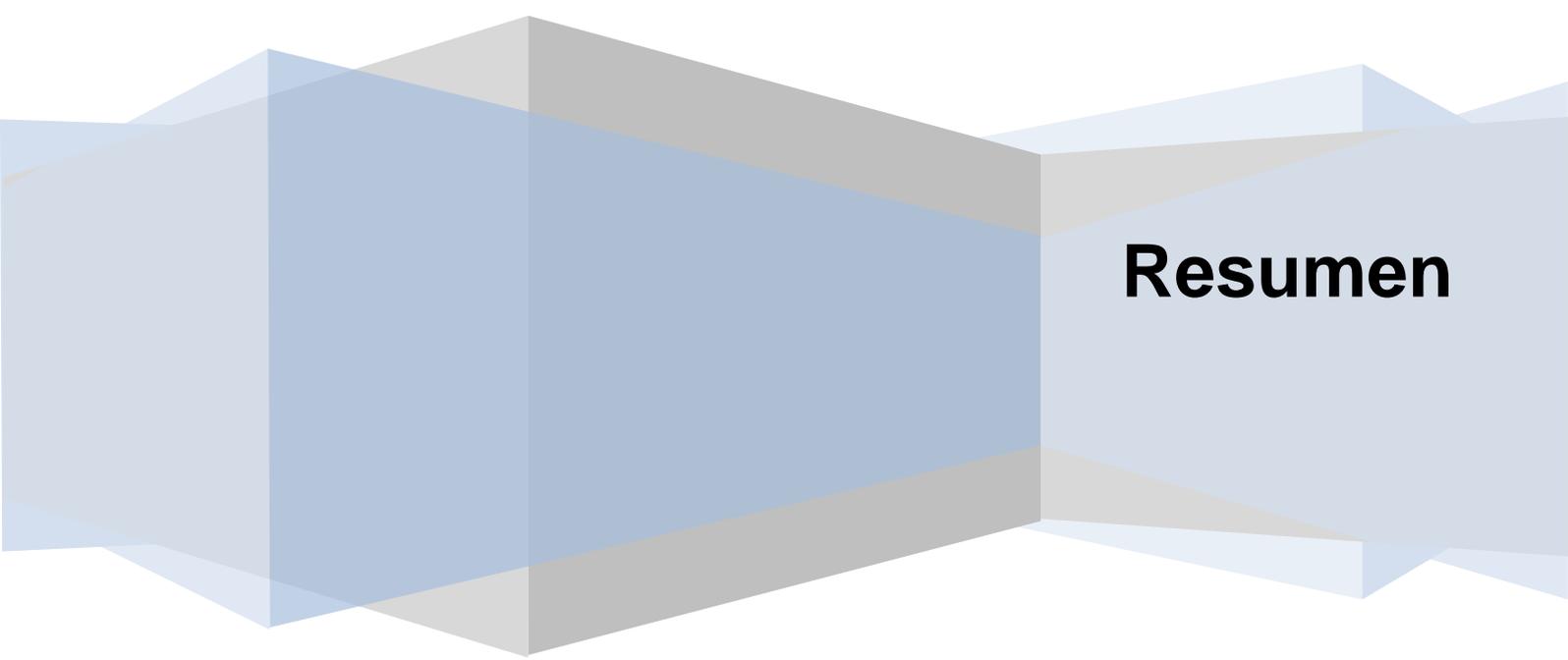


Tabla de contenido

1	TABLA DE CONTENIDO	
2	RESUMEN	27
3	GLOSARIO DE ABREVIATURAS	33
4	INTRODUCCIÓN	39
4.1	Contextualización del problema: Descubriendo la COVID-19.....	45
4.1.1	Cronología de la enfermedad.....	47
4.1.2	Virología	50
4.1.3	Epidemiología	52
4.1.4	Transmisión.....	54
4.1.5	Clínica	56
4.1.6	Diagnóstico microbiológico.....	59
4.1.7	Tratamiento	61
4.1.8	Vacunación	67
4.2	Marco teórico-referencial	71
4.2.1	La función del sistema inmune en la COVID-19.....	73
4.2.2	Los recuentos de células sanguíneas y sus cocientes.....	76
4.2.3	El índice neutrófilo-linfocito (INL).....	78
4.2.4	El índice plaqueta-linfocito (IPL).....	80
5	HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	85
6	MÉTODOS	89
7	RESULTADOS	99
8	DISCUSIÓN	109
8.1	¿Cómo enfrentarnos a una enfermedad desconocida y descontrolada?	111
8.2	El papel del pediatra en una epidemia de adultos	116
8.3	La oxigenoterapia de alto flujo como herramienta frente a la COVID-19	118

8.4	Tratando de identificar factores pronósticos en la COVID-19...	121
8.5	Limitaciones del estudio.....	126
9	CONCLUSIONES.....	129
10	BIBLIOGRAFÍA	135
11	PUBLICACIONES	155



Resumen

2 RESUMEN

Antecedentes

La presentación clínica de la COVID-19 varía desde una enfermedad leve y autolimitada hasta un fallo multiorgánico y el fallecimiento del paciente. La mayoría de los casos graves de COVID-19 presentan recuentos bajos de linfocitos y número elevado de leucocitos. Además, en un subgrupo de pacientes que presentan formas severas de COVID-19, parece existir una respuesta hiperinflamatoria originada, al menos en parte, por la presencia de una disfunción endotelial subyacente. Se ha sugerido un papel pronóstico del índice neutrófilo-linfocito (INL) en diversas enfermedades inflamatorias y procesos oncológicos. Siguiendo este razonamiento, planteamos la hipótesis de que el INL podría ser útil para identificar pacientes con mal pronóstico en casos hospitalizados de COVID-19.

Diseño

Se realizó un estudio observacional retrospectivo en el Hospital Universitario HM Puerta del Sur, Madrid, España, que incluyó a 119 pacientes con diagnóstico de COVID-19 del 1 al 31 de marzo de 2020. Los pacientes fueron categorizados según la clasificación del *Blueprint Expert Group* (Grupo de expertos en I + D de la OMS) en la *COVID-19 Therapeutic Trial Synopsis* (Sinopsis del ensayo terapéutico COVID-19).

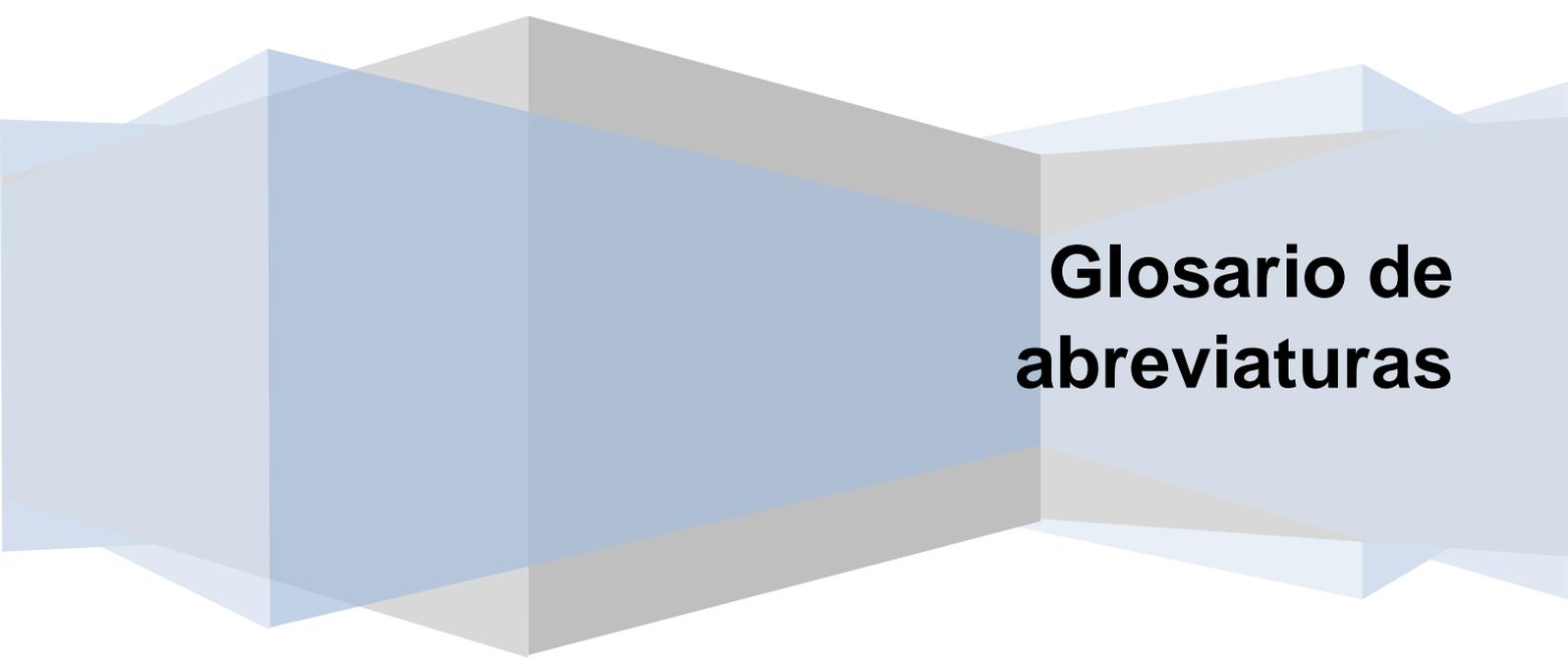
Resultados

Cuarenta y cinco (12,1%) pacientes experimentaron insuficiencia respiratoria aguda grave que requirió asistencia respiratoria. Cuarenta y siete (12,6%) pacientes fallecieron. Aquellos con peor desenlace tuvieron mayor edad ($p = 0,002$) y un INL significativamente más alto al ingreso ($p = 0,001$), con un mayor aumento en el valor máximo de INL ($p < 0,001$) y una mayor velocidad de aumento del INL ($p = 0,003$) en comparación con los pacientes del grupo control. En una regresión lineal multivariante, la

edad, la enfermedad cardiovascular, la proteína C reactiva al ingreso y el pico máximo de INL se asociaron significativamente con la muerte intrahospitalaria.

Conclusiones

El INL es un parámetro fácil de medir, disponible, rentable y fiable. La monitorización continua de sus valores podría ser útil para la identificación de pacientes de riesgo, el diagnóstico y el tratamiento de la COVID-19.



Glosario de abreviaturas

3 GLOSARIO DE ABREVIATURAS

ARN: Ácido ribonucleico.

CAR-T: Terapia de células T con receptor de antígeno quimérico.

CDC: Centros para el Control y Prevención de Enfermedades.

Células NK: Células *Natural Killer* (asesina natural).

COVID-19: *Coronavirus disease 2019* (Enfermedad por coronavirus 2019).

ECA 2: Enzima convertidora de angiotensina 2.

FiO₂: Fracción de la concentración de oxígeno inspirada.

IC: Intervalo de confianza.

IL: Interleuquina.

ILM: Índice linfocito-monocito.

INF- γ : Interferón gamma.

INL: Índice neutrófilo-linfocito.

IPL: Índice plaqueta-linfocito.

INP: Índice neutrófilo-plaqueta.

LDH: Lactato deshidrogenasa.

MBE: Medicina basada en la evidencia.

MERS: *Middle East Respiratory Syndrome* (Síndrome respiratorio de Oriente Medio).

MIP-1 Beta: *Macrophage inflammatory protein-1* (proteína inflamatoria de los macrófagos-1 beta).

OAF: Oxigenoterapia de alto flujo.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OR: Odds ratio.

PCR: Proteína C Reactiva.

RIQ: Rango intercuartílico.

Ro: Número básico de reproducción.

RT-PCR: *Reverse transcription polymerase chain reaction* (reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa).

SARS-CoV-2: *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (Síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2).

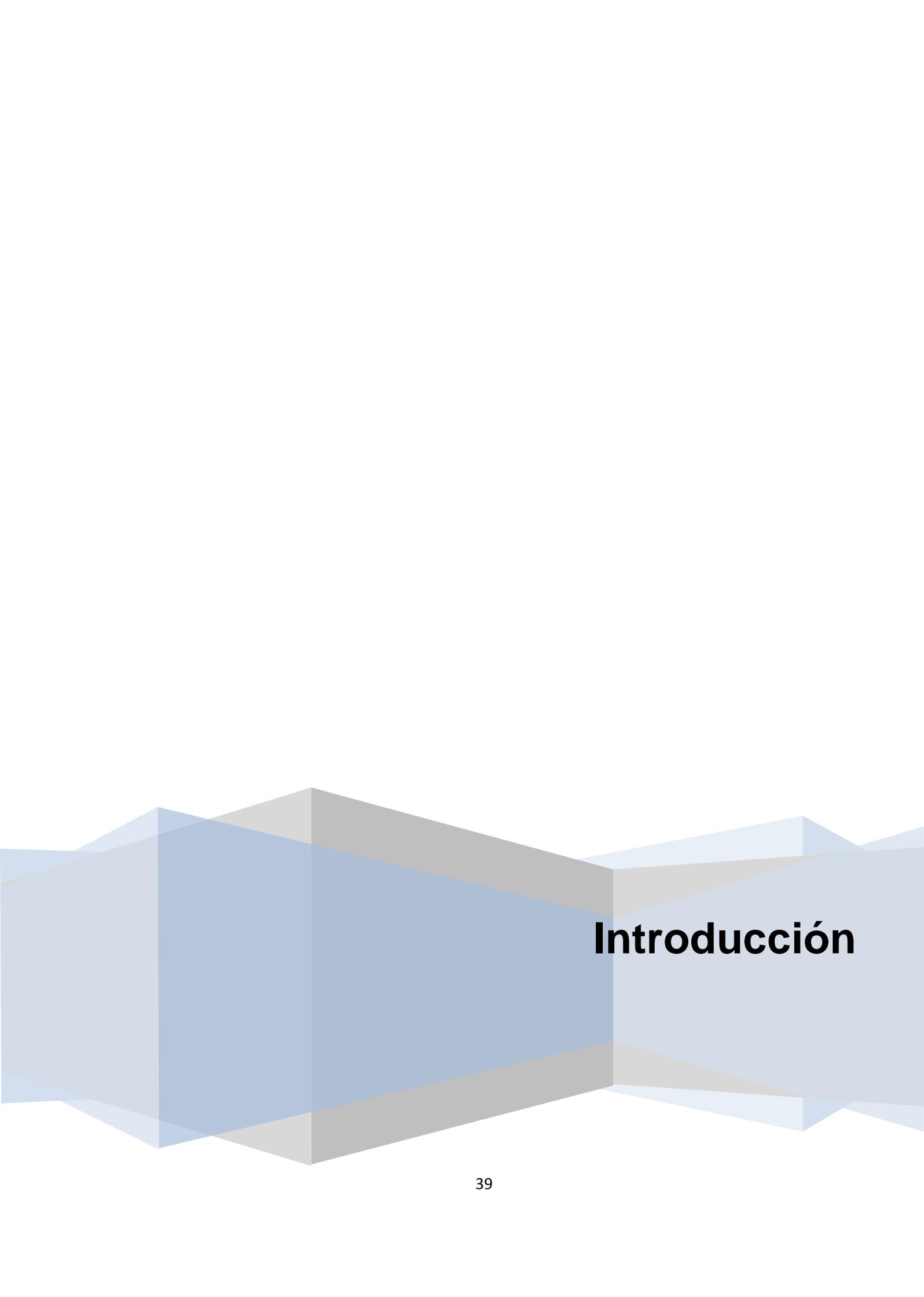
SDRA: síndrome de dificultad respiratoria aguda.

SII: *Systemic immune-inflammation index* (índice de inflamación inmunitaria sistémica).

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa.

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos.

VEGF: *Vascular Endothelial Growth Factor* (factor de crecimiento endotelial vascular).



Introducción

4 INTRODUCCIÓN

En diciembre de 2019, China anunció el brote de un nuevo coronavirus, denominado síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2) ¹. La presentación clínica de la enfermedad, denominada COVID-19 (*Coronavirus disease 2019*), oscila desde una forma leve y autolimitada, a un cuadro de insuficiencia orgánica múltiple y muerte ²⁻⁵.

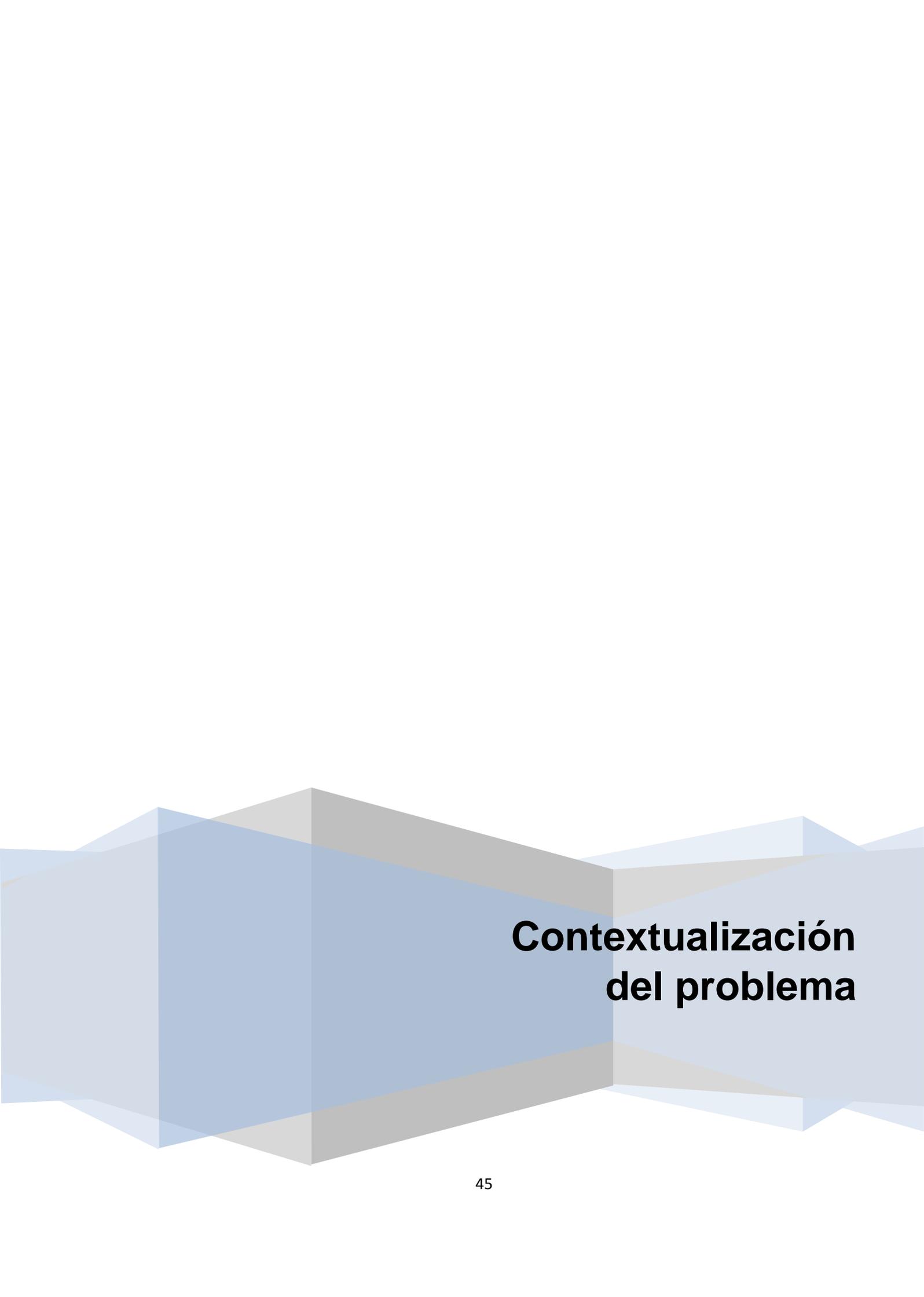
En enero de 2020 se notificó el primer caso de COVID-19 en España, y la primera muerte por la enfermedad se informó a mediados de febrero de 2020. El crecimiento de casos durante las semanas posteriores sucedió de una forma abrumadoramente exponencial, convirtiendo a España en uno de los países más afectados en todo el mundo. Madrid fue una de las regiones españolas más damnificadas en el inicio de la pandemia, ejerciéndose una desbordante presión sobre el sistema sanitario. Uno de los retos más difíciles que tuvimos que afrontar los profesionales sanitarios al comienzo de la pandemia de COVID-19 fue el enfrentarnos a una enfermedad completamente nueva y desconocida. No existía evidencia científica al respecto y debíamos actuar con mucha celeridad ante el incesante número de contagiados y enfermos. Durante muchos meses, el conocimiento de la enfermedad se ha convertido en una prioridad para todos los profesionales sanitarios, independientemente de su cargo y especialidad. La urgencia por elaborar y distribuir protocolos de actuación médica ha modificado la forma de trabajar de la comunidad científica.

Se ha generado un volumen de material científico sin precedentes, siendo además rápidamente accesible y de veloz divulgación. La rápida secuenciación del genoma del SARS-CoV-2 facilitó el diagnóstico de la enfermedad y ayudó a diseñar estrategias para minimizar los contagios.

Se han probado fármacos utilizados en patologías con cierta similitud fisiopatológica y se han llevado a cabo multitud de ensayos clínicos para estudiar su eficacia. En tiempo record se han desarrollado diferentes tipos de vacunas frente al SARS-CoV-2, con exitosa eficacia y que han generado un enorme interés a nivel mundial.

