



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
"ISMAEL COSÍO VILLEGAS"

ESPECIALIDAD EN NEUMOLOGÍA

**Asociación de la interleucina 6 sérica como factor predictor de ventilación mecánica
invasiva y/o muerte en pacientes con COVID-19 grave**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MÉDICO ESPECIALISTA EN
NEUMOLOGÍA

PRESENTA

DR. DIEGO ALEXIS GARCÍA ESTUDILLO

TUTOR DE TESIS

DR. JORGE ROJAS SERRANO

Ciudad de México, febrero 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

SECRETARÍA DE SALUD
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
"ISMAEL COSÍO VILLEGAS"
NEUMOLOGÍA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

DR. JUAN CARLOS VÁZQUEZ GARCÍA
DIRECTOR DE ENSEÑANZA
PROFESOR TITULAR DE LA ESPECIALIDAD EN NEUMOLOGÍA

DRA. MARGARITA FERNÁNDEZ VEGA
SUBDIRECTORA DE ENSEÑANZA

DRA. MARÍA DEL CARMEN CANO SALAS
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE POSGRADO

DR. JORGE ROJAS SERRANO
ASESOR Y TUTOR PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN NEUMOLOGÍA.
MÉDICO ADSCRITO DE LA UNIDAD DE ENFERMEDADES DEL INTERSTICIO
PULMONAR Y REUMATOLOGÍA

AGRADECIMIENTOS

Para nada es noticia el problema de salud mundial que estamos viviendo. La pandemia nos ha afectado a todos en distintas formas; a algunos nos ha alejado de nuestros seres queridos, mientras otros menos afortunados, los han perdido como consecuencia directa e indirecta. Quiero dedicar este trabajo a todos mis compañeros de profesión que han caído en su labor, y a todos aquellos que hemos sacrificado desde un momento hasta toda una vida con nuestros seres queridos. Sin pedirlo, se nos ha conferido una gran responsabilidad que parece no tiene fin, por lo que, si la adversidad no descansa, tampoco lo haremos nosotros. Más allá de lo metodológico, este trabajo tiene como objetivo el brindar un poco de esperanza para esa incertidumbre y miedo que vivimos todos los días al tomar decisiones médicas y al lidiar con el fracaso. Mientras más conocimiento tengamos de esta enfermedad, menos durará la pandemia.

Agradezco a cada una de las situaciones, problemas y adversidades que han sucedido en mi vida, puesto que, gracias a ellas estoy aquí. Agradezco a mis padres, Bertha Mayanin Estudillo Velázquez y Sergio Moisés García Domínguez, por enseñarme cómo afrontarlas; a mi segunda madre Bertha Velázquez Casarrubias, Moisés García, César Estudillo, Ignacio Estudillo, y a Nala, por que su partida me sigue enseñando todos los días; a mi hermana Alexia Mayanin García Estudillo, por enseñarme el valor de la responsabilidad; y jamás dejaré de agradecerle a mi prometida Valeria Bustamante, quien es mi alma gemela, y la mujer que ha traído paz, templanza y amor al caos que es mi vida.

Por último, quiero agradecer con este poema y hacer mención, de cada uno de los pacientes que han puesto su vida en mis manos, aquellos a los que les he fallado y me han enseñado más de lo que cualquier libro puede hacerlo. Su invaluable confianza solo ha sido superada por su fe en Dios.

*“Nuestro miedo más profundo no es el de ser inapropiados.
Nuestro miedo más profundo es que somos poderosos sin límite.
Es nuestra luz, no la oscuridad lo que más nos asusta.
Nos preguntamos: ¿quién soy yo para ser brillante, precioso, talentoso y fabuloso?
En realidad, ¿quién eres tú para no serlo?
Eres hijo del Universo.
El hecho de jugar a ser pequeño no sirve al mundo.
No hay nada iluminador en encogerte para que otras personas cerca de ti
No se sientan inseguras. Nacemos para hacer manifiesto la gloria del Universo que está dentro de nosotros.
No solamente algunos de nosotros: Está dentro de todos y cada uno.
Y mientras dejamos lucir nuestra propia luz, inconscientemente damos permiso a otras personas para hacer lo mismo.
Y al liberarnos de nuestro miedo, nuestra presencia automáticamente libera a los demás”.*
Marianne Williamson: Nuestro miedo más profundo.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	7
4. MARCO TEÓRICO	8
5. JUSTIFICACIÓN	32
6. HIPÓTESIS	32
7. OBJETIVO GENERAL	33
a. OBJETIVOS SECUNDARIOS	33
8. MATERIAL Y MÉTODOS	34
9. CONSIDERACIONES ÉTICAS	39
10.RESULTADOS	40
11.DISCUSIÓN	51
12.CONCLUSIONES	54
13.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
14.ANEXOS	76