La pandemia ha aflorado muchas fragilidades a escala mundial, pero igualmente ha revalorizado la labor y entrega del personal sanitario, a la par que el trabajo extenuante de los científicos y los laboratorios de investigación frente a una situación nueva y extremadamente difícil.

La tremenda crisis sanitaria ha puesto de manifiesto la necesidad de aunar conocimientos y recursos científicos a nivel mundial. Una situación como esta sólo podrá superarse gracias a la ciencia y la investigación. Nuestra esperanza está depositada en varias estrategias prometedoras como son la eficacia y amplia distribución de las vacunas, el diseño de herramientas que identifiquen el pronóstico de los enfermos, la búsqueda de tratamientos idóneos y el fortalecimiento de las medidas de prevención y salud pública.



Contextualización del problema

4.1 CONTEXTUALIZACIÓN DEL PROBLEMA: DESCUBRIENDO LA COVID-19

4.1.1 Cronología de la enfermedad

A finales de diciembre de 2019, varias autoridades de salud locales informaron sobre grupos de pacientes con neumonía de causa desconocida, que estaban epidemiológicamente vinculados a un mercado de mariscos en Wuhan, ciudad del sur de China perteneciente a la provincia de Hubei^{6,7}.

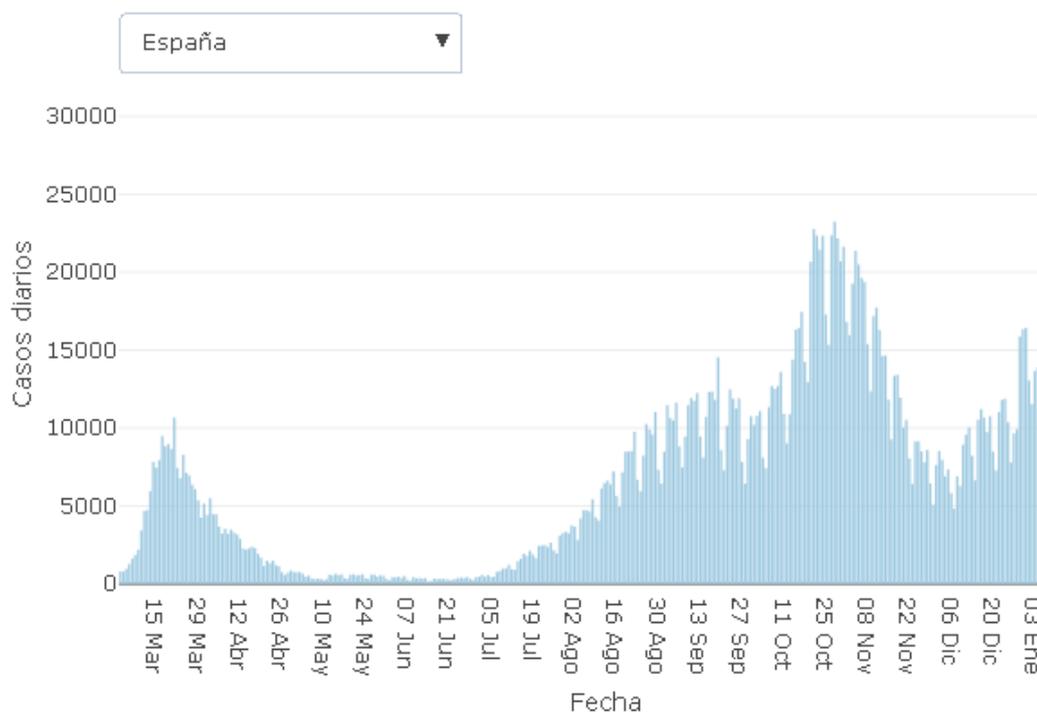
El 7 de enero de 2020, las autoridades chinas identificaron como agente causante del brote un nuevo tipo de virus de la familia *Coronaviridae*, que posteriormente fue denominado SARS-CoV-2 (*severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*), llamándose a la enfermedad producida COVID-19. El virus fue secuenciado genéticamente el 10 de enero de 2020. La secuencia genética fue compartida por las autoridades chinas de forma inmediata.

El primer caso registrado en España tuvo lugar el 31 de enero 2020, un paciente alemán ingresado en La Gomera. El 24 de febrero el virus dio el salto a la península, detectándose los primeros casos en la Comunidad de Madrid, Cataluña y la Comunidad Valenciana. A partir de entonces, el número de contagiados aumentó de forma abrumadoramente exponencial en España y a nivel mundial. El 11 de marzo de 2020 la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró oficialmente el estado de pandemia mundial. En España se decretó el estado de alarma a consecuencia de la COVID-19 el 14 de marzo de 2020, concluyendo el 21 de junio de 2020.

A 31 de diciembre de 2020, fecha de redacción de la tesis doctoral, se han notificado 1.928.265 casos de COVID-19 en España y la cifra total de fallecidos es de 50.837. En Europa se han notificado al menos 25.361.223

casos confirmados ⁸. El número de casos confirmados de COVID-19 en todo el mundo supera los 81.100.000 y el número de fallecidos por COVID-19 es de 1.791.246 ⁹.

La curva epidémica de la pandemia COVID-19 en España se ha diseñado a partir de los datos notificados a la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) a través de la plataforma informática vía Web SiViES (Sistema de Vigilancia de España) que gestiona el Centro Nacional de Epidemiología. Anexo 1.



Anexo 1. Curva epidémica de la pandemia. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE). Centro Nacional de Epidemiología.

Fuente: Ministerio de Sanidad. <https://cnecovid.isciii.es/>

Los científicos españoles del Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III realizaron la secuenciación completa del virus en el mes de marzo, gracias a las muestras respiratorias de pacientes procedentes de diferentes áreas geográficas de España. Este proceso ha permitido conocer mejor las características del virus, y rastrear cómo ha evolucionado y se ha propagado por el mundo.

Como todos los virus, el SARS-CoV-2 ha ido sufriendo pequeñas mutaciones genéticas, algo que sucede cuando los virus van generando copias de su genoma en el proceso de infección. Las nuevas variantes del virus, como la denominada VUI 202012/01 descrita recientemente en el Reino Unido, se van seleccionando de forma natural en función de sus ventajas evolutivas, como por ejemplo una mayor transmisibilidad.

4.1.2 Virología

El SARS-CoV-2 pertenece a la familia Coronaviridae, que comprende 4 subfamilias (α , β , γ , y δ) que normalmente infectan a aves y mamíferos. Siete especies pueden afectar al ser humano; cuatro de ellas (hCoV-229E, hCoV-NL63, hCoV-OC43 y hCoV-HKU1) causan infecciones respiratorias altas (catarro común), pero tres de ellas son capaces de dañar de forma grave a las vías respiratorias bajas: SARS CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2 ¹⁰.

Los nuevos coronavirus parecen emerger periódicamente en humanos, debido a la amplia distribución y su gran diversidad genética. En las últimas dos décadas se han descrito tres brotes epidémicos por coronavirus emergentes que se asocian a una elevada morbimortalidad. El primero, producido por el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) que emergió en 2002 y ocasionó en 2003 más de 8000 casos en 27 países con una letalidad cercana al 10%. El segundo, por el coronavirus del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS-CoV) que desde 2012, ha originado 2519 casos en 27 países, especialmente en Arabia Saudí, con una letalidad del 34%. Por último, el brote generado por el SARS-CoV-2 en 2019, responsable de la enfermedad COVID-19.

El SARS-CoV-2 fue identificado como un nuevo Betacoronavirus, subgénero Sarbecovirus, y se relacionó con coronavirus de murciélagos (*Rhinolophus bat*). Se ha descrito que tiene un origen zoonótico y posiblemente se transmite a través de un huésped animal intermediario, un mamífero exótico, el pangolín (*Manis javanica*). Muy probablemente, el virus adquirió la capacidad de transmitirse entre humanos gracias a una mutación en la glicoproteína de superficie S ¹¹.

4.1.2.1 Estructura del virus

Los coronavirus son virus esféricos, con una envoltura de bicapa lipídica con glicoproteínas, que contienen en su interior ARN monocatenario de polaridad positiva. El genoma del virus SARS-CoV-2 codifica 4 proteínas estructurales: la proteína S (*spike protein*), la proteína E (*envelope*), la proteína M (*membrane*) y la proteína N (*nucleocapsid*). Además, codifica al menos 8 proteínas funcionales no estructurales, entre las cuales destacan una ARN polimerasa ARN dependiente, dos proteasas y una helicasa ¹⁰.

El SARS-CoV-2 efectúa su entrada en la célula mediante la unión de su proteína S al receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA 2). Este receptor se expresa de forma habitual en la membrana de muchas células, entre ellas las células alveolares del epitelio pulmonar. Al fusionarse la membrana viral con la célula, se libera el genoma vírico al interior del citoplasma de la célula infectada generando ARN genómico y proteínas estructurales. Los elementos se ensamblan en una vesícula y se exocitan de la célula desencadenando la diseminación local y sistémica ¹⁰.

La unión de esta proteína y este receptor es fundamental para que el SARS-CoV-2 comience una nueva infección, por tanto, es un punto clave para el desarrollo de fármacos y vacunas específicos ¹².

4.1.3 Epidemiología

El número básico de reproducción (R_0) es el número medio de casos secundarios producidos a partir de un caso. Nos ayuda a estimar la velocidad con que una enfermedad puede propagarse en una población. En el SARS-CoV-2, el R_0 estimado es de 2.2-3.5, es decir, cada individuo infectado, causa entre 2-3 nuevas infecciones. Se considera que la transmisión comunitaria se interrumpe cuando el R_0 es inferior a 1 ^{13,14}.

La letalidad resulta del número de fallecidos del total de expuestos. La estimación precisa de la letalidad es muy complicada en la actualidad. El tiempo que transcurre entre el diagnóstico y el desenlace, así como el grado de infra-notificación de los casos, varía con el tiempo y entre ciudades y países. En dos series de casos hospitalizados publicadas, se ha reflejado una letalidad del 11% y 15% respectivamente ^{2,3}. Un estudio liderado por investigadores del Centro Nacional de Epidemiología del Instituto de Salud Carlos III y publicado en noviembre de 2020 ha estimado una letalidad en la población no institucionalizada en España entre el 0.8 y el 1.1% por cada 100.000 casos. Este dato está por encima del que se calcula para otros virus respiratorios, como el de la gripe, unas diez veces menor. Además, el estudio muestra que la letalidad es mayor en hombres que en mujeres y asciende significativamente a partir de los 50 años ¹⁵.

El periodo medio de incubación de la enfermedad COVID-19 se ha estimado entre 4 y 7 días con un promedio de 5 días. En el 95% de los casos el desarrollo de síntomas sucedió a los 12,5 días después de la exposición ^{7,16}.

Una de las dudas suscitadas respecto a la transmisibilidad del SARS-CoV-2 es el papel de los infectados asintomáticos o en una fase

presintomática. En los niños parece que el período de incubación es más corto que en adultos, aproximadamente de dos días ¹⁷.

La media de edad comunicada en la mayoría de los países se sitúa en torno a 55 años. La prevalencia de casos confirmados en niños ronda el 1-2% del total de los casos diagnosticados ¹⁷.

4.1.4 Transmisión

El virus SARS-CoV-2 se caracteriza por una rápida transmisión de persona a persona lo que provoca una veloz propagación del brote. Las personas que están infectadas que no presentan síntomas también pueden propagar el virus a otras personas. Sabemos que una proporción significativa de los pacientes con infección asintomática por SARS-CoV-2 (estimado 40-45%) pueden diseminar la enfermedad ¹⁸.

Cuando las personas con COVID-19 tosen, estornudan, hablan o respiran, producen partículas diminutas respiratorias (gotas de Flügge). Estas pequeñas partículas y gotitas respiratorias pueden quedar suspendidas en el aire durante minutos u horas, y de esta forma, pueden infectar a las personas que están cerca de la persona infectada o incluso después de que la persona infectada haya abandonado el lugar ¹⁸.

Esta transmisión es más probable dentro de espacios cerrados con ventilación inadecuada o si la persona infectada respira intensamente, por ejemplo, al cantar, al gritar o al hacer ejercicio físico. Una persona infectada emite gotas de Flügge que pueden permanecer durante un tiempo prolongado en un espacio cerrado, desde más de 30 minutos a incluso varias horas. La carga vírica en algunos espacios puede infectar a personas que están a más de 6 pies de distancia o que pasan por ese espacio poco después de que la persona contagiosa se haya ido ¹⁸.

Estas gotas poseen un amplio espectro de tamaños y pueden dividirse en dos categorías básicas en función del tiempo que pueden permanecer suspendidas en el aire:

- Las gotas más grandes, algunas incluso son visibles, caen rápidamente del aire mientras están cerca de la fuente.
- Las gotas y partículas más pequeñas (formadas cuando pequeñas gotas se secan en la corriente de aire) pueden permanecer

suspendidas durante minutos u horas y son capaces de viajar lejos de la fuente utilizando las corrientes de aire.

La COVID-19 se transmite con menor frecuencia a través del contacto con superficies u objetos contaminados. A pesar de que las gotas de Flügge también pueden depositarse sobre superficies y objetos, las personas podrían contagiarse después de tocar la superficie u objeto contaminado luego se tocan la boca, la nariz o los ojos. No obstante, ésta no se cree que sea una forma habitual de propagación de la COVID-19. Por el momento, el riesgo de propagación del COVID-19 de animales a personas se considera bajo.

Hasta la fecha, se han notificado algunos casos de reinfección por SARS-CoV-2, pero son poco frecuentes ¹⁸.

4.1.5 Clínica

El SARS-CoV-2 no causa los mismos síntomas en todas las personas y, de hecho, muchos individuos infectados son asintomáticos, aunque tienen el riesgo potencial de transmitir la infección.

Los síntomas son similares a cualquier infección respiratoria aguda, con fiebre, tos seca, odinofagia, estornudos, mialgias y letargia (Tabla 1) ¹⁸. En general, la presentación clínica de la COVID-19 en los niños es más leve que en los adultos, y la progresión a formas graves es muy infrecuente ¹⁷.

Las características clínicas de la COVID-19 son parecidas a las producidas por el SARS-CoV. La fiebre y la tos son los síntomas dominantes, seguidos de los síntomas gastrointestinales. No obstante, las manifestaciones clínicas de esta enfermedad y la evolución clínica pueden ser muy variables de unos individuos a otros ¹⁸.

SÍNTOMAS DE LA COVID-19
<ul style="list-style-type: none">• Fiebre o escalofríos• Tos• Disnea• Dolor corporal o mialgias• Cefalea• Anosmia (pérdida de olfato) y disgeusia (alteración en el gusto)• Odinofagia• Congestión nasal o rinorrea• Náuseas o vómitos• Diarrea

Tabla 1. Síntomas de la COVID-19 ¹⁸.

El SARS-CoV-2, además de afectar las vías respiratorias, también tiene la capacidad potencial de afectar otros órganos lo que origina una gran diversidad de síntomas. Otras manifestaciones que se asocian a la COVID-19 son las siguientes:

- Manifestaciones dermatológicas: En ocasiones aparecen coincidiendo con la infección aguda y, en otros casos, tras el alta hospitalaria. Se han descrito: exantemas eritematosos, urticarias agudas, lesiones vesiculosas y lesiones de distribución acra en manos y pies.
- Manifestaciones neurológicas: Las más frecuentes son mareo, alteración del nivel de conciencia y accidentes cerebrovasculares.

4.1.5.1 Complicaciones

En torno a un 15-20% de los enfermos pueden agravarse de forma significativa, desarrollando neumonía, insuficiencia respiratoria, fallo renal agudo; patología cardiovascular (arritmias, trombosis o miocarditis), fallo hepático; problemas neurológicos (convulsiones, meningitis o ictus), e incluso pudiendo desencadenar un fallo multiorgánico y el fallecimiento (en torno al 1%) ¹².

4.1.5.2 Estadios clínicos

La enfermedad COVID-19 presenta 3 fases de gravedad creciente, en función de los hallazgos clínicos y la respuesta al tratamiento ¹⁹.

- 1ª fase (fase leve precoz): Predomina la replicación viral. El virus se multiplica y se establece en el sistema respiratorio del huésped. Se caracteriza por síntomas leves e inespecíficos, como malestar general, fiebre y tos seca. En el hemograma se puede objetivar linfopenia y neutrofilia. El tratamiento en esta etapa es principalmente sintomático. En determinados pacientes se puede

valorar el uso de remdesivir como tratamiento antiviral, ya que reduce la duración de la sintomatología y el riesgo de contagio y previene la progresión de la enfermedad. En esta fase el pronóstico es bueno.

- 2ª fase (fase intermedia): Disminuye la replicación viral y comienza a activarse la cascada inflamatoria en el pulmón. Se caracteriza por fiebre y tos, con o sin hipoxemia. En la radiología torácica aparecen infiltrados bilaterales u opacidades del vidrio esmerilado y aumenta la linfopenia en el hemograma. La mayoría de los pacientes en esta fase requieren hospitalización y vigilancia estrecha. El tratamiento consiste principalmente en medidas de apoyo y tratamientos antivirales, como el remdesivir. En pacientes con hipoxemia se recomienda añadir tratamiento antiinflamatorio con corticoesteroides. Este momento se considera una posible “ventana de oportunidad”, en el que una inmunomodulación precoz podría evitar la progresión de la enfermedad.
- 3ª fase (fase hiperinflamatoria): Una minoría de pacientes con COVID-19 progresarán a esta última y más grave fase de la enfermedad. Se caracteriza por la presencia de una “tormenta de citoquinas”, con niveles elevados de interleuquinas (IL-1, IL-2, IL-6), factor de necrosis tumoral- α , PCR (proteína C reactiva), ferritina y Dímero D, que desencadenan graves complicaciones respiratorias y sistémicas. El tratamiento en esta fase se centra en el uso de agentes inmunomoduladores que tratan de reducir la inflamación sistémica, como los corticoesteroides, tocilizumab (inhibidor de IL-6) o anakinra (antagonista del receptor IL-1). En general, el pronóstico en esta fase es desfavorable ¹⁹.

4.1.6 Diagnóstico microbiológico

Hasta el momento existen tres tipos de pruebas para el diagnóstico microbiológico del SARS-CoV-2:

- Pruebas de detección de ácidos nucleicos: reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (*reverse transcription polymerase chain reaction* o RT-PCR).
- Pruebas de detección de antígeno.
- Pruebas de detección de anticuerpos.

Pruebas de detección de ácidos nucleicos

La RT-PCR es la técnica de elección para el diagnóstico en la fase aguda de la infección, considerada la prueba “*Gold Standard*”. Gracias a la rápida secuenciación del SARS-CoV-2 y la difusión de la información científica se logró implementar una técnica de diagnóstico altamente sensible y específica desde el comienzo de la pandemia. Aunque puede detectar ARN viral incluso antes de la aparición de la clínica, su sensibilidad aumenta a partir de los 2 días tras el inicio de los síntomas y es máxima entre los 5-7 días, cuando se produce el pico de excreción viral. Posteriormente, su sensibilidad va disminuyendo, aunque puede permanecer siendo positiva en algunos pacientes al final de la segunda semana de enfermedad, e incluso tras haber cedido los síntomas. Esta detección tardía no es sinónimo de enfermedad, ya que la prueba puede detectar ARN viral no viable (no equivalente al virus vivo), y por tanto, no implica necesariamente que ese paciente pueda transmitir el virus.

Es importante reconocer que la precisión de la prueba se ve afectada por la calidad de la muestra, y por tanto, es fundamental que la muestra se obtenga de manera adecuada. Las muestras con mayor rendimiento diagnóstico son el lavado broncoalveolar, el aspirado bronquial y el esputo. Sin embargo, las más utilizadas son la nasofaríngea y orofaríngea, que pueden tomarse con la misma torunda de forma simultánea. Después de la recolección, los hisopos se colocan en un

líquido para liberar el ARN viral en la solución. A continuación, el ARN viral se extrae de esa solución y posteriormente se amplifica ²⁰.

Pruebas de detección de antígeno

Los antígenos virales (proteínas N y S) se pueden detectar por inmunocromatografía, en aproximadamente 15 minutos, pero son menos sensibles que la RT-PCR.

Pruebas de detección de anticuerpos

Los anticuerpos IgG e IgM frente al SARS-CoV-2 se pueden detectar en suero del paciente por técnicas de inmunocromatografía, ELISA o quimioluminiscencia. Detectan la presencia de anticuerpos frente al SARS-CoV-2 en muestras de sangre, suero o plasma. Hay técnicas que detectan los anticuerpos totales y otros que diferencian entre IgM e IgG. La mayoría de los pacientes sufren seroconversión entre 7 y 11 días después de la exposición al virus, aunque algunos pacientes pueden desarrollar anticuerpos antes, incluso 3 días después de haber adquirido la infección. Los anticuerpos IgM empiezan a aumentar a los 5-7 días tras la infección, aunque los test los detectan mejor a los 8-14 días. Pasados 15-21 días aparecen los anticuerpos de tipo IgG. Por tanto, la principal utilidad de estas técnicas es el diagnóstico tardío de la infección (pacientes que sufrieron la enfermedad o pacientes con RT-PCR negativa en fase de convalecencia), el rastreo de contactos y la vigilancia serológica ²¹.

La evidencia sugiere inmunidad protectora después de la resolución de una infección primaria, pero aún no sabemos con certeza si las personas infectadas con SARS-CoV-2 estarán protegidas, total o parcialmente, de futuras infecciones por el virus y sus variantes, ni cuánto tiempo puede durar la inmunidad protectora ²².

4.1.7 Tratamiento

Hasta la fecha, no existe un tratamiento con evidencia científica demostrada, lo que ha llevado al empleo de diferentes pautas terapéuticas, en muchas ocasiones, con modificaciones rápidas de los protocolos. Las estrategias de reposicionamiento de fármacos, que eran útiles en otras enfermedades, no han resultado del todo exitosas. Recientes revisiones en publicaciones con importante factor de impacto han destacado la falta de terapias probadas y la necesidad de ensayo clínicos que permitan establecer pautas de tratamiento claras y objetivas. Multitud de estudios tratan de buscar actualmente tratamientos específicos efectivos contra la COVID-19.

Los datos más robustos provienen de dos grandes estudios multicéntricos, *Solidarity Therapeutics Trial*, promocionado por la OMS, y *Randomised Evaluation of COVID-19 Therapy* (RECOVERY), realizado en Reino Unido, que están analizando la eficacia de diferentes tratamientos frente a la enfermedad. El ensayo clínico RECOVERY actualmente ha reclutado casi 40.000 pacientes en el Reino Unido y se han ido facilitando resultados preliminares de los diferentes fármacos en distintas publicaciones científicas.

Las principales líneas terapéuticas frente a la COVID-19 están enfocadas en desacelerar la actividad del virus y reducir la respuesta inmunitaria excesiva. Dado que la enfermedad presenta varias fases evolutivas, se han propuesto tratamientos enfocados a la etiopatogenia de dichas fases. En la fase inicial, caracterizada por una elevada carga vírica, se hace hincapié en los tratamientos antivíricos. En la segunda fase, en la que predomina la respuesta inflamatoria, se da mayor importancia a los fármacos antiinflamatorios ²³.

4.1.7.1 Tratamiento antivírico

1) Lopinavir/ritonavir

El lopinavir es un inhibidor de la proteasa empleado en el tratamiento del virus de la inmunodeficiencia humana. Su combinación con ritonavir prolonga su vida media. Dado que presenta actividad demostrada *in vitro* frente al virus SARS-CoV-1, se postuló que podría ser efectivo frente a SARS-CoV-2. Sin embargo, diversos ensayos clínicos no demuestran su eficacia en comparación con el tratamiento estándar ²⁴⁻²⁶.

El ensayo randomizado RECOVERY ha demostrado que no existe ningún beneficio clínico al usar lopinavir/ritonavir en los pacientes hospitalizados con COVID-19 ²⁷.

2) Remdesivir

El remdesivir es un profármaco, análogo de los nucleótidos, que actúa inhibiendo las ARN polimerasas víricas. Presenta amplia actividad contra diversos virus, entre ellos, filovirus (virus Ébola, virus de Marburg), coronavirus (SARS-CoV-1, MERS-CoV) y paramixovirus (virus respiratorio sincitial). Se han publicado recientemente varios estudios sobre el uso de remdesivir en COVID-19 y, a partir del 20 de mayo de 2020, el Ministerio de Sanidad aprobó su uso en pacientes con COVID-19 hospitalizados con enfermedad grave ²⁸⁻³⁰

3) Hidroxicloroquina y azitromicina

La hidroxicloroquina es una 4-aminoquinolina antipalúdica que ha demostrado tener actividad *in vitro* contra diversos virus de ARN, incluido el SARS-CoV-2 ³¹.

Sin embargo, el efecto del fármaco *in vivo* es aún una incógnita. A pesar de los beneficios teóricos, la eficacia de la hidroxicloroquina y la azitromicina, ampliamente utilizadas durante la primera ola de la

enfermedad en España, ha sido discutida según los resultados de varios ensayos clínicos, en los que no se asoció a una mejoría en la mortalidad hospitalaria ³².

El ensayo randomizado RECOVERY ha demostrado que no existe ningún beneficio clínico al usar hidroxicloroquina o azitromicina en los pacientes hospitalizados con COVID-19 ^{33,34}.

4) Interferón-β 1b

El interferón-β 1b es un fármaco empleado en el tratamiento de la esclerosis múltiple, que posee actividad antivírica e inmunorreguladora, con actividad in vitro demostrada frente al SARS-CoV y MERS ³⁵.

Se ha empleado en monoterapia o en combinación con lopinavir/ritonavir, pero es importante tener presente sus potenciales interacciones farmacológicas y efectos adversos.

Aunque existen ensayos clínicos en marcha donde se está evaluando la eficacia y seguridad de los interferones de tipo I para el tratamiento de SARS-CoV-2, no existe por el momento evidencia procedente de ensayos clínicos controlados.

4.1.7.2 Tratamiento antiinflamatorio

1) Corticoides

La afectación pulmonar aguda y el SDRA (Síndrome de dificultad respiratoria aguda) parecen estar influenciadas por la respuesta inmunitaria del paciente. En los pacientes con COVID-19, particularmente aquellos con neumonía y SDRA, se han observado niveles elevados de citoquinas proinflamatorias y otros marcadores

inflamatorios. Por estos motivos, se empezaron a utilizar los esteroides en la COVID-19. Los más utilizados son la metilprednisolona y la dexametasona.

El ensayo randomizado RECOVERY concluyó que la dexametasona reduce la mortalidad en pacientes hospitalizados con complicaciones severas por COVID-19; hasta una tercera parte en los pacientes en ventilación mecánica y en una quinta parte en los pacientes que sólo recibieron oxígeno. De esta manera la dexametasona se ha postulado como el primer fármaco demostrado que reduce la mortalidad por COVID-19 ³³.

4.1.7.3 Tratamiento inmunomodulador

En los pacientes con COVID-19 los niveles séricos elevados de citoquinas proinflamatorias parece ser uno de los principales mecanismos responsables de la evolución fatal de la enfermedad, por ello se han propuesto las siguientes opciones terapéuticas:

1) Tocilizumab

El tocilizumab es un anticuerpo monoclonal recombinante que bloquea tanto el receptor soluble como el receptor de membrana de la IL-6. Se ha utilizado como tratamiento de la artritis reumatoide y el síndrome de liberación de citoquinas tras la terapia de células T con receptor de antígeno quimérico (CAR-T).

El ensayo randomizado RECOVERY ha demostrado que el tocilizumab acorta el tiempo de ingreso hospitalario, reduce la necesidad de ventilación mecánica y reduce la mortalidad en pacientes hospitalizados con COVID-19 grave ³⁶.

La recomendación actual del Ministerio de Sanidad de España y la AEMPS es seguir los protocolos de manejo clínico de cada hospital y administrarlo en aquellas fases de la enfermedad en las que es más probable frenar la cascada inflamatoria y, de esta forma, evitar la necesidad de ventilación mecánica. Por ello, se recomienda ajustar el tratamiento a grupos de pacientes que estén más graves ³⁰.

2) Anakinra

Anakinra es un antagonista recombinante del receptor de la IL-1, empleado en el tratamiento de la artritis reumatoide y la enfermedad de Still. Se ha propuesto que anakinra podría ser un tratamiento adecuado para síndromes autoinflamatorios y el síndrome de activación macrofágica. Por estos motivos, se planteó que podría tener un efecto potencial al reducir la inflamación sistémica y el daño pulmonar producido por el SARS-CoV-2 ³⁷.

Existen ensayos clínicos en marcha en los que se está evaluando la eficacia y seguridad de este fármaco para el tratamiento de la COVID-19, pero de momento evidencia de su utilidad procedente de ensayos clínicos controlados.

4.1.7.4 Tratamiento con plasma convaleciente

El tratamiento con plasma convaleciente se ha utilizado clásicamente para la prevención y tratamiento de diversas enfermedades infecciosas. Dos series de casos publicadas concluyeron que el tratamiento con plasma convaleciente podría ser una opción terapéutica de rescate segura y fácilmente accesible para pacientes con COVID-19 grave ^{38,39}.

En el ensayo randomizado RECOVERY se siguen reclutando pacientes en el brazo de tratamiento con plasma convaleciente y continúa el seguimiento de estos pacientes. No obstante, los resultados preliminares arrojan que, entre los pacientes hospitalizados con COVID-19, el plasma convaleciente no mejora la supervivencia ⁴⁰.

4.1.7.5 Profilaxis antitrombótica y anticoagulación

Muchos de los enfermos críticos con COVID-19 desarrollan coagulopatía acompañado de marcadores de inflamación elevados. La trombosis microvascular podría desempeñar un importante papel en la hipoxemia y el fallo multiorgánico de estos pacientes.

Varios estudios han investigado la asociación de la tromboprofilaxis y la anticoagulación con la mortalidad.

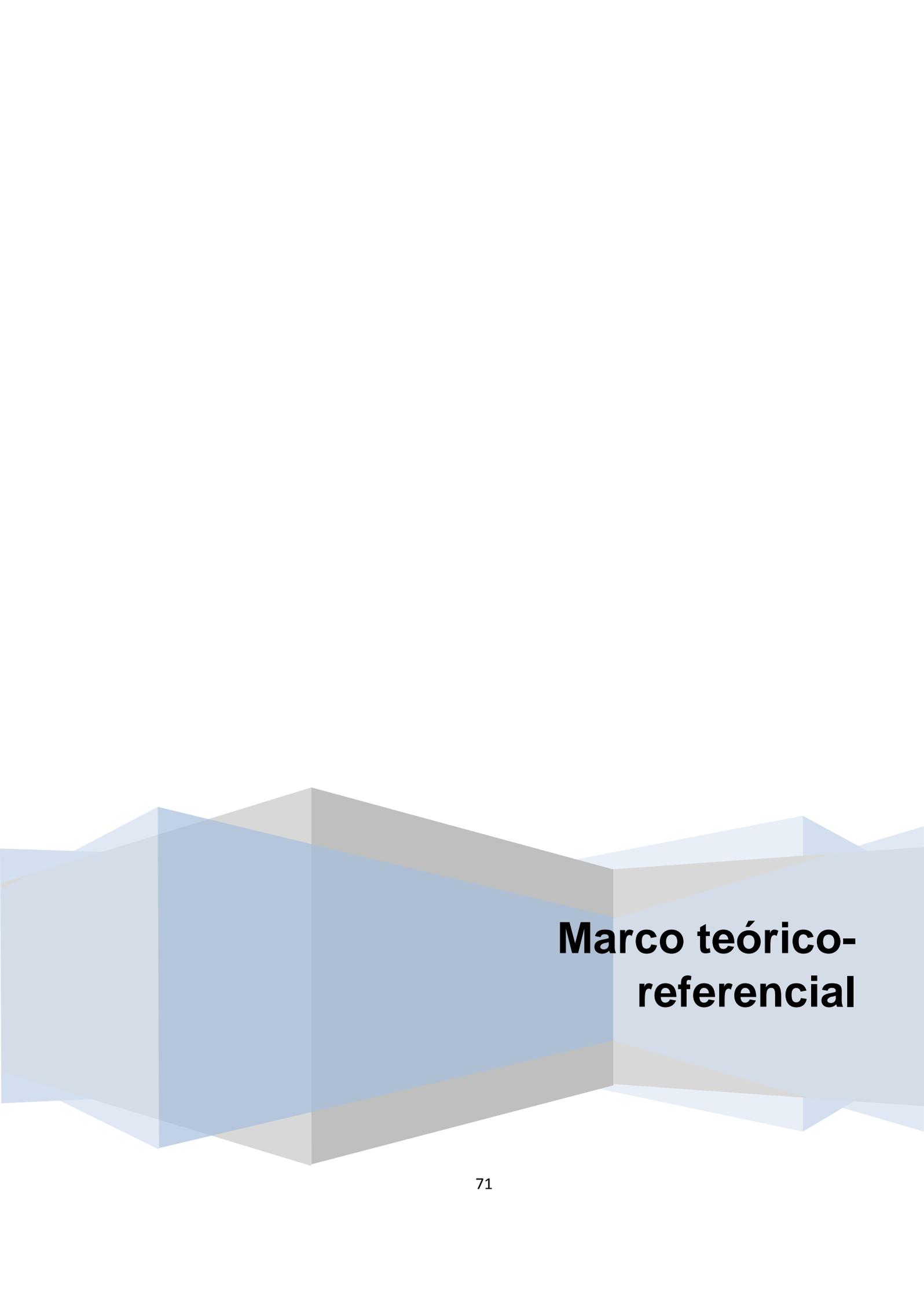
Basándose en la evidencia científica actual y en las sociedades internacionales, se recomiendan esquemas terapéuticos de profilaxis antitrombótica y tratamiento anticoagulante en pacientes hospitalizados con COVID-19 ^{41,42}.

4.1.8 Vacunación

En el momento actual, existen aproximadamente 60 vacunas frente a la COVID-19 en diferentes fases de ensayos clínicos y 200 en investigación preclínica. Las vacunas desarrolladas responden a varias estrategias:

- Por un lado, estrategias tradicionales en la producción de vacunas, como son la utilización de virus inactivados (vacunas de las empresas chinas SinoVac y Sinopharm del Instituto de productos Biológicos de Pekín) y de subunidades purificadas de la proteína S (vacunas de las empresas Sanofi- GSK y Novavax).
- Dentro del apartado de vacunas de última generación, un grupo de vacunas emplean un vector vírico recombinante no replicante (adenovirus de animales, por ejemplo del chimpancé, no infectivos para el hombre). Contienen en su genoma la maquinaria necesaria para la expresión de epítomos de la proteína S del SARS-CoV-2, que desencadenan la producción de anticuerpos. Sin embargo, no poseen las secuencias para poder replicarse. Son las vacunas de AstraZeneca-Oxford, CanSinoBIO-Instituto Biotech de Pekín, Janssen y Gamela (vacuna rusa Gam-COVID-Vac o Sputnik V).
- Otro grupo de vacunas de última generación se constituyen en forma de nanopartículas lipídicas capaces de internalizarse en el citoplasma de la célula y, una vez allí, liberar ARN mensajero que induce la posterior síntesis proteica. De esta manera generan secuencias de aminoácidos similares a la proteína S que condicionarán la producción de anticuerpos. Son las vacunas de Pfizer-BioNTech, Moderna y Urevac. Es importante reseñar que este ARN mensajero no se integra en el núcleo de la célula eucariota y, por tanto, no se integra en el genoma humano.

Todas estas vacunas desarrolladas se administran por vía intramuscular y la mayoría requieren dos dosis. Los datos disponibles de los ensayos publicados son optimistas en cuanto a seguridad y capacidad inmunogénica, que oscila entre un 70%-95%. Los efectos secundarios reportados son escasos o de poca importancia, la mayoría son reacciones locales o sistémicas leves. La duración de la protección por el momento se desconoce y es muy posible que sean necesarias sucesivas inmunizaciones para mantenerla.



Marco teórico- referencial

4.2 MARCO TEÓRICO-REFERENCIAL

4.2.1 La función del sistema inmune en la COVID-19

El sistema inmune se activa ante la presencia de un antígeno a través de las citoquinas y quimioquinas producidas por células CD8+ y células NK. Se considera la primera línea de defensa del cuerpo frente a agentes nocivos. Sin embargo, algunos virus desarrollan mecanismos de evasión de la respuesta inmunitaria en las que se puede perder el equilibrio originando una disregulación inmune, de forma que, en vez de ocasionar un efecto beneficioso, producen un daño al organismo. La gravedad de la enfermedad no solo se debe a la infección viral sino también a la respuesta que genera en el huésped.

En estas situaciones pueden generarse persistencia antigénica, exageración de la respuesta inmune y liberación desproporcionada de citoquinas proinflamatorias (factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interferón gamma (INF- γ), interleuquina 1 (IL-1), interleuquina 6 (IL-6) e interleuquina 10 (IL-10)). Los macrófagos activados perpetúan este estado mediante la producción de la proteína inflamatoria de los macrófagos 1 beta (MIP-1 Beta) y así se desencadena la llamada tormenta de citoquinas. Con anterioridad se había descrito esta tormenta de citoquinas en cuadros como la linfocitosis hemofagocítica hereditaria, el síndrome de activación macrofágica, el síndrome de distrés respiratorio agudo y también ligada a patología oncológica o infecciosa (virus de Epstein-Barr e influenza). Ahora se incorpora el SARS-CoV-2 como nuevo agente infeccioso que sería capaz de desencadenar esta tormenta de citoquinas ⁴³.

Diversos estudios realizados en el campo de la sepsis han relacionado la tormenta de citoquinas con los niveles de IL-6, por encima de niveles de 1000-2000 pg/mL. La IL-6 es un indicador de la magnitud de la respuesta inflamatoria en la sepsis y se correlaciona con la gravedad y el pronóstico de la enfermedad ⁴⁴.

En esta línea, varios autores han demostrado el papel de la IL-6 como predictor de gravedad en los pacientes con COVID-19 ⁴⁵⁻⁴⁸. Los niveles de IL-6 fueron más elevados en los pacientes con COVID-19 grave o que fallecieron, aunque bien es cierto que fueron valores muy por debajo de los niveles encontrados en pacientes con sepsis.

La evidencia acumulada sugiere que en un subgrupo de pacientes que presentan formas más graves de COVID-19 puede existir una respuesta hiperinflamatoria que desencadena una tormenta desproporcionada de liberación de citoquinas ^{49,50}. Esta producción descontrolada de citoquinas, que aumentan conforme se agrava la infección, proporciona el escenario de patogénesis del SARS-CoV-2 generando sepsis vírica, daño tisular, coagulación intravascular diseminada, shock e incluso fallo multiorgánico. Las citoquinas proinflamatorias inducen apoptosis en las células epiteliales, dendríticas y macrófagos del pulmón, lo que deteriora la barrera pulmonar microvascular y el intercambio gaseoso alveolar. Como consecuencia, aumenta la permeabilidad vascular, así como la cantidad de líquido y de células inflamatorias en los alveolos provocando disnea e insuficiencia respiratoria ^{45,51}.

Tras la infección por SARS-CoV-2, los linfocitos T CD4+ se activan rápidamente para convertirse en células T *helper* 1 (Th1) patógenas que producen citoquinas que estimulan a los monocitos inflamatorios CD14+ CD16+ generando la expresión de IL-6 y acelerando el proceso inflamatorio ⁵². Dicha inflamación, asociada a la desproporcionada

tormenta de citoquinas, se extiende de forma generalizada a través de la circulación sistémica, afectando diferentes órganos ⁵³.

Los macrófagos pulmonares infectados producen TNF- α e interleuquinas que causan apoptosis de células T y recirculación de linfocitos, con un reclutamiento masivo a nivel de los tejidos inflamados. Se desencadena así una linfopenia global, común en pacientes con COVID-19 grave ^{54,55}.

La COVID-19 es una enfermedad sistémica, en la que todos los órganos pueden verse afectados. Diversos estudios han puesto énfasis en una respuesta inmune anómala como punto de inicio de fenómenos de hipercoagulabilidad, daño endotelial y macro y microtrombosis, que desencadenarían consecuencias potencialmente mortales en los enfermos ⁵⁶.

La COVID-19 parece relacionarse con un estado procoagulante, ya que los pacientes desarrollan fenómenos tromboembólicos, tales como la trombosis venosa profunda y el tromboembolismo pulmonar, que conllevan un peor pronóstico. Se ha demostrado en los estudios anatomopatológicos de pulmones de pacientes con COVID-19 hallazgos de microangiopatía trombótica y hemorragias de forma frecuente y sistemática ^{57,58}.

En base a lo descrito previamente, se ha propuesto que un síndrome tromboinflamatorio obstructivo microvascular sea la base fisiopatológica subyacente a esta respuesta hiperinflamatoria. Este síndrome tromboinflamatorio endotelial de forma progresiva acabaría involucrando el lecho microvascular de diversos órganos vitales, lo que ocasionaría una insuficiencia orgánica múltiple y el fallecimiento ⁵⁹.

4.2.2 Los recuentos de células sanguíneas y sus cocientes

Los diferentes tipos de células sanguíneas y sus interacciones están íntimamente relacionados con procesos inflamatorios y oncológicos, respuestas inmunológicas y modificaciones de la homeostasis. Estas interacciones son complejas y es difícil discriminar las funciones específicas de cada tipo de célula en las diferentes fases de la misma enfermedad. Las plaquetas son los principales mediadores de la hemostasia, mientras que los leucocitos son los responsables de las respuestas inmunitarias ⁶⁰. Las poblaciones de glóbulos blancos (monocitos, linfocitos y neutrófilos) desempeñan un papel crucial en la respuesta inflamatoria sistémica frente a infecciones graves, lesiones, traumatismos y shock. Los recuentos diferenciales de glóbulos blancos se pueden medir de forma sencilla, son rentables y fiables y, por lo tanto, pueden utilizarse como marcadores de gravedad de la respuesta inmunológica e inflamatoria ⁶⁰.

Se han estudiado los siguientes índices como predictores del pronóstico de pacientes con neumonía viral: la relación neutrófilos / linfocitos (INL), la relación plaquetas / linfocitos (IPL), la relación linfocitos / monocitos (ILM) y el derivado-INL (recuento de neutrófilos dividido por el resultado del recuento de glóbulos blancos menos el recuento de neutrófilos) ⁶¹.