1.- INTRODUCCIÓN

Introducción: COVID-19 es una enfermedad infectocontagiosa causada por el nuevo coronavirus SARS-CoV2 (1). La mortalidad para las formas graves con uso de ventilación mecánica invasiva se ha informado entre el 26 al 81% (8-12). La IL-6 es una citocina plurifuncional, tiene efectos antiinflamatorios como proinflamatorios. En pacientes con COVID-19 grave se han identificado niveles elevados de IL-6, con medianas de hasta 36.7 pg/ml, sin embargo al compararlos con otras causas de SDRA, estos valores son significativamente menores (127). Por todo lo anterior el rol de la elevación de citocinas en la fisiopatología de pacientes con COVID-19 grave permanece no claro. **Objetivo:** Estimar la fuerza de la asociación de la interleucina 6 sérica como factor predictor de ventilación mecánica invasiva y/o muerte en pacientes con COVID-19 grave. **Metodología:** Estudio de cohorte retrospectiva en pacientes con COVID-19 grave. Se incluyeron a sujetos ≥ 15 años con diagnóstico confirmado de COVID-19 por RT-PCR y se excluyeron a aquellos que tuvieran análisis de IL-6 mayor a 96 horas desde su ingreso hospitalario o toma de la muestra mayor a 24 horas de intubación orotraqueal. Así mismo, se excluyeron a los sujetos sin tomografía de tórax y diagnóstico de otras infecciones respiratorias. Los desenlaces primarios fueron inicio de ventilación mecánica invasiva y muerte. **Resultados:** Se analizaron a 89 sujetos, con una mortalidad total del 22%. Se dividieron a los pacientes en COVID-19 grave (22) y COVID-19 grave + VMI (67). Los sujetos con VMI (580.03 pg/ml, IIC 125.77-2654.13) tuvieron hasta 8 veces los niveles de IL-6 comparados con los sujetos sin VMI (70.71 pg/ml, ICC 39.6-131.99). La variable categórica que más se asoció a VMI fue la de fiebre durante los primeros 5 días de admisión con un OR ajustado de (37.61-542). Se estableció un corte de IL-6 para VMI de 282pg/ml, con una fuerte asociación en los modelos multivariados con ORa de 10.8 (1.56-75.4). El mejor biomarcador independiente asociado a inicio de VMI fue la procalcitonina con un ORc de 234.5 (2.49-21998) y AUROC de 0.86. En los modelos de regresión logística multivariados la IL-6 perdió fuerza de asociación, resultando en no significativa para mortalidad. El factor protector que se observó para mortalidad fue la recuperación de linfocitos en los primeros 5 días de hospitalización (ORa 0.09, IC 95% 0.002-0.19, P:0.0001). **Conclusiones:** Los niveles de interleucina 6 fueron independientemente asociados a ventilación mecánica invasiva al establecer un punto de corte ≥ 282 pg/ml. La IL-6 no fué asociada a mortalidad. Estos hallazgos sugieren que la medición seriada de este biomarcador puede tener rol importante en la identificación oportuno de falla respiratoria en COVID-19 grave.

2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

COVID-19 es una enfermedad infectocontagiosa causada por el nuevo coronavirus SARS-CoV2 (1). A pesar de que su descubrimiento tiene menos de 11 meses, el grado de propagación lo convirtió en emergencia de salud pública de interés internacional, para finalmente catalogarse como pandemia (4,5). Actualmente el SARS-CoV2 ha afectado a más de 200 países, resultando en más de 32 millones de casos identificados con más de 983,000 muertes confirmadas (6). En México hasta la segunda quincena de septiembre se han reportado 726,431 casos confirmados y 76, 243 muertes, con una tasa de letalidad cercana al 12% (7). La mortalidad para las formas graves con uso de ventilación mecánica invasiva se ha informado entre el 26 al 81% (8-12). Las enfermedades Crónico degenerativas, la mayor edad y la obesidad/sobrepeso son factores de riesgo para complicaciones respiratorias en COVID19 (12-15). Sin embargo, en los últimos meses ha incrementado el número de casos graves en personas sin comorbilidades (15). A pesar de que son los mayores determinantes en la patogenia del virus, los mecanismos de daño viral y respuesta inflamatoria han sido poco estudiados, los únicos reportes que hay incluyen un número pequeño de muestra, o son basados en estudios in vitro, así como en otros coronavirus o ejemplificando vías inflamatorias con enfermedades autoinmunes (16-20). Se ha generado controversia en algunas publicaciones sobre la participación de la interleucina 6 como mediador inflamatorio, sin embargo, se le ha asociado a peor pronóstico y desenlaces fatales (16-18, 21, 22). Debido a la falta de información sobre los factores de riesgo asociados a gravedad de la enfermedad y la desregulación inmune existe un retraso en la identificación de pacientes con potencial evolución hacia el deterioro y desconocimiento de complicaciones a corto plazo. Es necesario un conocimiento profundo de los mecanismos inmunomediados de la enfermedad para estrategias terapéuticas dirigidas. Hasta el momento no se cuenta con tratamiento específico para las formas leves y graves de COVID-19.

3.- PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la asociación de la interleucina 6 sérica como factor predictor de ventilación mecánica invasiva y/o muerte en pacientes con COVID-19 grave?

4.- MARCO TEÓRICO

En diciembre del 2019 se reportó una serie de casos de neumonía de aparente origen desconocido epidemiológicamente ligada a un mercado mayorista de mariscos y animales marinos en Wuhan, Provincia de Hubei, China (1). El 31 de diciembre del 2019 el Centro para control y prevención en enfermedades (CDC) de China inició la investigación epidemiológica y etiológica. En enero del 2020 se analizaron 4 muestras de vías respiratorias inferiores de pacientes con neumonía de agente etiológico desconocido en Wuhan, concluyendo en el aislamiento y caracterización de un nuevo coronavirus (2). Consecuentemente se realizaron secuencias genómicas completas de otros 5 pacientes en el inicio del brote. Se identificó que las secuencias eran casi idénticas y que compartían el 79.6% de material genético idéntico a SARS-CoV. Además, se demostró que el genoma del virus es 96% similar un coronavirus de murciélago (3). La organización mundial de la salud (OMS) nombró tentativamente al virus como el nuevo coronavirus 2019 (nCoV-2019), posteriormente el 30 de enero la misma OMS emitió un comunicado sobre que el brote era una emergencia de salud pública de interés internacional (PHEIC) y el 11 de febrero del 2020 se nombró formalmente a la enfermedad causada por el nuevo coronavirus como “COVID-19” (4). Finalmente, el 11 de marzo de 2020, la OMS clasificó formalmente a la diseminación mundial por COVID-19 como pandemia (5).