Como ya hemos reseñado anteriormente, los cuadros moderados y graves de COVID-19 parecen asociarse a una gran liberación de citoquinas, que conduce a un estado hiperinflamatorio y procoagulante. El daño de las células endoteliales podría ser un desencadenante importante de la descarga de citoquinas ⁶². De hecho, la respuesta inflamatoria del huésped a la infección por SARS-CoV-2 parece ser un factor fundamental en la evolución clínica de la COVID-19. Los glóbulos blancos y las plaquetas tendrían un papel directo en dicha inflamación y en la respuesta trombótica, por lo tanto resulta interesante investigar en esta línea. Se ha

observado que la mayoría de los casos graves de COVID-19 presentan recuentos bajos de linfocitos, recuentos de leucocitos e INL más elevados, así como porcentajes más bajos de monocitos, eosinófilos y basófilos ⁴⁵.

4.2.3 El índice neutrófilo-linfocito (INL)

Los neutrófilos son los glóbulos blancos más abundantes en la circulación sanguínea y representan la primera línea de defensa en la respuesta inmune innata ⁶³. Además, una vez activados, los neutrófilos adquieren gran capacidad migratoria desde el sistema sanguíneo al órgano o sistema afectados ⁶⁴. La acumulación de neutrófilos, asociada a la infección de células endoteliales por SARS-CoV2, desencadena endotelitis en diferentes órganos, contribuyendo así al daño sistémico hipóxico por alteración de la microcirculación ⁶³.

Los neutrófilos pueden liberar grandes cantidades de radicales libres de oxígeno, que inducen daño celular y la liberación de partículas virales de las células. Además, los neutrófilos son capaces de producir grandes cantidades de citoquinas y moléculas de señalización, como los VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*, factores de crecimiento endotelial). Dos de estos factores, el VEGF-A y el VEGF-C, presentan valores significativamente más elevados en pacientes con COVID-19 ⁶⁴.

El aumento en el número total de neutrófilos está estrechamente relacionado con el desarrollo del SDRA, una mayor gravedad de la enfermedad y el fallecimiento en pacientes con COVID-19 ⁶⁵.

Un marcador disponible y con gran valor para medir el estado inflamatorio del individuo es el INL, que resulta del cociente entre el recuento absoluto de los neutrófilos y los linfocitos de un hemograma rutinario ^{46,66,67}.

En la literatura se han citado diversos valores de INL, con distintos métodos realizados en poblaciones diferentes (con patología oncológica o no oncológica). Forget P. et al reportaron valores normales de INL entre 0,78 y 3,53 en una población adulta, no geriátrica, con buen estado de salud ⁶⁷.

Múltiples estudios han sugerido un papel pronóstico del INL en diversas enfermedades inflamatorias y procesos oncológicos ^{66,68}. Este cociente se eleva en pacientes con formas más avanzadas y graves de cáncer, según el estadio tumoral, la afectación ganglionar o el número de lesiones metastásicas ^{66,69,70}. El INL se ha asociado con diversas patologías metabólicas e inflamatorias, como son la artritis reumatoide ⁷¹, la cirrosis hepática ⁷², la colitis ulcerosa ⁷³ y la enfermedad renal terminal ⁷⁴, relacionándose con el grado de actividad de la enfermedad. Este ratio es incluso útil como marcador de actividad en enfermedades dermatológicas, como el lupus eritematoso sistémico y la psoriasis ^{75,76}, y además en patologías psiquiátricas, como el trastorno maníaco bipolar ⁷⁷.

Además, el INL también se ha relacionado con la enfermedad cardiovascular, y este ratio parece ser un marcador independiente de disfunción endotelial sistémica en sujetos asintomáticos ⁷⁸.

La respuesta inflamatoria podría estimular la producción de neutrófilos, e incluso, acelerar la apoptosis de los linfocitos. Se cree que las respuestas disreguladas de las células inmunitarias desempeñan un papel notable en la gravedad de las enfermedades ⁴⁶. Las respuestas inflamatorias graves determinan que la respuesta inmune adaptativa sea débil, lo que traduce un desequilibrio de la respuesta inmune. Por lo tanto, los biomarcadores inflamatorios e inmunológicos circulantes son posibles predictores del pronóstico de los pacientes con COVID-19 ⁷⁹.

4.2.4 El índice plaqueta-linfocito (IPL)

Otro tipo de células que están despertando gran interés en relación con la COVID-19 son las plaquetas. Las plaquetas contienen una gran cantidad de factores proinflamatorios que, al ser liberados, influyen activamente en los procesos inflamatorios. Diversos estudios han relacionado las variaciones en el recuento, el volumen y la reactividad plaquetarios con el grado de actividad de diferentes enfermedades de autoinmunes y su respuesta a los tratamientos ⁸⁰⁻⁸².

En la artritis reumatoide se ha relacionado el aumento del recuento del recuento plaquetario con la progresión de la enfermedad radiológica ⁸³. En el lupus eritematoso sistémico puede aparecer trombocitopenia que se correlaciona negativamente con la actividad del lupus, asociándose con artritis, alteraciones neurológicas, nefritis lúpica y hemorragias severas ⁸⁴.

En los niños con enfermedad de Kawasaki, recuentos plaquetarios persistentemente elevados pueden indicar una mala evolución de la enfermedad con riesgo de desarrollar aneurismas coronarios ⁸⁵. Igualmente, recuentos elevados de plaquetas también se asocian con afectación renal en niños con púrpura de Schönlein-Henoch ⁸⁶.

Las interacciones de las plaquetas con otras células sanguíneas han sido estudiadas en múltiples trabajos científicos. En sujetos sanos, las plaquetas modulan la actividad de los neutrófilos y los monocitos ⁸⁷.

Algunos estudios demuestran que el cociente entre el recuento de plaquetas y el recuento de linfocitos, denominado IPL, es un marcador de utilidad en enfermedades inmunomediadas, metabólicas, protrombóticas y neoplásicas. Su uso combinado con otros índices hematológicos complementarios, en particular el INL, aporta información adicional sobre el grado de actividad de la enfermedad y ayuda a monitorizar la respuesta

a los tratamientos antiinflamatorios. Incluso podría ayudar a la detección precoz de las comorbilidades que se desarrollan en el curso del tratamiento de la enfermedad.

Por ejemplo, en el cáncer colorrectal, el IPL a menudo aumenta junto con el INL, mientras que ambos disminuyen tras la resección del tumor ⁸⁸. En pacientes con enfermedad coronaria o con trombosis venosa, el IPL se correlaciona con la gravedad de la enfermedad ⁸⁹. En mujeres postmenopáusicas, el IPL está significativamente más elevado en mujeres con baja mineralización ósea, probablemente debido a que la situación de inflamación sistémica produce una alteración del transporte de calcio y el metabolismo de la vitamina D ⁹⁰.

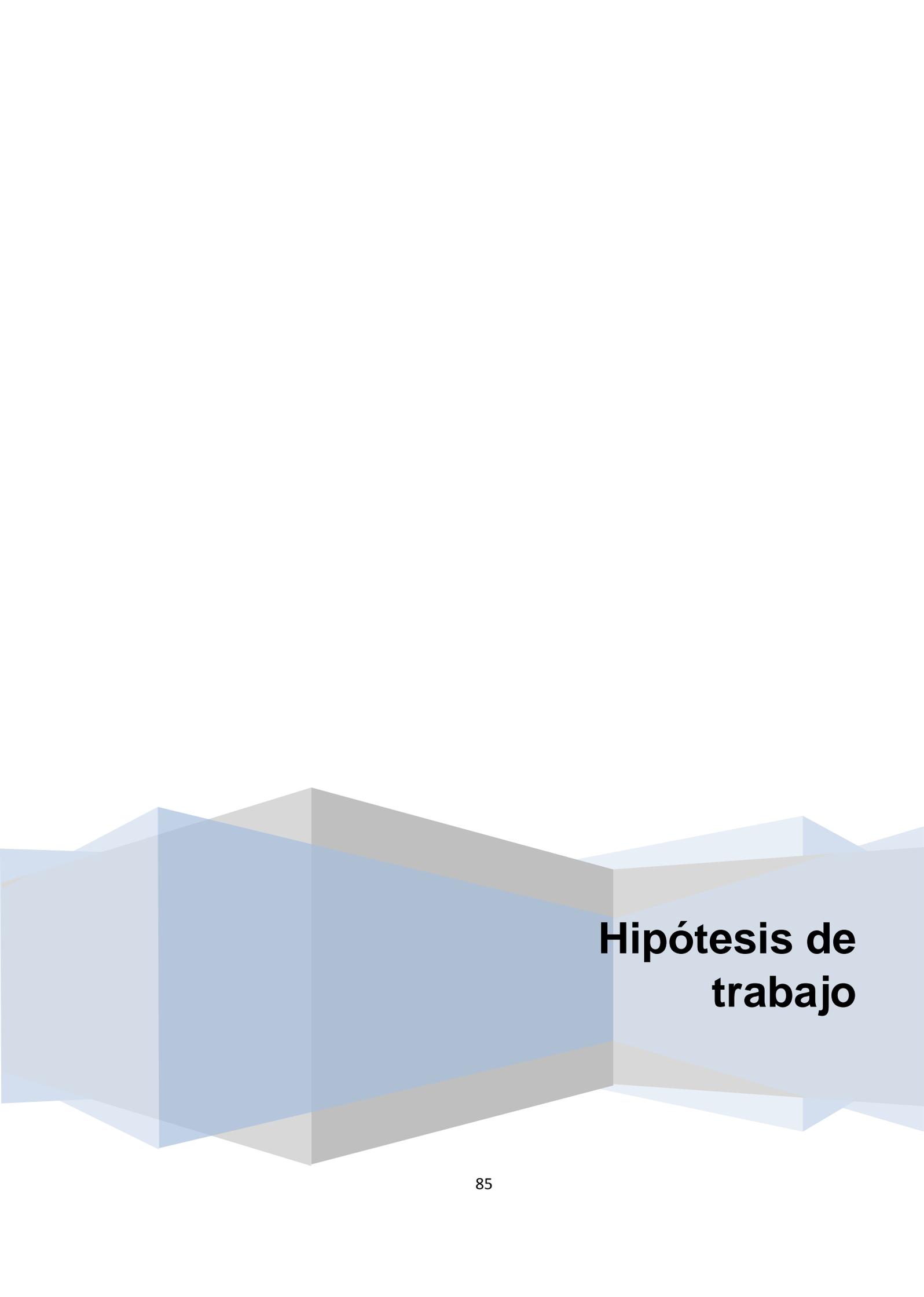
En pacientes con COVID-19, la lesión del tejido pulmonar y las células endoteliales pulmonares podría originar una activación, agregación y retención de plaquetas a nivel pulmonar, con la consiguiente formación local de trombos. Esta situación conduciría a una disminución en la producción de plaquetas y un aumento de su consumo ⁹¹. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que el recuento plaquetario se puede afectar por diferentes tratamientos y procedimientos invasivos concomitantes, como la intubación traqueal y el cateterismo venoso profundo.

El IPL refleja principalmente el nivel de inflamación sistémica, traduce la actividad de los megacariocitos en el tejido hematopoyético de la médula ósea y puede ser un indicador de trombosis. Además, podría tener un papel muy importante como indicador de la respuesta inflamatoria ya que revela el reclutamiento de neutrófilos y otras células inflamatorias en el lugar de la lesión.

Este ratio del hemograma es reflejo tanto de la agregación como las vías inflamatorias, y por ello algunos autores lo consideran más válido para valorar diversas enfermedades inflamatorias que los recuentos de

plaquetas o linfocitos por sí solos. La infección por SARS-CoV-2 causa una tormenta de citoquinas en los fluidos corporales, agravando la respuesta inflamatoria del paciente y estimulando la liberación de plaquetas.

Algunos autores consideran que el número de plaquetas y sus cambios dinámicos durante la evolución de la COVID-19 y el tratamiento puede tener una correlación con la tormenta de citoquinas, y por consiguiente, con la gravedad y el pronóstico de la enfermedad ⁹².



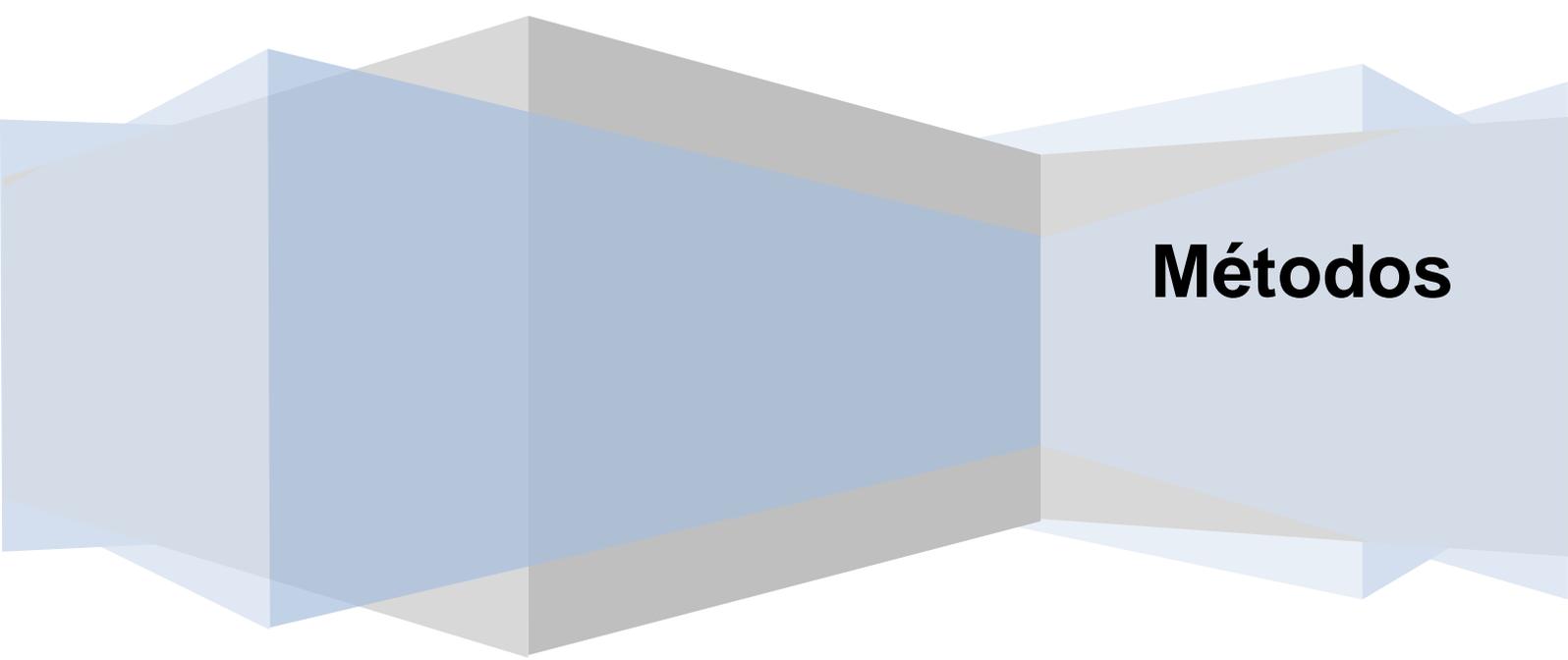
Hipótesis de trabajo

5 HIPÓTESIS DE TRABAJO

Hasta el momento, la mayoría de las investigaciones sobre COVID-19 se han centrado fundamentalmente en la epidemiología, las características clínicas y las modalidades terapéuticas de la enfermedad. No obstante, dado el impacto clínico de la COVID-19, es importante tratar de identificar factores de riesgo y variables rutinarias que ayuden a identificar el enfermo que puede padecer un cuadro potencialmente grave.

Los pacientes con enfermedades graves frecuentemente requieren la utilización de recursos médicos intensivos. Por ello, la identificación precoz de pacientes con alto riesgo de progresión a COVID-19 grave facilitará la atención médica, priorizando la monitorización estrecha y los tratamientos en esos pacientes, y ayudaría a reducir la tasa de mortalidad.

Basándonos en este fundamento y siguiendo las observaciones clínicas, planteamos la hipótesis de que el INL puede ser un parámetro útil, fiable, rentable y fácilmente disponible para identificar a los pacientes con mal pronóstico entre los casos hospitalizados de COVID-19.



Métodos

6 MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional retrospectivo que tuvo lugar en el Hospital Universitario HM Puerta del Sur, Madrid, que incluyó a 119 pacientes desde el 1 de marzo al 31 de marzo de 2020. Se incluyeron pacientes con infección confirmada o sospechada por SARS-CoV-2. La infección por SARS-CoV-2 se confirmó al ingreso mediante la prueba de RT-PCR. Durante el período de estudio, debido a la dramática situación pandémica con multitud de pacientes ingresados y escasez de pruebas RT-PCR, se produjeron cambios en el protocolo de diagnóstico establecido por el Ministerio de Sanidad español. Durante varias semanas, el diagnóstico de COVID-19 se basó únicamente en las características clínicas y los hallazgos en radiología torácica.

El protocolo terapéutico para COVID-19 en el momento del estudio incluía la administración de Lopinavir / Ritonavir junto con Hidroxicloroquina, sustituyéndose Lopinavir / Ritonavir por Azitromicina en aquellos pacientes que presentaban un intervalo QT prolongado. En los casos que presentaban empeoramiento respiratorio, se administraban tocilizumab y metilprednisolona según criterio del médico responsable.

La oxigenoterapia complementaria se administró en función de los niveles de saturación de oxígeno según fuera necesario, escalando desde gafas nasales, máscara de oxígeno con FiO₂ hasta el 50% hasta, finalmente, una máscara con reservorio. En caso de empeoramiento adicional, se indicó la administración precoz de oxigenoterapia mediante cánulas nasales de alto flujo (OAF).

Los pacientes con deterioro continuado de la función respiratoria que presentaban taquipnea superior a 35 rpm, desaturación intensa y / o estado de conciencia estuporoso a pesar de todas las intervenciones,

ingresaron en la UCI (Unidad de Cuidados Intensivos) donde se inició ventilación mecánica.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Local de Ética (número de aprobación 20.03.1573-GHM).

Durante el período de estudio, del 1 de marzo al 31 de marzo de 2020, ingresaron en el Hospital Universitario HM Puerta del Sur 371 pacientes con COVID-19. Cuarenta y cinco (12,1%) pacientes presentaron insuficiencia respiratoria aguda grave, de los cuales 25 (6,7% del total) ingresaron en UCI con necesidad de ventilación mecánica invasiva y 20 (5,3% del total) requirieron soporte respiratorio con OAF. Diecisiete (37,7%) pacientes de estos grupos fallecieron. En el momento en el que se analizaron los datos, 320 (86,2%) de los pacientes ingresados durante el período de estudio habían sido dados de alta, 47 (12,6%) fallecieron y 4 pacientes seguían aún ingresados en el hospital tras obtener el alta de la UCI.

Para el análisis estadístico se incluyeron todos los pacientes que presentaron un curso clínico grave, es decir, aquellos pacientes que requirieron ventilación invasiva o no invasiva y pacientes hospitalizados que fallecieron.

Según la clasificación ordinal de gravedad de la enfermedad establecida por el *Blueprint Expert Group* (Grupo de expertos en I + D de la OMS) en la *COVID-19 Therapeutic Trial Synopsis* (Sinopsis del ensayo terapéutico COVID-19) ⁹³, estos pacientes graves incluidos pertenecían a los siguientes grupos de la clasificación: grupo 5 (hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo), grupo 6

(intubación con ventilación mecánica), grupo 7 (intubación más soporte orgánico adicional) y grupo 8 (fallecidos) ⁹⁴. Anexo 2.

Ordinal Scale for Clinical Improvement

Patient State	Descriptor	Score
Uninfected	No clinical or virological evidence of infection	0
Ambulatory	No limitation of activities	1
	Limitation of activities	2
Hospitalized Mild disease	Hospitalized, no oxygen therapy	3
	Oxygen by mask or nasal prongs	4
Hospitalized Severe Disease	Non-invasive ventilation or high-flow oxygen	5
	Intubation and mechanical ventilation	6
	Ventilation + additional organ support – pressors, RRT, ECMO	7
Dead	Death	8

Anexo 2. Clasificación ordinal de gravedad de la COVID-19. Extraído de *WHO R&D Blueprint novel Coronavirus COVID-19 Therapeutic Trial Synopsis*. 18 Febrero 2020. Ginebra, Suiza ⁹⁴.

Se utilizó como grupo control con evolución clínica favorable a los primeros cuarenta y cuatro pacientes dados de alta del hospital con evolución no grave en el período de estudio. Se obtuvo la información clínica de estos pacientes en su primera visita de seguimiento después del alta. Según el *Blueprint Expert Group*, estos pacientes pertenecían a los grupos 3 (hospitalizados, que no necesitaban oxígeno suplementario) y 4 (hospitalizados, que necesitaban oxígeno suplementario).

La población final para el análisis incluyó a 119 pacientes, de los cuales 47 pacientes fallecieron (39,4%), 68 pacientes fueron dados de alta (57,1%) y 4 pacientes (3,3%) permanecían ingresados en el momento del análisis estadístico (Figura 1).