1. Virología

Los coronavirus (CoVs) son virus de ARN de cadena sencilla envueltos por cápsides helicoidales con una capacidad extensa para infectar múltiples huéspedes, incluidos humanos, aves, murciélagos y otros mamíferos (23). El espectro de enfermedades en humanos varía desde gastroenteritis y resfriado común hasta enfermedades respiratorias graves. De acuerdo al Comité Internacional de Taxonomía en Virus (ICTV) estos virus son clasificados en el orden del grupo *Nidoviridae*, como familia *Coronaviridae* y subclasificados en 4 generaciones: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus* (23-25). Las generaciones alpha y beta son las responsables de infección en seres humanos, de estas, los virus que son asociados a baja patogenicidad son HCoV-229E, NL63, OC43 y HKU-1, contribuyendo a resfriados comunes y en algunos reportes de

casos con infecciones respiratorias más graves (26,27). Los otros dos coronavirus asociados a enfermedades más graves son el coronavirus relacionado al síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV), responsable del brote en 2002-2003 con 8,096 casos y 774 muertes reportadas, y el coronavirus asociado al síndrome respiratorio del medio este (MERS-CoV), responsable de 2,494 casos y 858 muertes reportadas durante el brote presentado en el 2012 (23,28,29). Con base en la caracterización molecular, el nuevo coronavirus SARS-CoV2 se considera que pertenece a la generación de los *Betacoronavirus*, específicamente al subgénero *Sarbecovirus* (2,3).

a. Estructura genética y viral

Los coronavirus poseen el genoma más extenso de todos los virus de ARN infectocontagiosos del ser humano, este consiste en un ARN monocatenario de sentido positivo de aproximadamente 30 kb de tamaño con fin en una secuencia 5' y 3' poliadenilatado (2,3). Todo el material genético es organizado en proteínas no estructurales, las cuales están unidas a enzimas como proteasas y a una ARN polimerasa (23).

La nucleocápside en estos virus está dispuesta en simetría helicoidal, que refleja un atributo atípico en sentido positivo de los virus de ARN (2). Las primeras micrografías electrónicas de SARS-CoV2 revelaron que este posee una forma esférica divergente con un cierto grado de pleomorfismo, que le confiere que los diámetros del virión varíen de 60 a 140 nm, acompañado de picos distintos de 9 a 12nm, y los cuáles le dan al virus la apariencia de una corona solar (2,3). Los CoVs poseen 4 proteínas estructurales mayores, llamadas proteína de espiga (S), proteína de membrana (M), envoltura (E) y nucleocápside (N), que contienen las siguientes características (30):

La proteína S es una proteína transmembrana cuyo tamaño varía desde 1,160 aminoácidos hasta 1,400 aminoácidos. Recae sobre la superficie del virión y es la que le da la forma parecida a una corona. Esta proteína tiene un rol importante en el ciclo de viral y en la defensa del anfitrión, es responsable de la unión a su receptor, de la fusión con la membrana celular, tiene actividad de hemaglutinina y es un objetivo para la inmunidad adaptativa de obtener anticuerpos neutralizantes del huésped (23,31). Específicamente el SARS-CoV2 tiene ciertos polimorfismos en la proteína S que lo distingue del SARS y el MERS-CoV. Es precisamente este tipo de proteína S la que se ha sugerido permite la activación de la furina,

la cual se trata de una enzima celular en múltiples tejidos del cuerpo humano, incluyendo hígado, pulmón e intestino delgado (32).

La proteína M es la glucoproteína viral más abundante en la superficie del virión con tres dominios transmembrana, y se encarga de determinar la forma de la envoltura viral (23). Como dato añadido, la proteína M de SARS-CoV2 tiene la misma estructura de aminoácidos que del SARS-CoV (35).

La proteína E es un pequeño polipéptido de membrana multifuncional, que participa en la patogénesis y liberación viral, y que además actúa como viroporina (23). La inactivación o ausencia de esta proteína está relacionada en la virulencia del coronavirus, por lo que juega un papel clave en la infectividad viral. Interactúa con la proteína M para formar la envoltura viral, es importante para determinar la infectividad viral (24,33).

La proteína N del coronavirus participa en múltiples funciones, tales como: formación del genoma viral, facilita la interacción de la proteína M durante la unión del virión y mejora la eficiencia de transcripción viral (23). Así mismo, en reportes previos sobre estudios invitro y dinámica viral de SARS-CoV se ha evidenciado que regula la respuesta antiviral por el huésped ya que antagoniza a los distintos tipos de interferón (IFN) (34). Comparada con la proteína N de SARS-CoV, esta proteína tiene 5 mutaciones en aminoácidos que le confieren las características previamente descritas (35).

Existen otras 15 proteínas virales llamadas nsps que participan específicamente en la replicación viral, así como también otras 8 proteínas accesorias que presentan estructura de aminoácidos similar a las secuencias de otros coronavirus (35).

2. Mecanismos de transmisión

La transmisión de SARS-CoV2 se da principalmente vía gotas respiratorias por contacto cara a cara, contacto con superficies contaminadas e inhalación de aerosoles suspendidos en el aire (36-39). Es de suma importancia hacer énfasis en este último mecanismo de transmisión, ya que, a pesar de que se corroboró que pequeñas partículas de aerosol en las que se ha encontrado material genético viral pueden quedar suspendidas en el aire, aún no es claro si fuera de las condiciones de un laboratorio este mecanismo es una fuente de infección importante (37). Existen algunos reportes de transmisión vertical, en la mayoría de estos la infección ocurrió en el tercer trimestre de embarazo con evolución favorable para madre y neonatos (40-42).

El virus ha sido identificado en superficies impermeables como metal y plástico por 3 a 4 días posterior a la inoculación, y en superficies como cobre y cartón se ha identificado que el virus no es viable posterior a 4 y 24 horas respectivamente (43). En el contexto de una unidad de cuidados intensivos se han identificado altas concentraciones de material genético de SARS-CoV 2 en áreas contaminadas con una tasa de positividad que va desde el 12.5 % al 85% en el equipo de protección personal de los trabajadores de la salud, filtros de aire, computadoras, piso y botes de basura, inclusive llegando a concentraciones virales de 7.45×10^4 (52,53).

3. Dinámica viral

En cuanto a la dinámica viral en vías respiratorias superiores, *Xi y et al.* analizaron la depuración viral en 94 pacientes con diagnóstico de COVID-19 confirmado por laboratorio y observaron que la mayor carga viral se identificó en el inicio de la sintomatología. Así mismo de acuerdo a lo publicado por *Li et al.* con un promedio de 5.8 días y mediana de 5.2 días de incubación viral, se tiene estimado que el mayor pico de carga viral sucede aproximadamente de 2 a 3 días previos al inicio de los síntomas (44, 45). Se debe de tomar con reserva esta información ya que hoy en día no existen análisis confiables de carga viral previo al inicio de la sintomatología, pudiéndose haberse sobreestimado el período de incubación y por consiguiente los días de la transmisión presintomática.