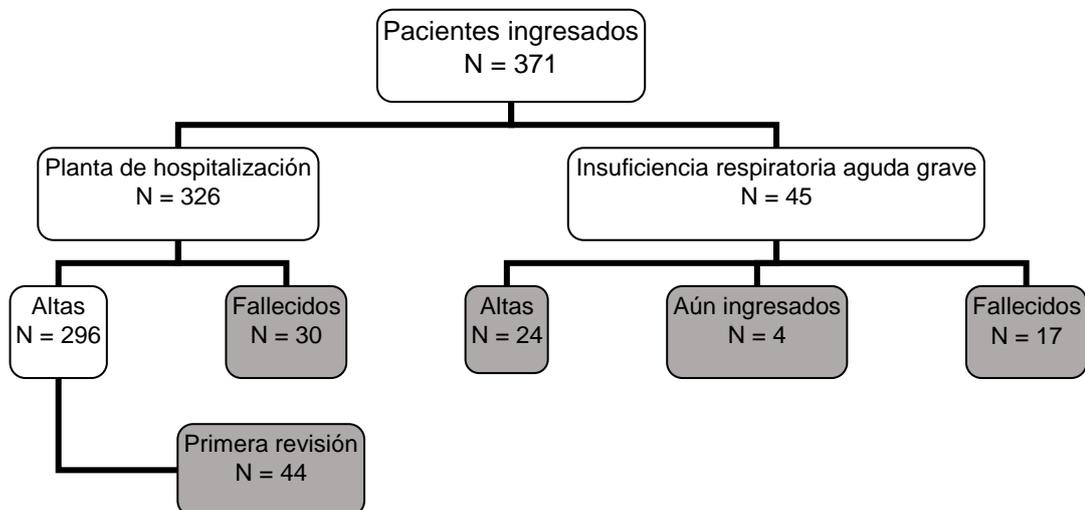


Figura 1. Diagrama de flujo de pacientes. Los pacientes incluidos en el análisis están en los cuadros sombreados, N = 119.

Ninguno de los pacientes incluidos presentó comorbilidades previas de tipo proinflamatorio o protrombótico.

En todos los pacientes se recogieron las siguientes variables: edad, sexo, fecha de inicio de los síntomas y fecha de ingreso hospitalario, presencia de comorbilidades, resultados de las pruebas de laboratorio (incluidos el hemograma completo con INL y IPL, lactato deshidrogenasa (LDH), Proteína C Reactiva (PCR) y Dímero D, signos vitales, duración de la terapia con oxígeno, día de máximo empeoramiento clínico y radiológico (definido por el día en que alcanzaron las máximas necesidades de oxígeno que desencadenó la necesidad de asistencia respiratoria), duración de la estancia, tratamiento farmacológico y evolución (alta hospitalaria o muerte).

El resultado primario del presente estudio fue evaluar la utilidad del INL como marcador pronóstico de COVID-19 grave y los resultados secundarios incluyeron la búsqueda de parámetros que podrían relacionarse con una evolución desfavorable.

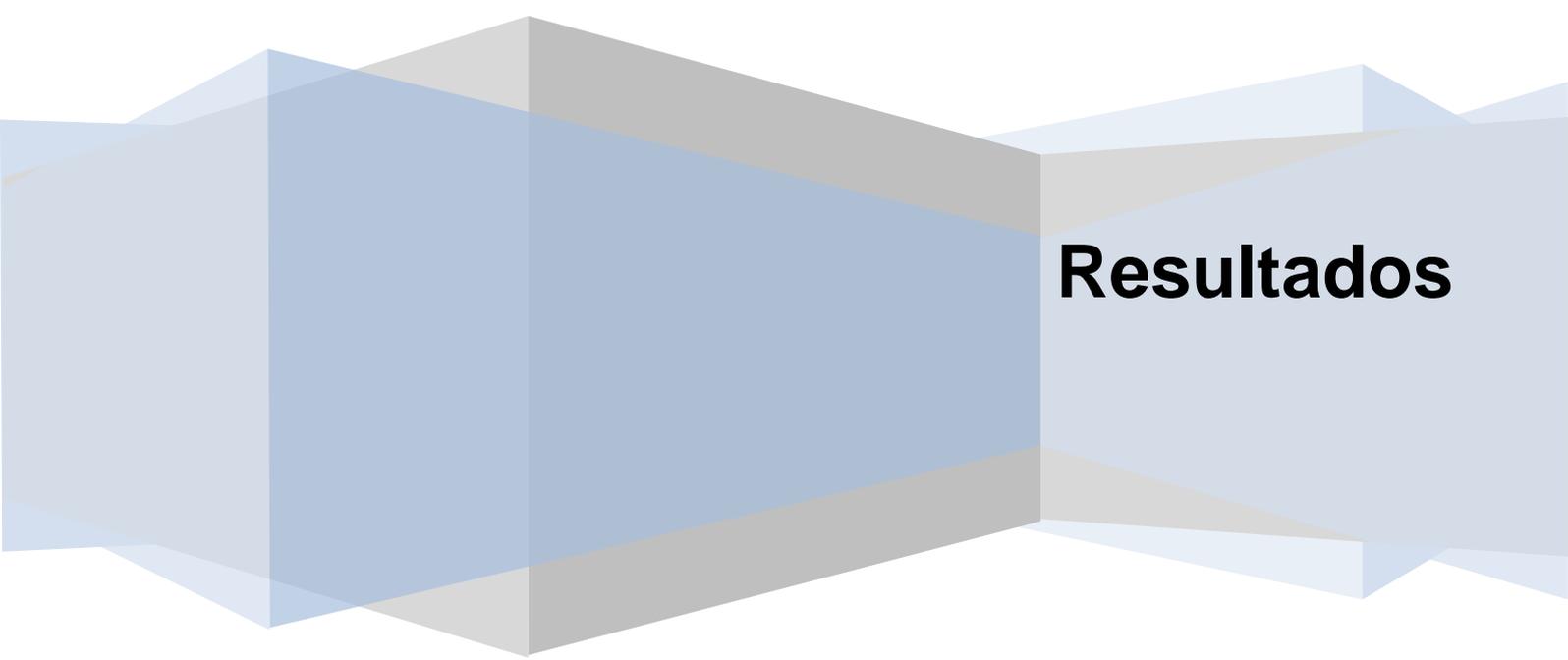
Para ello, los pacientes dados de alta del hospital se compararon con los no supervivientes y los pacientes con curso clínico grave (que requirieron ventilación invasiva o no invasiva o bien fallecieron) se compararon con los pacientes con evolución no grave.

Cuatro pacientes que habían necesitado ventilación invasiva pero que fueron dados de alta de la UCI y que aún permanecían ingresados en el hospital en el momento del estudio no se incluyeron para el análisis de mortalidad, pero sí para comparar el curso clínico grave frente al curso no grave.

Los datos se expresaron como mediana y rango intercuartílico [RIQ] para las variables continuas o como números / porcentajes para las variables

categorías. La normalidad de la distribución y la igualdad de varianzas se evaluaron mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la prueba de Levene, respectivamente. Las variables continuas se compararon mediante la prueba de U Mann-Whitney y Kruskal-Wallis. Se utilizó la prueba de Chi-cuadrado de Pearson para comparar las variables categóricas. Para establecer correlaciones entre parámetros se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson. Para medir la asociación se calculó la odds ratio (OR) utilizando intervalos de confianza del 95% (IC95%). Los pacientes se estratificaron según los cuartiles del INL (cuartil 1, cuartil 2, cuartil 3 y cuartil 4). Se realizó una regresión lineal múltiple para identificar los factores que se asociaban de forma independiente con el nivel de INL. Para este propósito, las elevaciones del INL se definieron utilizando un valor de corte de 6.0. Finalmente, se realizó un análisis de supervivencia empleando el estimador de Kaplan–Meier.

Se utilizó el software Statistical Package for Social Sciences for Windows SPSS en su versión 23.0 para realizar el análisis estadístico de los datos, estableciendo la significancia en $p < 0.05$. La presentación de informes del estudio se ajusta a las directrices generales de EQUATOR 21.



Resultados

7 RESULTADOS

A continuación, se muestran los datos de los 119 pacientes incluidos. Las características clínicas están resumidas en la Tabla 2. La mediana de edad de los pacientes fue 67,2 [77,2-59] años y el 59,1% eran hombres. El ingreso hospitalario tuvo lugar a los 7 [9-5] días tras el inicio de los síntomas. En el momento del ingreso todos los pacientes recibieron el tratamiento vigente aprobado para COVID-19 que se ha descrito anteriormente. El empeoramiento clínico y radiológico se produjo a los 9 [12-7] días después de la aparición de los síntomas, lo que condujo al inicio del tratamiento antiinflamatorio, que incluía metilprednisolona y tocilizumab intravenosos (Tabla 2).

	Todos * % Sí o mediana [RIQ]	Altas N=68	Muertes N=47	p ^a	OR (IC95%)	Regresión lineal múltiple OR (IC95%) ^b
Características clínicas						
Edad (años)	67.2 [77.2-59]	62 [70,7- 50]	77,1 [80- 69]	<0.001	NA	1.15 (1.07-1.22)^c
Varón	59.1%	54.4%	65.9%	0.216	0.6 (0.3-1.3)	NA
Comorbilidad	65.5%	58.8%	74.5%	0.083	1.2 (0.9- 1.6)	NA
Hipertensión arterial	46.9%	35.3%	59.6%	0.010	1.6 (1.1-2.5)	0.21 (0.31-1.44)
Enfermedad cardiovascular	27.1%	14.7%	34%	0.015	2.3 (1.1-4.6)	7.41 (1.78 -30.82)^c
Diabetes mellitus	16.7%	16.5%	25.5%	0.031	2.4 (1.05- 5.8)	2.09 (0.24-18.38)
EPOC	15.6%	7.4%	27.7%	0.003	3.7 (1.4-9.8)	0.83 (0.76-9.06)
Tabaquismo	11.3%	4.4%	10.6%	0.197	2.4 (0.6-9.6)	NA
Pulsioximetría al ingreso	93 [95- 86]	95 [96-91]	88 [93- 82]	<0.001	NA	0.90 (0.8-1.01)

D de S hasta el ingreso hospitalario	7 [9-5]	8 [9.7-6]	5 [8-3.5]	0.019	NA	NA
D de S hasta el empeoramiento clínico	9 [12-7]	9 [12-7.2]	8 [11-6]	0.276	NA	NA
Tratamiento						
Hidroxiclороquina y Lopinavir	83.5%	86.8%	78.7%	0.254	0.6 (0.2-1.5)	NA
Azitromicina	18.6%	16.4%	21.7%	0.475	1.4 (0.5-3.7)	NA
Metilprednisolona	44.3%	42.6%	46.8%	0.659	1.9 (0.6-2.5)	NA
Tocilizumab	31.3%	32.4%	29.8%	0.771	0.9 (0.4-2)	NA
D de S hasta la respuesta	24-13	18.5 [25.7-15]	13 [19-9]	0.019	NA	NA

Tabla 2. Características clínicas (% o mediana y [rango intercuartílico (RIQ)]). Pacientes dados de alta frente a no supervivientes. D de S: días de sintomatología. EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica. ^a Derivados de la prueba Chi² para variables categóricas y la prueba U de Mann-Whitney para variables continuas. ^b Derivados del modelo de regresión lineal múltiple sobre datos imputados (utilizando la muerte), que muestra los odds ratios agrupados ajustados por edad, hipertensión, enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus, enfermedad pulmonar obstructiva crónica. ^c Estadísticamente significativo. * N = 115, excluidos 4 pacientes aún ingresados.

En el momento del ingreso hospitalario, se observaron varias diferencias en las características clínicas entre los pacientes dados de alta y los pacientes fallecidos, como son la edad (62 [70,7-50] vs 77,1 [80-69] años, p <0,001), la presencia de comorbilidades incluyendo hipertensión arterial (35,3% vs 59,6%, odds ratio [OR]: 1,6; 95% IC: 1,1-2,5; p = 0,01), enfermedad cardiovascular (14,7% vs 34%, odds ratio [OR]: 2,3; 95% IC :

1,1-4,6; $p = 0,015$), diabetes mellitus (16,5% vs 25,5%, odds ratio [OR]: 2,4; IC 95%: 1,05-5,8; $p = 0,031$) y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (7,4% vs 27,7% , odds ratio [OR]: 3,7; IC 95%: 1,4-9,8; $p = 0,003$) (Tabla 2).

Los pacientes que fallecieron presentaron una cifra en pulsioximetría significativamente menor al ingreso (88% [93-82] vs 95% [96-91], $p < 0,001$) y fueron ingresados unos días antes (5 [8-3,5] vs 8 [9,7-6] días después del inicio de los síntomas, $p = 0,019$) (Tabla 2).

En cuanto a los parámetros de laboratorio, hubo diferencias significativas en los valores de LDH (698,3 [1011-503] vs 558 [747-417,1] ($p = 0,006$)) y PCR (113 [246,7-83] vs 62 [111-13,9] ($p < 0,001$)) que fueron más elevados en la primera valoración de Urgencias en los pacientes que no sobrevivieron.

También hay una tendencia, aunque no es estadísticamente significativa, en el valor de INL en el primer día de ingreso, que es mayor en los fallecidos (7 [10,6-4,2] frente a 4,4 [11-3,1], $p = 0,065$). En los siguientes controles analíticos de estos pacientes que no sobrevivieron, la cifra de pico máximo de INL es significativamente mayor (15,4 [30,9-8,7] frente a 9,4 [15-3,8], $p = 0,001$). Además, la elevación de INL fue significativamente más rápida en los pacientes que posteriormente fallecieron respecto al resto (2,5 [5,4-0,6] vs 1 [2,6-0,2], $p = 0,007$) (Tabla 3).

	Todos * % Sí o mediana [RIQ]	Altas N=68	Muertes N=47	p^a	Regresión lineal múltiple OR (IC95%)^b
Parámetros de laboratorio					
LDH (U/L) al ingreso	603.5 [847.9-452.8]	558 [747-417.1]	698.3 [1011-503]	0.006	1(1-1)
PCR (mg/L) al ingreso	87.6 [178-31]	62 [111-13.9]	113 [246.7-83]	<0.001	1.01 (1.01-1.02)^c
Dímero D al ingreso	766.5 [1612.3-472.8]	681.5 [1006.7-425]	870.5 [1814.5-541.7]	0.116	NA
IPL al ingreso	199 [323.8-141.3]	193.3 [284.1-147]	200 [336.7-131.7]	0.676	NA
INL al ingreso	6.1 [10.7-3.5]	4.4 [11-3.1]	7 [10.6-4.2]	0.065	NA
Velocidad de aumento del INL / día	1.6 [3.5-0.5]	1 [2.6-0.2]	2.5 [5.4-0.6]	0.007	NA
Pico máximo INL	11.7 [23.2-4.8]	9.4 [15-3.8]	15.4 [30.9-8.7]	<0.001	1.02 (1.01-1.12)^c
D de S hasta el pico máximo de INL	11 [15-7]	11 [15-8]	10 [12.5-6]	0.3	NA

Tabla 3. Parámetros de laboratorio (% o mediana y [rango intercuartílico (RIQ)]). Pacientes dados de alta frente a no supervivientes. D de S: días de sintomatología. INL: índice neutrófilo-linfocito. IPL: índice plaqueta-linfocito. PCR: proteína C reactiva. LDH: lactato deshidrogenasa. ^a Derivados de la prueba Chi² para variables categóricas y la prueba U de Mann-Whitney para variables continuas. ^b Derivados del modelo de regresión lineal múltiple sobre datos imputados (utilizando la muerte), que muestra los odds ratios agrupados ajustados para el máximo de INL. ^c Estadísticamente significativo. * N = 115, excluidos 4 pacientes aún ingresados.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tratamiento recibido entre ambos grupos (Tabla 2).

Al comparar los pacientes que presentaron un curso clínico grave con aquellos que padecieron una forma más leve de COVID-19, encontramos resultados similares. Aquellos que tuvieron peor evolución eran mayores (71 [78,3-63] vs 62 [73,5-50,7] años, $p = 0,002$) y presentaban parámetros de laboratorio significativamente más elevados en el primer día de ingreso, tales como LDH (663,7 [959,5-501,5] vs 505,4 [615,2 -403,5] ($p = 0,001$), PCR (123 [243-76,9] vs 31,6 [77,4-9,6] ($p <0,001$) e INL (7,5 [11,7-4,4] vs 3,8 [5,2-2,5], $p <0,001$). Además, los pacientes con curso clínico grave mostraron un valor más alto de pico máximo de INL (15,4 [28,2-9,5] frente a 4,5 [11-3,2], $p <0,001$) y una mayor velocidad de aumento de INL (2,2 [4,3-0,7] frente a 0,4 [1,5 -0,1], $p = 0,003$), en comparación con los pacientes que presentaron buena evolución (Tabla 4).

	Curso clínico no grave N=44*	Curso clínico grave N=75*	p
Edad (años)	62 [73.5-50.7]	71 [78.3-63]	0.002
Parámetros de laboratorio			
LDH (U/L) al ingreso	505.4 [615.2-403.5]	663.7 [959.5-501.5]	0.001
PCR (mg/L) al ingreso	31.6 [77.4-9.6]	123 [243-76.9]	<0.001
INL al ingreso	3.8 [5.2-2.5]	7.5 [11.7-4.4]	<0.001
Velocidad de aumento del INL / día	0.4 [1.5-0.1]	2.2 [4.3-0.7]	0.003
Pico máximo INL	4.5 [11-3.2]	15.4 [28.2-9.5]	<0.001

Tabla 4. Características clínicas y parámetros de laboratorio (% o mediana y [rango intercuartílico (RIQ)]). Evolución clínica no grave frente a curso clínico grave. El curso clínico grave se definió por la necesidad de

ventilación invasiva / no invasiva o el fallecimiento. INL: índice neutrófilo-linfocito. PCR: proteína C reactiva. LDH: lactato deshidrogenasa.* N = 119, incluidos 4 pacientes aún ingresados.

Al realizar una regresión lineal múltiple, la edad, la enfermedad cardiovascular, la PCR al ingreso y el pico máximo de INL se asociaron de forma significativa con el fallecimiento (Tablas 2 y 3). El pico máximo de INL y la mortalidad se correlacionaron positivamente (coeficiente de regresión de Pearson 0,332, $p < 0,001$), así como el pico de INL y la edad (coeficiente de regresión de Pearson 0,258, $p = 0,005$). Los valores de corte para la categorización del pico máximo de INL en cuartiles fueron 4.61, 11.3 y 19.3. Los pacientes en el cuartil de pico más alto de INL (Q4 PINL) tenían una edad significativamente mayor que los del cuartil más bajo (Q1 PINL). El cuartil de pico INL más alto también se asoció significativamente con la mortalidad. En una regresión logística multivariante, la mortalidad se asoció significativamente con un pico elevado de INL > 6 (Tabla 5).

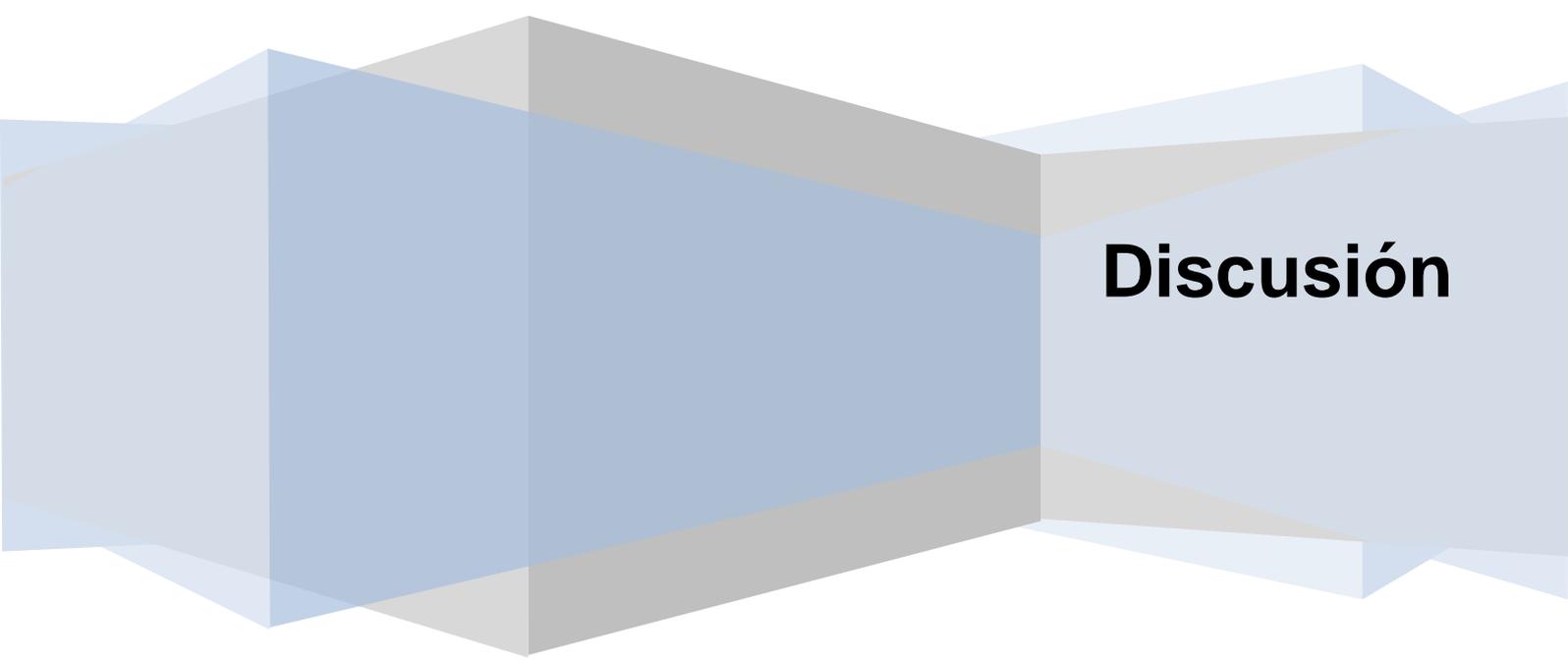
	Q1 PINL N=29 *	Q2 PINL N=29 *	Q3 PINL N=29 *	Q4 PINL N=28 *	p^a	Regresión lineal múltiple OR (IC95%) ^b
Pico máximo INL	≤ 4.61	≤ 11.3	≤ 19.3	>19.3		
Mortalidad: n / %	5 / 17%	11 / 38%	12 / 41%	19 / 68%	0.02	4.21 (1.4-12.69)^c
Edad (años)	60 [48-70.6]	70 [60.5-78.1]	70 [58-77.6]	72 [66-78]	0.016	1 (0.98-1.05)

Tabla 5. PINL: pico máximo índice neutrófilo-linfocito. ^a Derivados de la prueba Chi² para variables categóricas y la prueba de Kruskal-Wallis para variables continuas. ^b Derivados del modelo de regresión lineal múltiple

sobre datos imputados (usando el punto de corte para el máximo INL = 6), que muestra los odds ratios agrupados ajustados por mortalidad y edad. ^c Estadísticamente significativo. Edad expresada como mediana y [rango intercuartílico (RIQ)]. * N = 115, excluidos 4 pacientes aún ingresados.