La proporción de casos asintomáticos reportados en la literatura varía desde 4% a 41%, y de acuerdo al meta-análisis por *Byambasuren et al.* este valor baja a un 15%. Sin embargo, a pesar de que los casos asintomáticos puedan ser menores a lo reportado en la literatura, el número es suficientemente considerable para garantizar política de prevención y atención epidemiológica (46).

La detección de ARN viral en muestras de vías respiratorias superiores en casos leves puede seguir positiva hasta 32.8 días (95% IC 25.9-42.3 días), y en casos más graves el tiempo se puede prolongar hasta 63 días (54). Sin embargo, de acuerdo a lo publicado por *Wolfe et al.*, en un estudio de dinámica viral a 7 pacientes con enfermedad leve se encontró que a pesar de que la última muestra respiratoria superior fue positiva en el día 28 de iniciados los síntomas, el cultivo viral fue negativo a partir de los 8 días de la sintomatología (55). De cualquier forma, debido a la calidad de evidencia y a la limitación del número de sujetos estudiados en las publicaciones mencionadas previamente, se requieren de análisis más

específicos que incluyan otro grupo de pacientes como aquellos con enfermedad grave y ventilación mecánica invasiva, inmunosuprimidos y pacientes de mayor edad.

4. Replicación viral y patogénesis

En la fase prodrómica de la infección el SARS-CoV2 tiene como objetivos células epiteliales de toda vía respiratoria superior e inferior. El virus entra a las células huésped mediante la unión de la proteína S al receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA2), posteriormente se genera un cambio conformacional de esta proteína viral permitiéndole enclavarse a la proteasa de serina tipo 2 de transmembrana (TMPRSS2). Esta proteasa y la ECA2 están presentes también en células epiteliales gastrointestinales, sin embargo, el mayor sitio de afección lo realiza en los neumocitos tipo 2(47). Una vez unido a la membrana celular, el virus puede entrar mediante endocitosis o a través de una entrada en la superficie no endocítica. Al entrar en una vesícula el virión libera su ARN de cadena única dentro del citosol (23, 36). Dado que el virus es de sentido positivo, este puede actuar como ARN mensajero y comenzar la traducción de proteínas virales no estructurales con recursos celulares. Algunas de estas proteínas forman un complejo de replicación para generar más ARN y así comenzar la traducción de proteínas estructurales (48). Las proteínas N y el ARN viral son ensamblados en un nuevo virión dentro del aparato de Golgi para luego sumárseles las proteínas M y S, y finalmente ser liberado al exterior (23).

5. Respuesta inmune

a. Inmunidad innata

Después de la entrada del virus, las células del epitelio alveolar detectan la presencia material genético viral a través de unos receptores de reconocimiento de patógenos (RRPs). Estos receptores censan estructuras de ARN aberrante que se genera como consecuencia de la replicación viral. El reconocimiento de estas estructuras culmina en la oligomerización de estos receptores y la activación de factores de transcripción proinflamatorios, principalmente los Factores regulares de interferón (FRI) y el factor nuclear kB (NFκβ) (49,50). La activación transcripcional de estos factores resulta en el inicio de dos respuestas antivirales. La primera mediada por Interferón I (IFN-I) e Interferón III (IFN-III), y la subsecuente regulación al alza de los genes de estimuladores de interferón (ISGs) (49). La segunda respuesta involucra al reclutamiento de monocitos, macrófagos, polimorfonucleares y otras células inflamatorias, con la consecuente liberación de mediadores inflamatorios

como citocinas que a su vez contribuyen al mismo reclutamiento celular hacia el pulmón. En los casos leves de COVID-19 existe una adecuada respuesta de IFN-I y de los demás mecanismos previamente descritos para la autolimitación de la enfermedad. Sin embargo, en los casos graves existe un estado de hiperinflamación llamado síndrome de liberación de citocinas (SLC) o “tormenta de citocinas” con niveles incrementados de IL-6, IL-12, IL-1 β , y TNF α que contribuyen al aumento de la permeabilidad vascular y decaimiento del intercambio gaseoso a través de la membrana alveolo capilar (51).

b. Interleucina-6

Desde hace tiempo es conocido el papel importante de las citocinas y quimiocinas en inmunidad e inmunopatología, sin embargo, las respuestas desmedidas y desreguladas se han asociado como potenciales mecanismos de daño pulmonar. La interleucina 6 (IL-6) fue descubierta por *Weissenbach et al.* en 1980 a partir de modelos en *E. coli* sobre la participación de dos especies de ARN mensajero que producían biológicamente interferón y que fueron aisladas en fibroblastos humanos (56). La IL-6 es un polipéptido pequeño que consiste en cuatro hélices α , tiene un peso molecular de 19 a 28 kDa y lo componen 184 residuos de aminoácidos en forma de monómero, con un punto isoeléctrico, así como sitios de glicosilación y dos enlaces disulfuro. El gen que codifica a esta citocina se encuentra en el cromosoma 7p 15-21, e incluye 4 intrones y 5 exones (57). Puede ser producida por la mayoría de las células estromales y del sistema inmune, como fibroblastos, células endoteliales, queratinocitos, células mesangiales, alveolares, linfocitos B, linfocitos T, macrófagos, monocitos, células dendríticas y mastocitos. Los principales activadores de la secreción de IL-6 son la IL-1 β y TNF- α , sin embargo, existen otros factores que pueden contribuir a su expresión como los receptores tipo Toll (TLRs), prostaglandinas, adipocinas, respuesta al estrés y otras citocinas (58).