En la cohorte de 119 pacientes, el INL en el primer día de ingreso se correlacionó con la LDH ($r = 0.247$, $p = 0.017$), PCR ($r = 0.488$, $p < 0.001$), el Dímero D ($r = 0.277$, $p = 0.034$) y el IPL ($r = 0,693$, $p < 0,001$) al ingreso hospitalario. El INL se asoció de forma independiente con el IPL en una regresión lineal múltiple ($B = 0,032$, IC del 95%: 0,026-0,037; $p < 0,001$).

La mediana de supervivencia en nuestro estudio fue de 36 días (IC 95%: 30,3-41,6).



Discusión

8 DISCUSIÓN

8.1 ¿CÓMO ENFRENTARNOS A UNA ENFERMEDAD DESCONOCIDA Y DESCONTROLADA?

Los médicos nos enfrentamos frecuentemente a situaciones de incertidumbre en nuestro ejercicio profesional. Las decisiones médicas deben sustentarse en evidencias científicas que sean contrastables y demostrables. La validez e idoneidad de los tratamientos y las pruebas diagnósticas se fundamenta en consensos por parte de profesionales y científicos ⁹⁵.

A lo largo de la historia, la medicina clínica ha sido fundamentalmente empírica, basada en los conocimientos anatómicos y fisiopatológicos. En 1834, Pierre Charles-Alexandre Louis (1787- 1872), creó un movimiento denominado *Medicine d'observation* que contribuyó a la erradicación de terapias inútiles, como las sangrías ⁹⁶.

No obstante, no fue hasta los años 80 del siglo XX, cuando un grupo de clínicos y epidemiólogos de la Escuela de Medicina de la Universidad de McMaster de Ontario, Canadá, liderados por Sackett, creó el movimiento de la Medicina basada en la evidencia (MBE). El método científico fomenta el rigor de la medicina, apoyándose en pruebas objetivas, contrastables, reproducibles y generalizables ⁹⁷.

La MBE se define como 'el uso consciente, explícito y juicioso de la mejor evidencia científica disponible para tomar decisiones sobre los pacientes' (Prof. David Sackett) ⁹⁸. El método científico es una herramienta crucial en el acto médico ya que permite aplicar los resultados de la investigación científica a la práctica clínica. Los profesionales sanitarios trabajamos basándonos en la MBE. La metodología básica de la MBE incluye la formulación de una pregunta clínica bien estructurada, la búsqueda

eficiente de la mejor evidencia disponible, el análisis de los resultados de los estudios y su aplicación a un paciente concreto ⁹⁵.

Uno de los principales retos a los que nos enfrentamos los profesionales sanitarios al comienzo de la pandemia de COVID-19 fue el inesperado abismo que suponía el desconocimiento completo de la nueva enfermedad. No existía evidencia científica al respecto y debíamos actuar con mucha celeridad ante el ingente cúmulo de contagiados y enfermos, con una capacidad de reestructuración y adaptación sanitarias inauditas. La urgencia por elaborar y distribuir protocolos de actuación médica promovió modificaciones en la manera de trabajar de la comunidad científica.

La pandemia COVID-19 ha dado lugar a la mayor explosión de publicaciones científicas conocida hasta el momento, generándose un volumen de material sin precedentes, que además es rápidamente accesible y tiene una veloz divulgación. Las editoriales y las sociedades científicas han creado centros de recursos unificados y en acceso abierto para compartir toda aquella información relacionada con la COVID-19 ^{99,100}.

El mundo ha cambiado mucho desde la última pandemia, la “Gripe Española” (1918-1920), una de las situaciones sanitarias más devastadoras de la historia, que apareció y desapareció sin aviso originando una cifra estimada en torno a 50 millones de muertos a nivel mundial. En aquel entonces, la pandemia se controló debido al desarrollo de la inmunidad natural lo que originó como consecuencia una dramática crisis de mortalidad.

Según el último informe demográfico de las Naciones Unidas (*World Population Prospect: the 2019 Revision - United Nations, Department of*

Economic and Social Affairs, Population Division June 2019) y los datos del Centro Internacional de Programas de la Oficina del Censo de los Estados Unidos (División de Población), la población mundial es de 7.845.665.950 personas. Si la tasa de letalidad del SARS-CoV-2 ronda el 1%, el apelar a la inmunidad natural colectiva o de grupo para controlar la pandemia podría suponer el riesgo de potencial de alrededor de 78.000.000 fallecimientos en el mundo, sin mencionar la enorme mortalidad que surgiría de forma colateral al COVID-19 y derivada del colapso sanitario. Esta situación acarrearía profundas consecuencias sociales y económicas, de unas dimensiones inadmisibles. Teniendo en cuenta que desconocemos cómo funciona la inmunidad individual, sería muy aventurado intentar invocar la inmunidad de grupo como solución al problema.

Las vacunas han supuesto un hito crucial en el control y tratamiento de las enfermedades, probablemente el mayor logro de la biología aplicada. El desarrollo de las nuevas vacunas frente al SARS-CoV-2 se ha llevado a cabo en un tiempo record, como consecuencia de una gran inversión económica, el trabajo coordinado de autoridades reguladoras y un interés mundial sin precedentes. La producción de vacunas se comenzó “a riesgo”. Cuando se inició la fabricación se desconocía la efectividad de la vacuna realizando importantes inversiones económicas, con el objetivo fundamental de poder tener listas millones de dosis si los datos de los ensayos sobre efectividad y seguridad eran favorables. Se fueron superponiendo diferentes fases de investigación clínica, una situación que marca un hito en la historia de la ciencia y que puede modificar el futuro de la investigación. La rápida secuenciación del genoma del SARS-CoV-2, recién iniciada la pandemia, aceleró mucho la producción de vacunas basadas en el ARN. Además, las tecnologías empleadas para la vacuna frente al SARS-CoV-2 se adoptaron de las diferentes fases de investigación de otras vacunas (frente a Ébola, Zika, VIH, malaria...) lo

que también ha ayudado a agilizar el proceso. Antes de la pandemia COVID-19, el desarrollo de una vacuna podría conllevar un tiempo variable de investigación comprendido entre 12 y 18 años. Las vacunas de ARN mensajero se produjeron en marzo de 2020, dos meses después de la secuenciación del genoma viral. Los ensayos clínicos en fase 3 comenzaron en julio de 2020. Posteriormente, se aprobó el uso de las vacunas en situación de emergencia, sin haber finalizado aún los ensayos clínicos de fase 3, pero demostrando una seguridad y eficacia muy elevadas para estas vacunas. La tecnología para el desarrollo de vacunas de ARN mensajero y vacunas que emplean adenovirus como vector es fácil y rápida, lo que genera muchas esperanzas para potenciales pandemias que pudieran aparecer con posteridad.

En unos meses dispondremos de vacunas en distinta fase de desarrollo en el mercado y, en un futuro próximo, podremos seleccionar el tipo de vacuna más adecuada según grupo etario y patología de base. A medida que exista un número mayor de sujetos con inmunidad adquirida, más se dificultará la transmisión de la enfermedad. El reto actual es poder vacunar a la mayor cantidad posible de personas de forma rápida y evitar así millones de muertes.

La pandemia ha aflorado muchas fragilidades a escala mundial, pero igualmente ha revalorizado la labor y entrega del personal sanitario, e igualmente el trabajo extenuante de los científicos y los laboratorios de investigación frente a una situación nueva y extremadamente difícil. La tremenda crisis sanitaria ha puesto de manifiesto la necesidad de aunar conocimientos y recursos científicos a nivel mundial. Una situación como esta sólo podrá superarse gracias a la ciencia y la investigación, con la esperanza depositada en la eficacia y amplia distribución de las vacunas, el desarrollo de herramientas para la identificación de factores pronósticos

de la enfermedad, la búsqueda de tratamientos idóneos y el fortalecimiento de las medidas de prevención y salud pública.

8.2 EL PAPEL DEL PEDIATRA EN UNA EPIDEMIA DE ADULTOS

El 2 de Marzo de 2020 ingresa en el Hospital Universitario HM Puerta del Sur el primer enfermo con COVID-19, disfrazado de una simple gastroenteritis aguda. El fin de semana del 7 y 8 de Marzo de 2020 empieza a ser patente un aumento progresivo de pacientes que presentan clínica compatible con la nueva enfermedad. A lo largo de la semana siguiente empeora de forma significativa la situación en el hospital. Con el paso de los días se va produciendo un aumento vertiginoso del número de urgencias e ingresos, que suponen una inusitada carga de trabajo. Al mismo tiempo va disminuyendo la presión asistencial en los servicios de pediatría como consecuencia del cierre de las guarderías y los centros escolares. Médicos de diversas especialidades analizamos la situación y de forma voluntaria decidimos colaborar con los médicos internistas, como una iniciativa natural y espontánea. El día 20 de Marzo de 2020 empezamos a trabajar codo con codo con el servicio de Medicina Interna. Se crean equipos de trabajo supervisados por médicos internistas, intensivistas y neumólogos, que atenderán pacientes afectados de COVID-19 en las plantas de Hospitalización, en las Unidades de Terapia Respiratoria Avanzada y en las consultas de seguimiento post-hospitalización de los Hospitales HM, adecuándose a diario los recursos humanos a la presión asistencial. Otros médicos voluntarios se organizan en grupos para informar telefónicamente a los familiares de los enfermos durante su ingreso, dada su situación de aislamiento estricto, y también realizan el seguimiento telefónico de los pacientes tras el alta hospitalaria.

Como resultado de esta experiencia se impartió una jornada online el 8 de Julio de 2020 titulada “Coronavirus y pediatría: Hablemos de más cosas”, organizada por el Servicio de Pediatría HM Hospitales y dirigido a pediatras y residentes de pediatría de Atención Primaria y Atención Hospitalaria. En una primera parte de dicha jornada se expuso el papel de

los pediatras en una pandemia de adultos. En la ponencia “HM Hospitales Madrid: Crónica de un trabajo en Equipo” mi compañera María Benedit y yo relatamos cómo surgió la iniciativa de colaboración con los médicos de adultos y cómo se organizaron y distribuyeron los médicos voluntarios de diferentes especialidades.

La experiencia de los pediatras en esta crisis sanitaria ha resultado sumamente enriquecedora puesto que, como médicos internistas que somos, aportamos nuestros conocimientos teóricos y nuestra experiencia clínica en patología viral respiratoria para mejorar el manejo diagnóstico y terapéutico de esta nueva enfermedad.

Una de las estrategias más provechosas durante la fase más dura de la primera ola de la pandemia fue nuestro empeño en aplicar la oxigenoterapia de alto flujo, uno de los tratamientos más satisfactorios en niños con bronquiolitis y broncoespasmos moderados y severos, como modalidad terapéutica en pacientes con insuficiencia respiratoria hipoxémica debida a la COVID-19. Dada la dramática situación sanitaria, con un acceso limitado a camas de Unidades de Cuidados Intensivos y respiradores, el objetivo más urgente era reducir la necesidad de ventilación mecánica y, por lo tanto, la admisión de los enfermos en las Unidades de Cuidados Intensivos.

8.3 LA OXIGENOTERAPIA DE ALTO FLUJO COMO HERRAMIENTA FRENTE A LA COVID-19

En los últimos años el tratamiento con oxigenoterapia de alto flujo en enfermos con insuficiencia respiratoria se ha incrementado. Los resultados de una revisión sistemática y un meta-análisis de 9 ensayos clínicos aleatorizados mostraron que la oxigenoterapia de alto flujo reduce la necesidad de ventilación mecánica en comparación con la oxigenoterapia convencional (RR 0,85; IC del 95%: 0,74 a 0,99) en una población de pacientes con insuficiencia respiratoria hipoxémica aguda¹⁰¹.

En los primeros meses de la pandemia aún se desconocía si esta modalidad de asistencia respiratoria podía ser útil en los pacientes con COVID-19. A posteriori, en mayo de 2020, se publicó la guía clínica *The Surviving sepsis campaign: guidelines on the management of critically ill adults with coronavirus disease 2019 (COVID-19)*. En dicha guía, se sugirió el uso preferencial de oxigenoterapia de alto flujo sobre la oxigenoterapia convencional para adultos con COVID-19 e insuficiencia respiratoria hipoxémica aguda a pesar de recibir oxigenoterapia convencional¹⁰². En los meses posteriores se han publicado diversas series de casos con pacientes con COVID-19 que aplicaban este tratamiento^{4,103,104}.

En base a nuestra experiencia clínica en las infecciones respiratorias y el conocimiento de la oxigenoterapia de alto flujo aplicamos esta modalidad de asistencia respiratoria a los pacientes con COVID-19. Inicialmente utilizamos los dispositivos AIRVO™ 2 (Fisher & Paykel Healthcare) para suministrar oxigenoterapia de alto flujo en los pacientes que presentaban insuficiencia respiratoria hipoxémica. Sin embargo, en un momento crítico de la pandemia, debido a la escasez de dispositivos en relación con el inesperado aumento del volumen de enfermos, comenzamos a buscar

nuevas opciones para poder aplicar este tratamiento. Empleamos los humidificadores respiratorios MR850 (Fisher & Paykel Healthcare) de la Unidad de Neonatología adaptándolos con piezas a caudalímetros para poder suministrar hasta 60 lpm de oxígeno. El flujo después de atravesar el humidificador se calentaba a través del tubo de respiración calefactado AirSpiral™ (Fisher & Paykel Healthcare) y finalmente llegaba al paciente mediante las interfaces Optiflow™ (Fisher & Paykel Healthcare).

Con el objetivo de investigar estrategias eficaces para mejorar el pronóstico de los pacientes con insuficiencia respiratoria hipoxémica progresiva por COVID-19, realizamos un estudio observacional prospectivo en el Hospital Universitario HM Puerta del Sur para evaluar si la administración precoz de oxígeno por medio de cánula nasal de alto flujo evitaba la ventilación mecánica y, por tanto, el ingreso en la UCI¹⁰⁵.

Del 16 de marzo al 6 de abril de 2020 ingresaron 371 pacientes con COVID-19 en nuestro hospital. Se incluyeron en el estudio 20 pacientes que recibieron tratamiento con oxígeno de alto flujo como complemento al tratamiento médico de la COVID-19 de acuerdo con los protocolos estándar nacionales vigentes en el momento del estudio. Esta asistencia respiratoria se aplicaba a aquellos pacientes que presentaban desaturación progresiva (Sat < 90%) a pesar de la administración de oxígeno con un reservorio con FiO₂ al 100%.

Del total de pacientes incluidos en el estudio, tres (15%) pacientes murieron y diecisiete (85%) pacientes no llegaron a precisar ventilación mecánica como terapia de rescate y fueron dados de alta.

Analizando los parámetros de laboratorio de estos 20 pacientes, observamos que tanto los valores medios de Proteína C Reactiva (PCR) como los de lactato deshidrogenasa (LDH) eran erráticos y no seguían un patrón característico durante los días de evolución de la enfermedad-

Tampoco se objetivó un patrón especial al estudiar los valores de las células sanguíneas ni del Dímero D. Sin embargo, al analizar el valor de INL, observamos que estos pacientes tenían valores elevados de INL al ingreso y que sus niveles aumentaban los primeros días de ingreso para posteriormente descender según mejoraban clínicamente ¹⁰⁵.

Al comparar los 3 pacientes que fallecieron frente a los 17 en los que la oxigenoterapia de alto flujo fue exitosa, advertimos que alcanzaban un valor pico de INL más alto de forma estadísticamente significativa. Además, estos pacientes que fallecieron tuvieron una velocidad de incremento del INL mucho mayor, alcanzando el pico de INL significativamente más rápido ¹⁰⁵.

Estos resultados nos animaron a investigar la utilidad del INL como posible factor pronóstico en una muestra mayor de enfermos con COVID-19.

8.4 TRATANDO DE IDENTIFICAR FACTORES PRONÓSTICOS EN LA COVID-19

Como hemos comentado anteriormente en la discusión, uno de los aspectos clave para lograr el control de la pandemia es conseguir vacunas eficaces y su distribución universal. Sin embargo, en el momento actual, con una tasa de incidencia tan elevada que origina cifras muy altas de hospitalización e ingreso en UCI lo más urgente es tratar de reducir la mortalidad. Por ello, parece prioritario el identificar factores pronósticos que puedan orientarnos a decidir un ingreso hospitalario más temprano, indicar un tratamiento más precoz y realizar una monitorización más estrecha en aquellos pacientes en los que se prevea una peor evolución.

En la mayoría de los entornos de atención sanitaria, el primer encuentro con un paciente con COVID-19, de moderado a grave, tiene lugar en el Departamento de Urgencias, donde se realiza de forma rutinaria un análisis de sangre completo, que incluye un hemograma.

Según los resultados de Zeng F. et al, los pacientes con cuadros graves de COVID-19 tenían un mayor recuento de neutrófilos, un INL más alto y un recuento de linfocitos más bajo que aquellos con COVID-19 no grave¹⁰⁶. En el estudio de Liu Y. et al, encontraron que los pacientes con INL elevado tenían mayor mortalidad durante el ingreso, teniendo los varones mayor mortalidad que las mujeres⁴⁶. Este hallazgo es similar a los resultados concluidos por Mo P. et al, en el que los pacientes varones tienen una mayor incidencia de refractariedad de la enfermedad¹⁰⁷. Yang A. et al, consideran que la edad avanzada y el INL son biomarcadores independientes que indican mala evolución clínica⁷⁹.

En individuos predispuestos, se ha planteado la hipótesis de que se desencadene un síndrome tromboinflamatorio endotelial después de producirse un daño viral alveolar⁵⁹. El SARS-CoV-2 usa el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA 2) de la superficie celular

para entrar al interior de las células. La ECA 2 se expresa en varios órganos, incluidas las células endoteliales ^{108,109}. Se ha informado que el SARS-CoV-2 puede infectar *in vitro* organoides de vasos sanguíneos humanos modificados genéticamente, y también se ha demostrado la participación de las células endoteliales en los lechos vasculares de diferentes órganos en las necropsias realizadas en pacientes con COVID-19 fallecidos ^{110,111}.

Basándonos en nuestros resultados, planteamos la hipótesis de que INL podría estar señalando la presencia de una disfunción endotelial subyacente, lo que conduciría más fácilmente al daño y la muerte de las células endoteliales debido a la infección viral. En este escenario, individuos predispuestos con una disfunción endotelial preexistente (comúnmente asociada a hipertensión arterial, diabetes mellitus y enfermedad cardiovascular ^{5,112-114}) y, por tanto, con un estado inflamatorio basal más activo, presentarían una evolución más tórpida de la COVID-19. Estos pacientes presentarían marcadores alterados de gravedad de la enfermedad, como por ejemplo una menor saturación arterial de oxígeno, y podrían beneficiarse de un ingreso hospitalario y un tratamiento más tempranos. Según nuestros resultados, estas comorbilidades y el pico máximo de INL mantienen su propia asociación con la mortalidad después de realizar una regresión logística multivariante (Tablas 2 y 3).

El daño endotelial progresivo explicaría la cascada proinflamatoria con activación del complemento, aumento de la permeabilidad endotelial y liberación de citoquinas que aumentarían la quimiotaxis de las células inflamatorias, incluidos los neutrófilos, y podría traducirse en un aumento en la tasa de ascenso del INL como se muestra en nuestros resultados. Las tasas de crecimiento del INL más elevadas conducen a valores pico máximo de INL más altos, lo que se correlaciona significativamente con

malas evoluciones. Curiosamente, los niveles máximos de INL se alcanzan el día 11, aproximadamente 36 horas después del empeoramiento clínico. Este hallazgo es interesante, ya que da mayor relevancia a la tasa de crecimiento del INL (velocidad / día) como un parámetro clínico útil.

La inflamación continua y progresiva durante los sucesivos días de ingreso expresada por el aumento de INL (velocidad / día) ayudaría a identificar a los pacientes con peor evolución, especialmente aquellos que muestran valores máximos de INL superiores a 6, dado que esta asociación sigue siendo estadísticamente significativa después de realizar un análisis multivariante (Tablas 4 y 5).

Con respecto al IPL, algunos estudios demuestran la relación entre plaquetas / linfocitos como un marcador fiable en enfermedades inmunológicas, metabólicas, protrombóticas y neoplásicas. Las fluctuaciones del IPL se relacionan con reacciones inmunoinflamatorias y se correlacionan positivamente con otros marcadores de inflamación sistémica, particularmente con el INL ¹⁵. Sin embargo, en nuestro estudio, el IPL no se asocia significativamente con mortalidad ni con curso clínico grave.