• Transducción de señales de la IL-6

La IL-6 es una citocina plurifuncional que tiene efectos antiinflamatorios como proinflamatorios. La unión de IL-6 con su alfa receptor (IL-6R) inician la señalización de transducción. Este complejo posteriormente activará y se unirá a la glucoproteína transmembrana 130 (gp130) para iniciar la señalización intracelular y activación de genes proinflamatorios como la kinasa JAK/STAT y ras/MAP a través de la vía de las kinasas (59-60). La gp130 es expresada en todas las células del cuerpo humano, a diferencia de IL-6R, que es encontrado mayormente

en hepatocitos, leucocitos y células epiteliales. Este receptor de IL-6 es sometido a proteólisis por actividad de metaloproteasas como ADAM17 lo que con lleva a la generación de una forma soluble de IL-6R (sIL-6R) (61).

Existen 3 vías de señalización y transducción de la IL-6: 1.-Señalización de transducción clásica; 2.- Transducción vía trans-señalización; 3.- y la señalización vía trans-presentación (57,58).

En la vía de señalización de transducción clásica, la mayor afinidad de IL-6 es hacia IL-6R. En algunos modelos animales se ha mostrado que la acción de la IL-6 mediante la transducción clásica tiene efectos antiinflamatorios y protectores (62). En la segunda vía de transducción que es la trans-señalización, la IL-6 se une en igual afinidad a su receptor transmembrana y a sIL-6R. Este complejo de IL-6 y de sIL-6R se une y activa a gp130 en aquellas células que no expresan IL-6R. A este mecanismo de transducción se le ha atribuido formar parte de inflamación crónica y al desarrollo de cáncer (62,63). En el siguiente mecanismo de transducción que es la señalización vía trans-presentación participa una variante soluble de gp130 (sgp130), que puede formar un complejo soluble con sIL-6R y prevenir que este último se una a gp130, de tal manera que la activación celular nunca iniciaría y por ende tampoco la activación de genes proinflamatorios y antiinflamatorios (64).

Como se mencionó previamente, en algunos modelos animales la señalización clásica fue asociada a efectos antiinflamatorios, así mismo se ha evidenciado que la inhibición únicamente de la trans-señalización a través de sgp130Fc, que es una fusión de gp130 con la porción de Fc de un anticuerpo neutralizante, es superior comparado con un bloqueo completo de la actividad de IL-6 (65,66). En un modelo de sepsis polimicrobiano en ratones, el bloqueo selectivo de la transducción trans-señalización de IL-6 con sgp130Fc mejoró la supervivencia en un 100%, así mismo, aquellos ratones tratados con anticuerpos anti IL-6R no previnieron ninguna muerte (67). Otro ejemplo de este mecanismo es la asociación de pérdida de función de IL-6 con daño pulmonar grave y muerte en ratones infectados con influenza (68, 69). De tal manera que todo apunta a que la transducción de la vía de trans-señalización es la dañina (respuesta proinflamatoria) y la transducción clásica sería protectora (respuesta antiinflamatoria) (70).

- **Diferenciación de linfocitos B y T**

LA IL-6 es un regulador proinflamatorio de los linfocitos T, puede inducir la actividad citotóxica y junto con el factor de crecimiento beta ($TGF\beta$) promueve la diferenciación y función del linaje de las células Th17. Así mismo, inhibe a las células reguladoras y estimula la respuesta autorreactiva de células T CD4 (71). En cuanto a los linfocitos B, la IL-6 promueve la proliferación, diferenciación y producción de autoanticuerpos (72).

- **Otras funciones**

La IL-6 es un inductor fuerte de las proteínas reactivas de fase aguda. Estimula la transcripción de genes para la traducción de proteína amiloide A y de proteína C-reactiva (PCR) en los hepatocitos (73, 74). Tiene efecto en las células madre hematopoyéticas al promover el crecimiento y diferenciación de cada uno de los eritrocitos (75). Además, participa en el metabolismo lipídico, resistencia a la insulina, actividad mitocondrial, en el sistema neuroendocrino y en el comportamiento psicosocial (58). En adición, la IL-6 promueve la diferenciación de osteoclastos y angiogénesis, la proliferación de queratinocitos y células de la membrana glomerular, y el crecimiento de células de mieloma y plasmocitoma (58,76).

c. “Tormenta de citocinas”, IL-6 y SARS-CoV 2

Tomando como base los estudios previos sobre la fisiopatología de otros coronavirus como el SARS-CoV 1 y el MERS, posterior a la activación de las dos respuestas antivirales mediadas por los distintos tipos de interferón y reclutamiento de células inflamatorias (monocitos, macrófagos, polimorfonucleares, células epiteliales y endoteliales) se produce una liberación masiva de citocinas, dentro de las que destaca la IL- 6 e IL-1 β (77-79). La producción de interferones tipo I y III promueve una actividad intracelular antiviral mientras estas citocinas reclutan mediadores inflamatorios adicionales amplificando la respuesta inmune innata (80). A este fenómeno se le ha nombrado como “tormenta de citocinas”, similar al término de SLC (81,82). Estos mecanismos de inflamación toman mayor importancia en las formas graves de COVID-19, ya que, de acuerdo a lo publicado por *Chen et al.*, en su análisis retrospectivo de 11 casos catalogados como infección por SARS-CoV 2 grave se evidenciaron niveles elevados de IL-10 y FNT- α comparados con los casos moderados, y la IL-6 con concentraciones incrementadas en ambos grupos (83). Resultados

que apoyan este estudio son los expuestos en el meta-análisis de *Coomes y Haghbayan*, donde se analizaron 8 publicaciones y 2 manuscritos con moderado riesgo de sesgo, pero con índices de heterogeneidad de un 87%, en el que al comparar los pacientes con COVID-19 complicados y con estancia en unidad de terapia intensiva se observaron hasta 2.9 veces el valor de IL-6 con respecto a los casos no complicados y sin estancia en unidad de terapia intensiva (21, 84).