De la muestra total de nuestro estudio, el 44,3% de los pacientes recibieron tratamiento con metilprednisolona en el momento en el que se constató empeoramiento clínico y radiológico, a los 9 días [7-12] después del inicio de los síntomas. Es bien sabido que los mecanismos de acción de los corticosteroides se traducen en varios efectos sobre la respuesta del sistema inmunológico, produciendo linfopenia, neutrofilia y también disminuyendo la producción de citoquinas. De forma teórica, este mecanismo podría originar un aumento en el INL, e incluso también del IPL. No obstante, varios estudios sobre el valor pronóstico del INL en

enfermedades inflamatorias (por ejemplo, en la enfermedad de Behçet o la hepatitis alcohólica), han demostrado una reducción del ratio en pacientes que reciben tratamiento con corticoides ¹¹⁵⁻¹¹⁷. Si bien el tratamiento con corticosteroides podría tener algún efecto sobre el valor máximo de INL, no debería, sin embargo, influir en el valor inicial de INL al ingreso. Por otro lado, no hemos encontrado diferencias significativas en el porcentaje de pacientes que recibieron corticosteroides entre el grupo de fallecidos y el grupo de pacientes dados de alta hospitalaria (Tabla 2).

En el momento de iniciar nuestro estudio, no existían informes sobre el uso potencial de INL como marcador de gravedad de la COVID-19 y sus implicaciones pronósticas. Nuestro grupo ha investigado la utilidad de este índice, siendo uno de los primeros grupos en publicar resultados prometedores sobre las implicaciones del INL y su relación con una peor evolución en pacientes con COVID-19 ¹¹⁸. Desde entonces, se han publicado varios estudios que incorporan el INL como marcador de mal pronóstico en pacientes con COVID-19 ^{46,79,106,107,119}.

Los resultados obtenidos en este trabajo nos han estimulado a continuar investigando en esta línea con mayor anhelo. Recientemente, hemos analizado los datos de una cohorte mucho más amplia, que incluía 2088 pacientes, en la que hemos demostrado que el INL se asocia con el riesgo de mortalidad intrahospitalaria, ya que su valor en el momento del ingreso hospitalario era más elevado de forma significativa en los pacientes que fallecieron ¹²⁰. En otro estudio, también observamos que este parámetro en el momento del ingreso hospitalario se asociaba al riesgo de ingreso en la UCI ¹²¹.

Nuestro grupo igualmente ha enfocado sus esfuerzos en ampliar el estudio a otros cocientes derivados del hemograma. De esta forma, también hemos investigado la utilidad del IPL en la COVID-19, concluyendo que los pacientes que fallecieron presentaban al ingreso

valores de IPL significativamente más elevados en comparación con los pacientes que sobrevivieron ¹²⁰. Lo mismo se ha observado en los pacientes que requirieron ingreso en UCI ¹²¹, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa después de realizar un modelo más robusto de análisis multivariante.

Asimismo, hemos obtenido resultados esperanzadores con respecto a otro nuevo índice, el índice neutrófilo-plaqueta (INP), resultado del cociente entre el recuento de neutrófilos y el recuento de plaquetas.

Los niveles de INP al ingreso se asociaron significativamente con la mortalidad intrahospitalaria por COVID-19 y su asociación continuó siendo significativa incluso después del análisis multivariante ^{120,122}. Además, niveles más altos de INP al ingreso se relacionaron con un mayor riesgo de ingreso en la UCI en pacientes con COVID-19 ¹²¹.

Somos el primer grupo en el mundo que informa sobre la utilidad de este cociente derivado del hemograma en una enfermedad y creemos que estos hallazgos son merecedores de nuevas investigaciones en el futuro próximo.

8.5 LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Somos conscientes de que este estudio presenta varias limitaciones. La primera es la restricción del número de pruebas diagnósticas en ese momento de la pandemia en España, que tuvo como consecuencia cambios en el protocolo de diagnóstico establecido por el Ministerio de Sanidad español. Solo 92 pacientes (77,3%) se sometieron a la prueba de RT-PCR para el diagnóstico y 80 (86,9%) dieron positivo para SARS-CoV-2.

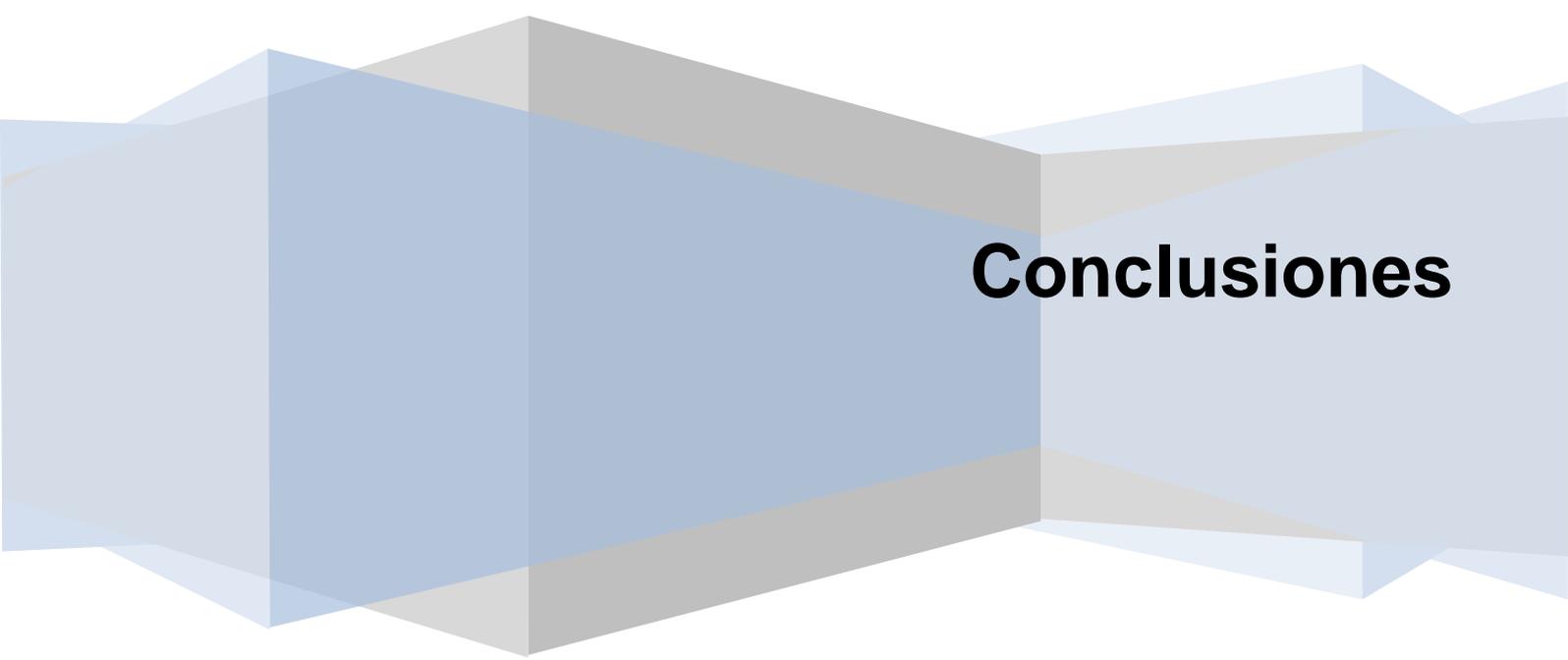
Estos resultados deben ser puestos en contexto. Los resultados de las pruebas diagnósticas están condicionados por el día de evolución de enfermedad en que se realizan, de forma que la RT-PCR con hisopo faríngeo/naríngeo puede resultar negativa después de 7-10 días del inicio de los síntomas. En cuanto a los que no se sometieron a ninguna prueba diagnóstica, durante la primera ola de la pandemia hubo escasez generalizada en el suministro de pruebas de RT-PCR y el Ministerio de Sanidad español emitió una modificación en el protocolo de diagnóstico, que incluía sólo los hallazgos clínicos y radiológicos sugestivos de COVID-19. Una vez que las pruebas de RT-PCR estuvieron ampliamente disponibles, el protocolo diagnóstico se actualizó.

En segundo lugar, nuestro trabajo sólo pretende ser una hipótesis generadora de observación que, junto con la plausibilidad biológica, amerita más investigaciones. No realizamos medidas específicas de mediadores inflamatorios y los pacientes fallecidos eran significativamente mayores y presentaban más comorbilidades. Sin embargo, en un modelo de regresión logística multivariante, el valor máximo de INL se comportó como un factor independiente de mala evolución clínica. Si bien nuestros hallazgos deben interpretarse con cautela, la actual crisis de salud requiere comunicaciones dinámicas de resultados clínicos que puedan ayudar al manejo clínico de la enfermedad.

La fisiopatología de la COVID-19 se está clarificando gradualmente. Esta fisiopatología a nivel celular y molecular tiene implicaciones potenciales importantes en la implementación de estrategias de tratamiento dirigidas a cada etapa específica de la enfermedad. Los pacientes que presentan determinados hallazgos de laboratorio, como valores iniciales de INL elevados, podrían beneficiarse potencialmente de una terapia antiinflamatoria más precoz ^{47,108}. La disfunción endotelial podría desempeñar un papel importante en la progresión de la enfermedad que finalmente conduciría a una insuficiencia orgánica múltiple.

En este contexto, el INL es un parámetro fácil de medir, disponible, rentable y fiable, que podría ser muy útil para monitorizar la progresión de la COVID-19 y que podría resultar igualmente valioso en nomogramas pronósticos que ayuden a guiar nuestras decisiones terapéuticas.

Las investigaciones futuras deberían tener en cuenta posibles factores de confusión como las características clínicas del paciente (raza, edad, sexo,...), algunos tratamientos empleados y los parámetros preanalíticos que podrían influir en el INL, IPL y otros índices hematológicos.



Conclusiones

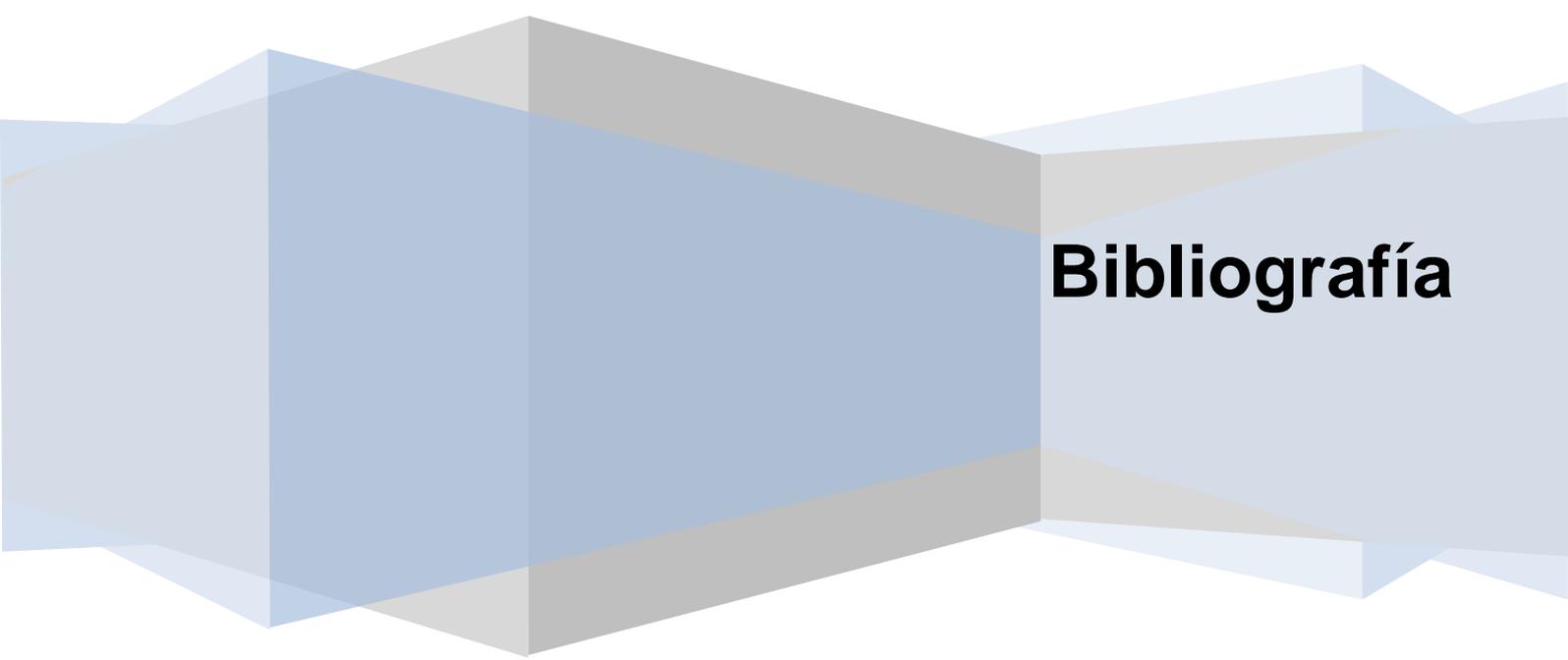
9 CONCLUSIONES

Para lograr el control de la pandemia por COVID-19 es fundamental trabajar en diferentes estrategias sanitarias como son conseguir identificar a los pacientes con riesgo de presentar formas graves de la enfermedad, determinar los tratamientos más idóneos para el manejo de los enfermos, así como lograr una adecuada eficacia y una amplia distribución de las vacunas. Sin embargo, en el momento actual, con una tasa de incidencia tan elevada que origina cifras muy altas de hospitalización e ingreso en UCI lo más urgente es focalizar nuestro esfuerzo en reducir la mortalidad.

Por ello, resulta prioritario identificar factores pronósticos que puedan orientarnos a decidir un ingreso hospitalario más temprano, pautar un tratamiento antiinflamatorio más precoz y monitorizar de forma más estrecha a aquellos pacientes en los fuera previsible una peor evolución de la enfermedad.

El hemograma es una prueba fácil de realizar, rápidamente disponible, rentable y fiable. Es una herramienta al alcance de todos los centros hospitalarios, incluso de aquellos que no disponen de los medios técnicos y materiales para realizar estudios inmunológicos complejos, estudios que por otro lado suelen implicar resultados tardíos. El INL representa un parámetro cuya monitorización podría resultar muy útil para establecer el riesgo de mortalidad en los Departamentos de Urgencias y orientar así las decisiones de ingreso hospitalario y tratamiento en pacientes con COVID-19.

Se necesitan más estudios en el futuro próximo que contribuyan a determinar la utilidad de éste y otros cocientes de células sanguíneas, e incluso que favorezcan el diseño de nomogramas pronósticos que ayuden a mejorar el manejo de esta nueva enfermedad.



Bibliografía

10 BIBLIOGRAFÍA

1. Guan W, Ni Z, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in china. *N Engl J Med*. 2020;382(18):1708-1720.
2. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in wuhan, china. *The Lancet*. 2020;395(10223):497-506.
3. Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in wuhan, china: A descriptive study. *The Lancet*. 2020;395(10223):507-513.
4. Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus–infected pneumonia in wuhan, china. *JAMA*. 2020;323(11):1061-1069.
5. Guan WJ, Liang WH, Zhao Y, et al. Comorbidity and its impact on 1590 patients with COVID-19 in china: A nationwide analysis. *Eur Respir J*. 2020;55(5):10.1183/13993003.00547-2020.
6. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in china, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382:727-733.
7. Li Q, Guan X, Wu P, et al. Early transmission dynamics in wuhan, china, of novel coronavirus–infected pneumonia. *N Engl J Med*. 2020; 382:1199-1207.
8. Fuente: Ministerio de Sanidad.
<https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/situacionActual.htm>

9. Fuente: COVID-19 Map - Johns Hopkins Coronavirus Resource Center.
<https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
10. Pérez G, Cordero C, Avendaño LF. Otro desafío de la naturaleza: El nuevo coronavirus virología y fisiopatología del SARS-COV-2. *Neumología Pediátrica*. 2020;15(2):301-307.
11. Avendaño Carvajal LF. COVID-19: Una mirada desde la virología. *Revista chilena de enfermedades respiratorias*. 2020;36(3):164-168.
12. Plaza-Ramos JA, Alcami J, Oteo J, Pollan-Santamaria M. Informe científico-divulgativo: Un año de coronavirus SARS-CoV-2. 2020.
<http://hdl.handle.net/20.500.12105/11562>
13. Dhama K, Khan S, Tiwari R, et al. Coronavirus disease 2019-COVID-19. *Clin Microbiol Rev*. 2020;33(4):10.1128/CMR.00028-20.
14. Guarner J. Three Emerging Coronaviruses in Two Decades: The Story of SARS, MERS, and Now COVID-19. *American Journal of Clinical Pathology*. 2020;153(4):420–421.
15. Pastor-Barriuso R, Perez-Gomez B, Hernan MA, et al. Infection fatality risk for SARS-CoV-2 in community dwelling population of Spain: Nationwide seroepidemiological study. *BMJ*. 2020;371:m4509.
16. Izquierdo LD. INFORME TÉCNICO nuevo coronavirus 2019-nCoV. *Diss. Instituto de Salud Carlos III*. 2020.
17. Calvo Rey C, Aguilera Alonso D, Baquero-Artigao F. COVID-19: enfermedad asociada a la infección por SARS-CoV-2. Peculiaridades pediátricas. 22 abril 2020. En Píldoras formativas. Continuum 2020. Disponible en <http://continuum.aeped.es>
18. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) COVID-19.
<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/index.html>

19. Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2020; 39(5):405.
20. Patel R, Babady E, Theel ES, Storch GA, Pinsky BA, George KS, et al. Report from the American Society for Microbiology COVID-19 International Summit, 23 March 2020: Value of diagnostic testing for SARS–CoV2/COVID-19. *mBio* 2020;11:e00722-20.
21. González Marín, Á. Pruebas rápidas para detección de anticuerpos para el diagnóstico de COVID19: consideraciones para su uso en el contexto colombiano. *Hechos Microbiológicos*. 2020;11(1 y 2):9-10.
22. Bao L, Deng W, Gao H, et al. Lack of reinfection in rhesus macaques infected with SARS-CoV-2. *BioRxiv*. 2020.
23. Díaz E, Menéndez RA, Cortés PV, et al. Tratamiento farmacológico de la COVID-19: Revisión narrativa de los grupos de trabajo de enfermedades infecciosas y sepsis (GTEIS) y del grupo de trabajo de transfusiones hemoderivados (GTTH). *Medicina intensiva*. 2021;45(2):104-121.
24. Cao B, Wang Y, Wen D, et al. A trial of lopinavir–ritonavir in adults hospitalized with severe covid-19. *N Engl J Med*. 2020; 382:1787-1799.
25. Zhu Z, Lu Z, Xu T, et al. Arbidol monotherapy is superior to lopinavir/ritonavir in treating COVID-19. *J Infect*. 2020;81(1):e21-e23.
26. Hung IF, Lung K, Tso EY, et al. Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir–ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: An open-label, randomised, phase 2 trial. *The Lancet*. 2020;395(10238):1695-1704.
27. Horby PW, et al. "RECOVERY Collaborative Group. Lopinavir-ritonavir in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a

randomised, controlled, open-label, platform trial". *Lancet*. 2020;396(10259):1345-1352.

28. Wang Y, Zhang D, Du G, et al. Remdesivir in adults with severe COVID-19: A randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *The Lancet*. 2020;395(10236):1569-1578.

29. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the treatment of covid-19. *N Engl J Med*. 2020;383(19):1813-1826.

30. Tratamientos disponibles sujetos a condiciones especiales de acceso para el manejo de la infección respiratoria por SARS-CoV-2. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.
<https://www.aemps.gob.es/la-aemps/ultima-informacion-de-la-aemps-acerca-del-covid%e2%80%9119/tratamientos-disponibles-para-el-manejo-de-la-infeccion-respiratoria-por-sars-cov-2/>

31. Touret F, de Lamballerie X. Of chloroquine and COVID-19. *Antiviral Res*. 2020;177:104762.

32. Rosenberg ES, Dufort EM, Udo T, et al. Association of treatment with hydroxychloroquine or azithromycin with in-hospital mortality in patients with COVID-19 in new york state. *JAMA*. 2020;323(24):2493-2502.

33. Horby P, et al. "RECOVERY Collaborative Group" Dexamethasone in hospitalized patients with Covid-19-preliminary report. *N Engl J Med* 2020;384(8):693-704.

34. Horby PW, Roddick A, Spata E, et al. Azithromycin in hospitalised patients with COVID-19 (RECOVERY): A randomised, controlled, open-label, platform trial. *medRxiv*. 2020.

35. Chen F, Chan K, Jiang Y, et al. In vitro susceptibility of 10 clinical isolates of SARS coronavirus to selected antiviral compounds. *Journal of clinical virology*. 2004;31(1):69-75.