d. Síndrome de activación macrofágica

Así mismo, en los pacientes infectados con COVID-19 se ha detectado una gran población de monocitos circundantes con gran expresión de genes inflamatorios, así como gran abundancia de la proteína CD14 (84,85). Esta vía inflamatoria está relacionada con gran actividad macrofágica, así como, con el desarrollo de linfohistiocitosis hemofagocítica secundaria (sHLH), y el síndrome de activación macrofágica (MAS) descrito previamente en otros padecimientos como en infecciones por otros coronavirus, enfermedad de Still y sepsis bacteriana. Aunado a esto, de acuerdo a la cohorte de *Bourbouillis et al.*, podemos clasificar los patrones de respuesta inmunológica en los pacientes con COVID-19 en: 1.- Desregulación inmune y en 2.- MAS. En el mencionado estudio se evaluaron las diferencias de estos patrones de inflamación tomando de base a las respuestas inmunes de pacientes críticamente enfermos con sepsis. Tomando cohortes previas de los mismos autores los pacientes se dividieron en tres grupos, 104 pacientes con neumonía bacteriana, el segundo grupo de 21 con Influenza A H1N1 y 54 pacientes con COVID-19 grave que participaron en el ensayo clínico PROVIDE. Para clasificar a los pacientes en MAS se tomó como criterio el valor de ferritina mayor a 4,420 ng/ml, y moléculas de HLA-DR en monocitos CD14 menor a 5,000 en ausencia de ferritina elevada para el fenotipo de desregulación inmune. En los resultados se evidenció que, a diferencia de los pacientes con neumonía bacteriana y falla respiratoria, los pacientes con infección por SARS-CoV 2 grave y Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo (SDRA) desarrollaron MAS o desregulación inmune. Las concentraciones de IL-6 se asociaron inversamente a los niveles de HLA-DR de los monocitos CD14 a pesar de que estas células se encontraban incrementados en estos pacientes. Esto sugiere que la IL-6 inhibe la expresión de HLA-DR retroalimentando positivamente a mayor producción de CD14 con presentación de antígeno defectuosa, alteración en la función de las células linfoides, y mayor secreción de citocinas incluyendo IL-6, perpetuando el ciclo inflamatorio. En aquellos pacientes que tuvieron MAS, se extrajeron células polimorfonucleares para después ser estimuladas y cultivadas, y a pesar

de tener niveles de IL-6 elevados, la citocina con mayor concentración reportada fue IL- β , con valores de hasta 380pg/dl, a diferencia de las células de los pacientes con disregulación inmune con niveles de IL-1 β hasta 100pg/ml, concluyendo en este modelo que el síndrome de activación macrofágica está dirigido principalmente, entre otras citocinas, por IL-1 β (18).

e. Respuesta inmune adaptativa e IL-6

La insuficiente respuesta de todos los mecanismos previamente comentados, en especial los mediados por interferón tipo I y tipo III, conllevan a una falta de control y extensión de la enfermedad (80). La consecuente estimulación de linfocitos B da inicio a la respuesta humoral. En el estudio publicado por *Zhao et al.*, se observó que la mediana de detección de IgM fué a los 12 días de iniciada la enfermedad logrando una sensibilidad del 73.3%, y de IgG a los 14 días con valores de 54.1% al compararse con la detección de ARN viral mediante RT-PCR. La temporalidad de la producción de anticuerpos no fue asociada con la gravedad, sin embargo, los pacientes con los títulos de anticuerpos más altos, independientemente del tipo, fueron asociados a enfermedad más grave, sugiriendo que la respuesta humoral no es suficiente para atenuar la respuesta viral (86). Por lo general los niveles de anticuerpos son de baja magnitud, pero con detección hasta los 23 días aproximadamente en las formas no complicadas (87, 88). Una posible explicación a la falta de durabilidad de la detección de la respuesta humoral es que en algunas necropsias se han revelado ausencia de centros germinales de células B en pacientes críticamente enfermos (89). Ha sido demostrado que las células B producen IL-6 para impulsar la formación de centros germinales. En pacientes infectados por SARS-CoV 2 incapaces de llevar a cabo una respuesta inmune fisiológica, la IL-6 producida por las células B puede aumentar el nivel de inflamación. Así mismo, tal y como lo expuso Quinti *et al.*, la falta de estimulación de linfocitos B pudiese tener mayores efectos protectores que de deterioro. En dicho estudio se comentan las primeras descripciones de pacientes con COVID-19 afectados con alteraciones autoinmunes primarias. 5 pacientes cursaban con deficiencias variables inmunes (CVIDs) y 2 con agammaglobulinemia. Todos ellos tenían producción de anticuerpos deficiente. Los pacientes con agammaglobulinemia tenían déficit de linfocitos B y cursaron con síntomas leves, de corta duración y sin requerimientos de inmunomoduladores. Al contrario, los pacientes con CVIDs presentaron las formas graves de la enfermedad con requerimientos de ventilación mecánica invasiva y peor pronóstico (90).

Los linfocitos T, en especial las células CD8⁺ citotóxicas, son las células inmunes más importantes para protección en contra de infecciones virales (91). De acuerdo a lo reportado por *Grifoni et al.*, en pacientes convalecientes infectados con SARS-CoV 2 con distintos grados de enfermedad se han detectado células CD8⁺ y CD4⁺ hasta en un 70% y 100% respectivamente. En este mismo estudio las células CD4 que reaccionaron hacia SARS-CoV 2 fueron también identificadas en un 40-60% de muestras sanguíneas de pacientes recolectadas en un período del 2015 al 2018, lo que correlaciona con la presencia de anticuerpos contra coronavirus estacionales, sugiriendo la presencia de inmunidad cruzada con otras especies (92). Ya se ha estudiado que la respuesta por las células CD4⁺ es un fenómeno importante para el control exitoso de otros coronavirus como SARS y el MERS-CoV (93, 94).

La constante secreción de citocinas proinflamatorias y la persistente replicación viral conllevan a una respuesta linfocitaria inconsistente y alterada. En el estudio publicado por *Wang et al.*, se propone que la respuesta linfocitaria en pacientes con COVID-19 grave inicia con una hiperfunción de las células CD8⁺ al incrementar la producción de IFN- γ , sin embargo, al no poder eliminar el virus las células CD4⁺ se activan con migración hacia la membrana alveolo capilar, y debido a fallas en los inmunoreceptores endógenos inhibitorios, se dan errores en las expresiones de las proteínas HLA-DR (95). Esto finalmente induciría una “segunda oleada” de liberación de citocinas masiva con expresión de genes que favorecen la apoptosis y que se han encontrado en muestras de lavado broncoalveolar, tales como CTSL, CTSB, DDIT4, RRAS, CTSD, BIRC5, TNFSF10, CTSZ, NTRK1, IGFBP3, CCNB1, RRM2, CCNB2, GTSE1, CDK1, STEAP3 y TP53 (96).

Por todos los mecanismos explicados anteriormente, la linfopenia es un hallazgo característico de infección por SARS-CoV 2. En pacientes críticamente enfermos se ha demostrado que la cinética y el conteo de las células T esta inversamente relacionado con los niveles de IL-6 e IL-8 (97, 98). Así mismo, el recuento de linfocitos bajo en la admisión hospitalaria ha sido tomado como predictor de gravedad de la enfermedad con un OR de 2.99 (IC 95%, 1.31-6.82) de acuerdo al reporte de *Zhao et al.*, y hasta un OR 3.70 (IC 95%, 2.44-5.63) con índice de heterogeneidad de 40% en el meta-análisis de *Huang et al.* (99,100). Esta deficiencia linfocitaria esta explicada principalmente por regulación al alza de fenómenos apoptóticos, así como, la destrucción directa de los órganos linfáticos, a probable daño directo por replicación viral, alteraciones en el metabolismo linfocitario por activación

de otras vías metabólicas como la acidosis hiperlactatémica y a la migración al sitio de lesión en las fases iniciales de la enfermedad (18, 96, 101- 103).

6. Manifestaciones clínicas

Basándonos en investigaciones epidemiológicas actuales, se ha estimado que el promedio del período de incubación es de 5 días, y aproximadamente el 97.5% de los individuos que desarrollan síntomas, lo hacen dentro de los primeros 11.5 días de la infección (104, 105). La mediana de intervalo desde el desarrollo de síntomas al ingreso hospitalario es de 7 días (3-9 días) (106). La media de edad de los pacientes hospitalizados varía entre 47 y 73 años, con un mayor predominio de hombres hasta en un 60% (106-108).

La mayoría de los adultos y niños con infección por SARS-CoV 2 presentan síntomas leves similares a un resfriado común o inclusive permanecerán asintomáticos. En cambio, los signos y síntomas más comunes en los pacientes hospitalizados son: fiebre (70%-87.9%), tos seca (60-86%), disnea (53%-80%), fatiga (38%), mialgias (15%-44%), odinofagia (13.9%), cefalea (13.6%), rinorrea (7%), náusea o vómito (5%), congestión nasal (4.8%) y diarrea (3.7%) (105-109). En los últimos meses los trastornos de deglución y del olfato han recibido gran atención. En el estudio de *Giacomelli et al.*, se realizó una pequeña encuesta transversal de 59 pacientes hospitalizados en Italia, el 34% de ellos informaron trastornos de deglución y del olfato en algún momento durante el curso de su enfermedad que generalmente precedió a los síntomas completos (110).

7. SDRA y SARS-CoV 2

Aproximadamente del 17% al 35% de los pacientes hospitalizados con COVID-19 desarrollan enfermedad respiratoria complicada caracterizada por Neumonía grave y desarrollo de SDRA con necesidad de ventilación mecánica invasiva de un 29% a un 91% (8-10, 109, 112). En estas formas graves de la enfermedad se ha reportado una mortalidad de hasta el 81% (7-11).

Los factores de riesgo asociados al desarrollo de SDRA y muerte que se han identificado son: edad avanzada (HR 3.26; IC 95%, 2.08-5.11), neutrofilia (HR 1.14; IC 95%, 1.09-1.19), alteraciones metabólicas como aumento de deshidrogenasa láctica (HR 1.61; IC 95%, 1.44-1.79), elevación de dímero D (HR 1.03; IC 95%, 1.01-1.04) y temperatura $\geq 39^{\circ}\text{C}$ (HR 1.78; IC 95% 1.11-2.84) (112).

Si bien la neumonía grave por COVID-10 cumple con los criterios de Berlín para definir SDRA, existen reportes de que la infección por SARS-CoV 2 tiene algunas características distintas como lo es la hipoxemia grave asociada con una mecánica pulmonar cercana a lo “fisiológico”. Esta combinación casi nunca es observada en otras formas de SDRA. Se ha propuesto que estos patrones de daño dependen de la interacción de tres factores: 1.- Gravedad de la infección, respuesta del anfitrión, reserva fisiológica y comorbilidades; 2.- Respuesta ventilatoria del paciente a la hipoxemia; y 3.- El tiempo de evolución. Algunos investigadores han sugerido clasificar a esta disociación entre la hipoxemia y la distensibilidad en 2 fenotipos: 1.-El fenotipo L caracterizado por una baja elastancia, es decir, distensibilidad conservada o alta ($>40\text{ml/cmH}_2\text{O}$), índice de ventilación/perfusión bajo, un peso pulmonar disminuido y poca capacidad de reclutamiento; 2.- Fenotipo H caracterizado por una elastancia elevada, incremento en los cortocircuitos derecha a izquierda, con una mayor peso pulmonar y gran capacidad de reclutabilidad (113, 114).

a. Fenotipo “L”

Este fenotipo es caracterizado por presentarse como una neumonitis, con una inflamación leve limitada al intersticio subpleural. La distensibilidad conservada, es reflejo de que la cantidad de gas en el pulmón es cercana a lo normal. Este volumen pulmonar normal es generado como compensación a la hipoxemia, con un aumento del volumen minuto, principalmente a expensas del volumen corriente, lo cual se asocia a una presión intratorácica más negativa, y que en evolución avanzada perpetúa la destrucción alveolar y endotelial. La hipoxemia de estos pacientes se explica por una pérdida en la regulación de la perfusión y por pérdida de vasoconstricción hipóxica. Debido a que la mayoría de lesiones son por inflamación y con mínima cantidad de edema el peso total de ambos pulmones es solo moderadamente incrementado (113-115).