36. Horby PW, Pessoa-Amorim G, Peto L, et al. Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): Preliminary results of a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Medrxiv*. 2021.
37. Monteagudo LA, Boothby A, Gertner E. Continuous intravenous anakinra infusion to calm the cytokine storm in macrophage activation syndrome. *ACR open rheumatology*. 2020;2(5):276-282.
38. Duan K, Liu B, Li C, et al. Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(17):9490-9496.
39. Shen C, Wang Z, Zhao F, et al. Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma. *JAMA*. 2020;323(16):1582-1589.
40. Horby PW, Estcourt L, Peto L, et al. Convalescent plasma in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): A randomised, controlled, open-label, platform trial. *medRxiv*. 2021.
41. Tang N, Bai H, Chen X, Gong J, Li D, Sun Z. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *Journal of thrombosis and haemostasis*. 2020;18(5):1094-1099.
42. Paranjpe I, Fuster V, Lala A, et al. Association of treatment dose anticoagulation with in-hospital survival among hospitalized patients with COVID-19. *J Am Coll Cardiol*. 2020;76(1):122-124.
43. Henderson LA, Canna SW, Schulert GS, et al. On the alert for cytokine storm: Immunopathology in COVID-19. *Arthritis & Rheumatology*. 2020;72(7):1059-1063.
44. Hotchkiss RS, Moldawer LL, Opal SM, Reinhart K, Turnbull IR, Vincent J. Sepsis and septic shock. *Nature reviews Disease primers*. 2016;2(1):1-21.

45. Qin C, Zhou L, Hu Z, et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in wuhan, china. *Clinical Infectious Diseases*. 2020; 71(15):762-768.
46. Liu Y, Du X, Chen J, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as an independent risk factor for mortality in hospitalized patients with COVID-19. *J Infect*. 2020;81(1):e6-e12.
47. Li G, Fan Y, Lai Y, et al. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol*. 2020;92(4):424-432.
48. Wu C, Chen X, Cai Y, et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in wuhan, china. *JAMA internal medicine*. 2020;180(7):934-943.
49. Mehta P, McAuley DF, Brown M, et al. COVID-19: Consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*. 2020;395(10229):1033-1034.
50. Qin C, Zhou L, Hu Z, et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in wuhan, china. *Clinical Infectious Diseases*. 2020.
51. Gubernatorova E, Gorshkova E, Polinova A, Drutskaya M. IL-6: Relevance for immunopathology of SARS-CoV-2. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2020;53:13-24.
52. Zhou Y, Fu B, Zheng X, Wang D, Zhao C. Pathogenic T cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storm in severe COVID-19 patients. *National Science Review*. 2020;7(6):998-1002.
53. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: Causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. 2017;39(5):529-539.

54. Merad M, Martin JC. Pathological inflammation in patients with COVID-19: A key role for monocytes and macrophages. *Nature Reviews Immunology*. 2020;20(6):355-362.
55. Mehta AK, Gracias DT, Croft M. TNF activity and T cells. *Cytokine*. 2018;101:14-18.
56. Joly BS, Siguret V, Veyradier A. Understanding pathophysiology of hemostasis disorders in critically ill patients with COVID-19. *Intensive Care Med*. 2020;46(8):1603-1606.
57. Fox SE, Akmatbekov A, Harbert JL, Li G, Brown JQ, Vander Heide RS. Pulmonary and cardiac pathology in african american patients with COVID-19: An autopsy series from new orleans. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020;8(7):681-686.
58. Carsana L, Sonzogni A, Nasr A, et al. Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern italy: A two-centre descriptive study. *The Lancet infectious diseases*. 2020;20(10):1135-1140.
59. Ciceri F, Beretta L, Scandroglio AM, et al. Microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syndrome (MicroCLOTS): An atypical acute respiratory distress syndrome working hypothesis. *Crit Care Resusc*. 2020;22(2):95.
60. Zahorec R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts-rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill. *Bratisl Lek Listy*. 2001;102(1):5-14.
61. Ying H, Deng Q, He B, et al. The prognostic value of preoperative NLR, d-NLR, PLR and LMR for predicting clinical outcome in surgical colorectal cancer patients. *Medical oncology*. 2014;31(12):305.

62. Li J, Kim K, Barazia A, Tseng A, Cho J. Platelet–neutrophil interactions under thromboinflammatory conditions. *Cellular and molecular life sciences*. 2015;72(14):2627-2643.
63. Fois AG, Paliogiannis P, Scano V, et al. The systemic inflammation index on admission predicts in-hospital mortality in COVID-19 patients. *Molecules*. 2020;25(23):5725.
64. Yang A, Liu J, Tao W, Li H. The diagnostic and predictive role of NLR, d-NLR and PLR in COVID-19 patients. *Int Immunopharmacol*. 2020:106504.
65. Hu H, Du H, Li J, et al. Early prediction and identification for severe patients during the pandemic of COVID-19: A severe COVID-19 risk model constructed by multivariate logistic regression analysis. *Journal of Global Health*. 2020;10(2).
66. Guthrie GJ, Charles KA, Roxburgh CS, Horgan PG, McMillan DC, Clarke SJ. The systemic inflammation-based neutrophil–lymphocyte ratio: Experience in patients with cancer. *Crit Rev Oncol*. 2013;88(1):218-230.
67. Forget P, Khalifa C, Defour J, Latinne D, Van Pel M, De Kock M. What is the normal value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio? *BMC research notes*. 2017;10(1):12.
68. Hong X, Cui B, Wang M, Yang Z, Wang L, Xu Q. Systemic immune-inflammation index, based on platelet counts and neutrophil-lymphocyte ratio, is useful for predicting prognosis in small cell lung cancer. *Tohoku J Exp Med*. 2015;236(4):297-304.
69. Koh C, Bhoo-Pathy N, Ng K, et al. Utility of pre-treatment neutrophil–lymphocyte ratio and platelet–lymphocyte ratio as prognostic factors in breast cancer. *Br J Cancer*. 2015;113(1):150-158.

70. Ethier J, Desautels D, Templeton A, Shah PS, Amir E. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Research*. 2017;19(1):2.
71. Uslu AU, Küçük A, Şahin A, et al. Two new inflammatory markers associated with disease activity Score-28 in patients with rheumatoid arthritis: Neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio. *International journal of rheumatic diseases*. 2015;18(7):731-735.
72. Biyik M, Ucar R, Solak Y, et al. Blood neutrophil-to-lymphocyte ratio independently predicts survival in patients with liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2013;25(4):435-441.
73. Celikbilek M, Dogan S, Ozbakir O, et al. Neutrophil–lymphocyte ratio as a predictor of disease severity in ulcerative colitis. *J Clin Lab Anal*. 2013;27(1):72-76.
74. Turkmen K, Guney I, Yerlikaya FH, Tonbul HZ. The relationship between neutrophil-to-lymphocyte ratio and inflammation in end-stage renal disease patients. *Ren Fail*. 2012;34(2):155-159.
75. Qin B, Ma N, Tang Q, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) and platelet to lymphocyte ratio (PLR) were useful markers in assessment of inflammatory response and disease activity in SLE patients. *Modern rheumatology*. 2016;26(3):372-376.
76. Sen BB, Rifaioglu EN, Ekiz O, Inan MU, Sen T, Sen N. Neutrophil to lymphocyte ratio as a measure of systemic inflammation in psoriasis. *Cutaneous and ocular toxicology*. 2014;33(3):223-227.
77. Kalelioglu T, Akkus M, Karamustafalioglu N, et al. Neutrophil-lymphocyte and platelet-lymphocyte ratios as inflammation markers for bipolar disorder. *Psychiatry Res*. 2015;228(3):925-927.

78. Martínez-Urbistondo D, Beltrán A, Beloqui O, Huerta A. El índice neutrófilo/linfocito como marcador de disfunción sistémica endotelial en sujetos asintomáticos. *Nefrología (Madrid)*. 2016;36(4):397-403.
79. Yang A, Liu J, Tao W, Li H. The diagnostic and predictive role of NLR, d-NLR and PLR in COVID-19 patients. *Int Immunopharmacol*. 2020;84:106504.
80. Abdel Galil SM, Edrees AM, Ajeeb AK, Aldoobi GS, El-Boshy M, Hussain W. Prognostic significance of platelet count in SLE patients. *Platelets*. 2017;28(2):203-207.
81. Lood C, Tydén H, Gullstrand B, et al. Decreased platelet size is associated with platelet activation and anti-phospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology*. 2017;56(3):408-416.
82. Gasparyan AY, Ayvazyan L, Mukanova U, Yessirkepov M, Kitas GD. The platelet-to-lymphocyte ratio as an inflammatory marker in rheumatic diseases. *Ann Lab Med*. 2019;39(4):345-357.
83. Matsuno H. Remarkable efficacy of tocilizumab for treating rheumatoid arthritis in patients with high platelet counts. *Modern rheumatology*. 2015;25(1):38-42.
84. Li J, Pan Z, Liu H, Ding F, Shu Q, Li X. Retrospective analysis of the risk of hemorrhage associated with moderate and severe thrombocytopenia of 173 patients with systemic lupus erythematosus. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(27):e11356.
85. Maric LS, Knezovic I, Papic N, et al. Risk factors for coronary artery abnormalities in children with kawasaki disease: A 10-year experience. *Rheumatol Int*. 2015;35(6):1053-1058.

86. Elmas AT, Tabel Y. Platelet counts in children with Henoch–Schonlein purpura—relationship to renal involvement. *J Clin Lab Anal*. 2016;30(1):71-74.
87. Hally KE, La Flamme AC, Harding SA, Larsen PD. Platelets regulate leucocyte responses to toll-like receptor stimulation. *Clinical & translational immunology*. 2018;7(7):e1036.
88. Kilincalp S, Çoban Ş, Akinci H, et al. Neutrophil/lymphocyte ratio, platelet/lymphocyte ratio, and mean platelet volume as potential biomarkers for early detection and monitoring of colorectal adenocarcinoma. *European journal of cancer prevention*. 2015;24(4):328-333.
89. Artoni A, Abbattista M, Bucciarelli P, et al. Platelet to lymphocyte ratio and neutrophil to lymphocyte ratio as risk factors for venous thrombosis. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2018;24(5):808-814.
90. Koseoglu SB. Bone loss & platelet-to-lymphocyte ratio. *Biomarkers in medicine*. 2017;11(1):5-10.
91. Pilaczynska-Cemel M, Golda R, Dabrowska A, Przybylski G. Analysis of the level of selected parameters of inflammation, circulating immune complexes, and related indicators (neutrophil/lymphocyte, platelet/lymphocyte, CRP/CIC) in patients with obstructive diseases. *Cent Eur J Immunol*. 2019;44(3):292-298.
92. Qu R, Ling Y, Zhang Y, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio is associated with prognosis in patients with coronavirus disease-19. *J Med Virol*. 2020;92(9):1533-1541.
93. Aylward B, Liang W. Report of the WHO-china joint mission on coronavirus disease 2019 (COVID-19). *WHO-China Jt Mission Coronavirus Dis*. 2019;2020:16-24.

94. WHO R&D Blueprint. COVID-19 Therapeutic Trial Synopsis. February 18, 2020, Geneva, Switzerland.
<https://www.who.int/publications/i/item/covid-19-therapeutic-trial-synopsis>
95. Vega-de Céniga M, Allegue-Allegue N, Bellmunt-Montoya S, et al. Medicina basada en la evidencia: Concepto y aplicación. *Angiología*. 2009;61(1):29-34.
96. Morales CH. ¿ La cirugía de trauma está basada en la evidencia? *Revista Colombiana de Cirugía*. 2008;23(1):31-38.
97. Sackett DL. A primer on the precision and accuracy of the clinical examination. *JAMA*. 1992;267(19):2638-2644.
98. Xochiquetzalli Mendoza M. Evidence-based medicine: A new approach to teaching the practice of medicine. *JAMA*. 1992;268:2420-2425.
99. Leiva-Cepas F, Romero-Rodriguez E, Barroso Sevillano M. Scientific journals in the face of the COVID-19 pandemic. *Semergen*. 2020;46(1):1-2.
100. Torres-Salinas D. Daily growth rate of scientific production on covid-19. analysis in databases and open access repositories. *arXiv preprint arXiv*. 2020: 2004.06721.
101. Rochweg B, Granton D, Wang D, et al. High flow nasal cannula compared with conventional oxygen therapy for acute hypoxemic respiratory failure: A systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*. 2019;45(5):563-572.
102. Alhazzani W, Møller MH, Arabi YM, et al. Surviving sepsis campaign: Guidelines on the management of critically ill adults with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Intensive care medicine*. 2020;46(5):854-887.

103. Yang X, Yu Y, Xu J, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in wuhan, china: A single-centered, retrospective, observational study. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020;8(5):475-481.

104. Xia J, Zhang Y, Ni L, et al. High-flow nasal oxygen in coronavirus disease 2019 patients with acute hypoxemic respiratory failure: A multicenter, retrospective cohort study. *Crit Care Med*. 2020;48(11):e1079-e1086.

105. Jimeno S, Gómez M, Ventura PS, Calle A, et al. High Flow in the Storm. Early administration of high-flow nasal cannula in patients with severe acute hypoxic respiratory failure due to COVID-19. *Adv Respir Med*. Under Review.

106. Zeng F, Li L, Zeng J, et al. Can we predict the severity of coronavirus disease 2019 with a routine blood test? *Polish archives of internal medicine*. 2020;130(5).

107. Mo P, Xing Y, Xiao Y, et al. Clinical characteristics of refractory COVID-19 pneumonia in wuhan, china. *Clinical Infectious Diseases*. 2020; ciaa270.

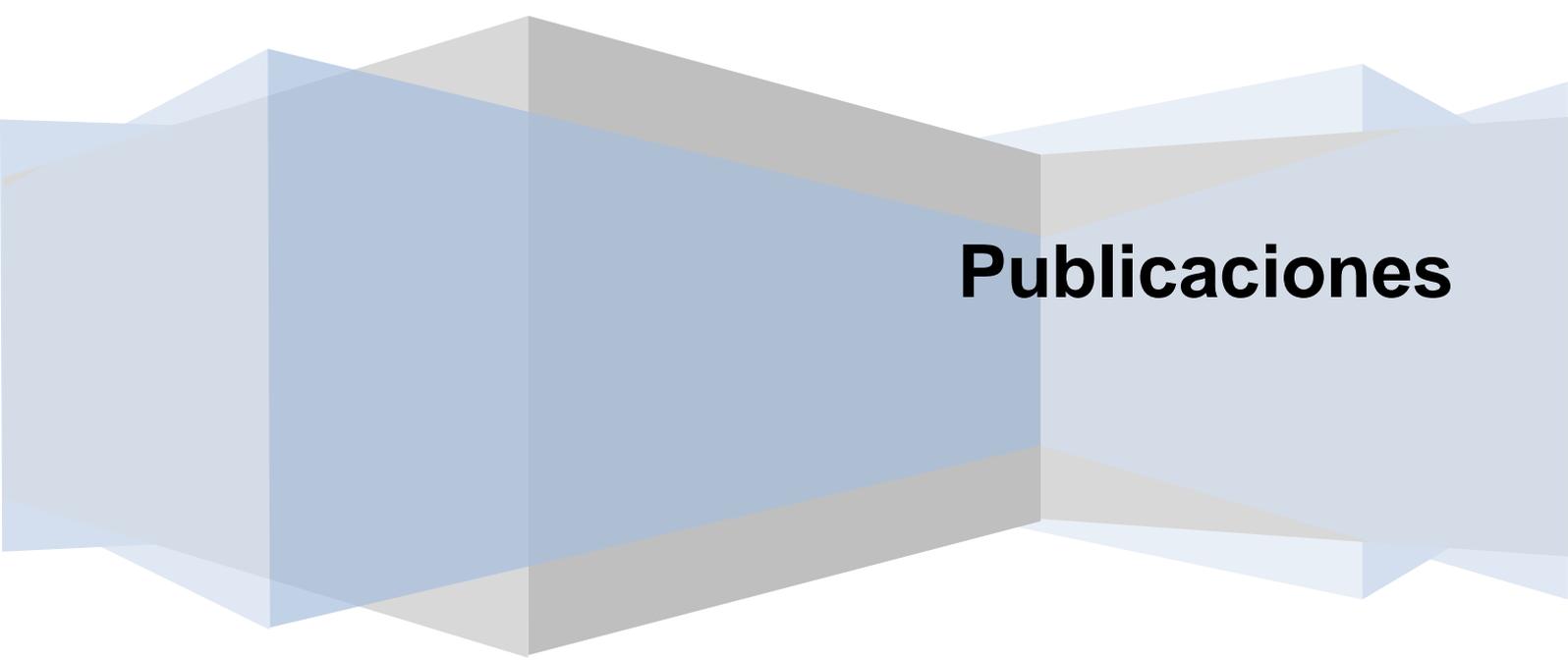
108. Maggi E, Canonica GW, Moretta L. COVID-19: Unanswered questions on immune response and pathogenesis. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;146(1):18-22.

109. Mehra MR, Desai SS, Kuy S, Henry TD, Patel AN. Cardiovascular disease, drug therapy, and mortality in covid-19. *N Engl J Med*. 2020;382(25):e102.

110. Monteil V, Kwon H, Prado P, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2. *Cell*. 2020;181(4):905-913.

111. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020;395(10234):1417-1418.
112. Konukoglu D, Uzun H. Endothelial dysfunction and hypertension. In: *Hypertension: From basic research to clinical practice*. 2016:511-540.
113. Shi Y, Vanhoutte PM. Macro-and microvascular endothelial dysfunction in diabetes: 糖尿病诱导的内皮细胞功能损伤. *Journal of diabetes*. 2017;9(5):434-449.
114. Malerba M, Radaeli A, Nardin M, et al. Endothelial dysfunction assessment by noninvasive peripheral arterial tonometry in patients with chronic obstructive pulmonary disease compared with healthy subjects. *The clinical respiratory journal*. 2018;12(4):1466-1472.
115. Gasparyan AY, Ayvazyan L, Mukanova U, Yessirkepov M, Kitas GD. The platelet-to-lymphocyte ratio as an inflammatory marker in rheumatic diseases. *Annals of laboratory medicine*. 2019;39(4):345-357.
116. Forrest EH, Storey N, Sinha R, et al. Baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts response to corticosteroids and is associated with infection and renal dysfunction in alcoholic hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2019;50(4):442-453.
117. Djaballah-Ider F, Touil-Boukoffa C. Effect of combined colchicine-corticosteroid treatment on neutrophil/lymphocyte ratio: A predictive marker in behçet disease activity. *Inflammopharmacology*. 2020;28(4):819-829.
118. Jimeno S, Ventura PS, Castellano JM, et al. Prognostic implications of neutrophil-lymphocyte ratio in COVID-19. *Eur J Clin Invest*. 2021:e13404.

119. Liang W, Liang H, Ou L, et al. Development and validation of a clinical risk score to predict the occurrence of critical illness in hospitalized patients with COVID-19. *JAMA Internal Medicine*. 2020;180(8):1081-1089.
120. López-Escobar A, Madurga R, Castellano JM, et al. Hemogram as marker of in-hospital mortality in COVID-19. *J Invest Med*. 2021;69(5):962-969.
121. Velázquez S, Madurga R, Castellano Vázquez JM, et al. Hemogram rate as prognostic markers of Care Unit Admission in COVID-19. *MC Emergency Medicine*. 2021. DOI: 10.21203/rs.3.rs-403472/v1.
122. López-Escobar A, Madurga R, Castellano JM, et al. Risk score for predicting in-hospital mortality in COVID-19 (rim score). *Diagnostics*. 2021;11(4):596.



Publicaciones

1. Como primer autor:

- Título: Prognostic implications of neutrophil-lymphocyte ratio in COVID-19.

Autores: **Sara Jimeno**, Paula S Ventura, Jose M Castellano, Salvador I García-Adasme, Mario Miranda, Paula Touza, Isabel Llana, Alejandro López-Escobar.

Revista: European Journal of Clinical Investigation.

Año: Enero 2021.

Volumen y páginas: Vol. 51(1):e13404.

DOI: 10.1111/eci.13404.

- Título: Usefulness of the Hemogram in COVID-19.

Autores: **Sara Jimeno**, Alejandro Peixoto, Sara Velázquez, Paula Sol Ventura, Salvador I. García Adasme, Alejandro López-Escobar.

Libro: Fighting the COVID-19 Pandemic.

Editorial: IntechOpen.

Año: Septiembre 2021.

DOI: 10.5772/intechopen.98950.

2. Como autor adjunto:

- Título: Hemogram as marker of in-hospital mortality in COVID-19.

Autores: Alejandro López-Escobar, Rodrigo Madurga, José María Castellano, Santiago Ruiz de Aguiar, Sara Velázquez, Marina Bucar, **Sara Jimeno**, Paula Sol Ventura.

Revista: The Journal of Investigative Medicine.

Año: Abril 2021.

Volumen y páginas: Vol. 0:1–8.

DOI: 10.1136/jim-2021-001810.

- Título: Pediatric home confinement due to COVID-19: somatic and anxiety spectrum consequences.

Autores: Salvador I. Garcia-Adasme, José M. Cárdenas-Rebollo, Ana Jimenez-Perianes, Margarita Lalinde, **Sara Jimeno**, Paula S. Ventura, Alvaro Díaz, Alejandro López-Escobar.

Revista: Journal of Clinical Nursing.

Año: Abril 2021.

Volumen y páginas: Vol. 00:1–11.

DOI: 10.1111/jocn.15829.

- Título: Hemogram-derived Rates as Prognostic Markers of ICU Admission in COVID-19.

Autores: Sara Velazquez, Rodrigo Madurga, Jose Maria Castellano, Jesus Rodriguez-Pascual, Santiago Ruiz de Aguiar, **Sara Jimeno**, Juan Ignacio Montero, Paula Sol Ventura, Alejandro López-Escobar.

Revista: BMC Emergency Medicine.

Año: Julio 2021.

Volumen y páginas: 21:89:1-9.

DOI: doi.org/10.1186/s12873-021-00480-w.