b. Fenotipo “H”

La evolución hacia el fenotipo “H” está dada por un aumento de la presión intratorácica y aumento de la permeabilidad pulmonar. A este fenómeno de aumento de presión intratorácica e incremento del impulso respiratorio para satisfacer un volumen minuto se le conoce como “lesión pulmonar autoinfligida”. Las zonas cerradas por el daño pulmonar son temporalmente abiertas y cerradas de nuevo, generando lesiones por cambios de presión y cambios de deformación, mayormente conocido como “fenómeno de Pendelluft”, y que concluye en un aumento de los cortocircuitos derecha a izquierda. Las diferentes fuerzas

generadas por el trabajo muscular causan incremento en la fuga vascular e incremento de la presión vascular pulmonar transmural. Y, por último, otra de las posibles explicaciones para el desarrollo de este fenotipo, son las lesiones inducidas por el ventilador. Con el paso del tiempo el aumento del edema alcanza cierta magnitud con lo cual el volumen de gas en los pulmones se disminuye y la hipoxemia se asocia a valores de distensibilidad $< 40\text{ml/cmH}_2\text{O}$, indicando SDRA grave. Este incremento en el edema alveolar hace que los pulmones sean más pesados y que estos tengan una gran capacidad de reclutamiento (113-115).

El objetivo de esta nueva clasificación es la de brindar mejor entendimiento de la fisiopatología respiratoria de SDRA y por consiguiente identificar nuevas estrategias de tratamiento. Se ha hipotetizado que los pacientes con fenotipo “H” se podrían beneficiar de volúmenes corrientes bajos y niveles de presión positiva al final de la espiración (PEEP); y, por el contrario, los pacientes tipo “L” se beneficiarían de volúmenes corrientes altos y baja PEEP. Aún no existe en la literatura algún ensayo clínico que compare a ambos fenotipos, sin embargo, de acuerdo al análisis retrospectivo de *Bos et al.*, donde se comparó la mecánica pulmonar con hallazgos semicuantitativos por tomografía de pacientes con SDRA por COVID-19, se observó que no existe ninguna relación entre la distensibilidad estática con el tejido pulmonar pobremente aereado o no aereado (coeficiente de regresión lineal $+0.13\%$ por $\text{ml/cmH}_2\text{O}$; IC 95%, -0.17 a $+0.42$, $p=0.39$) concluyendo en que las características de ambos fenotipos no son mutuamente excluyentes (116). Se necesitan más estudios para corroborar la implicación clínica y pronóstica de esta clasificación, así como evidencia que justifique nuevas estrategias de tratamiento.

Independientemente de la etiología del SDRA, las características asociadas a mal pronóstico son: 1.- Variables gasométricas como la relación $\text{PaO}_2:\text{FiO}_2$; 2.- Fisiológicas, como la fracción de espacio muerto; y 3.- Ventilatorias, como la medición de la distensibilidad pulmonar estática y la relación ventilatoria (RV) (117-119). La RV es definida como la ventilación minuto (ml/min) x la presión parcial de dióxido de carbono (PaCO_2) en mmHg / ($\text{Peso corporal predicho} \times 100 \text{ ml/min}$) x 37.5 mmHg , y es un índice sencillo de obtener que refleja el rendimiento y la eficiencia de la ventilación (120, 121). En pacientes con SDRA por COVID-19 se ha encontrado comúnmente la constante hipercapnia con incremento en la RV. Esta medición es un subrogado de la fracción de espacio muerto fisiológico y un incremento en este, refleja ineficiencia del aparato respiratorio para eliminar CO_2 . En la serie de casos publicada por *Liu et al.*, en pacientes con SDRA y COVID-19 fue necesario el

incremento del volumen corriente para mejoría del volumen minuto sugiriendo que una estrategia de bajos volúmenes tidales quizás no sea el mejor abordaje en todos los pacientes con SDRA, particularmente en aquellos con menos afectación en la distensibilidad pulmonar (122).

c. IL-6, SARS-CoV 2 y SDRA

En los últimos años, debido a que las distintas etiologías del SDRA tienen pronósticos diferentes se ha tratado de subclasificar el SDRA con fines de establecer nuevas estrategias de tratamiento. En el 2014 se realizó un análisis de clases latentes (ACL) de dos ensayos clínicos de pacientes con SDRA de distintas etiologías. En dicho estudio se combinó información clínica y biológica de todos los pacientes, concluyendo en la clasificación de acuerdo al estado inflamatorio. El subfenotipo “hiperinflamatorio” fue caracterizado por una mayor inflamación con niveles altos de IL-6, IL8, TNFr1, así como menos días libres de ventilación mecánica, y un incremento en la mortalidad comparado con el fenotipo “hipoinflamatorio” (123). Estos dos subfenotipos han sido evaluados subsecuentemente en análisis independientes de ensayos clínicos y cohortes de SDRA, y el tipo “hiperinflamatorio” persiste con 20% mayor mortalidad que el fenotipo con menos respuesta inflamatoria sistémica (124-126).

El primer estudio prospectivo en identificar la prevalencia de los fenotipos inflamatorios en pacientes con SDRA asociado a COVID-19, fue realizado por *Sinha et al.* En dicho análisis se reclutaron a 39 pacientes que cumplían criterios de Berlín por SDRA y que se corroboró el diagnóstico de infección por SARS-CoV 2. El 25.8% fue catalogado como hiperinflamatorio, con una mortalidad 24% mayor al fenotipo hipoinflamatorio (63 % vs 39%), lo que concuerda con lo publicado previamente en SDRA no relacionado a COVID-19. Sin embargo, a pesar de esta diferencia de mortalidad en ambos grupos, al compararlo con cohortes previas de pacientes con otra etiología de SDRA, la tasa de mortalidad es significativamente mayor independientemente del fenotipo (44% vs 24%). Otro subanálisis de este estudio es que, a pesar de tener mayor mortalidad, se observó que la mediana del APACHE II fué significativamente menor que en otras cohortes de SDRA (12 vs 18, $p>0.0001$), concluyendo finalmente en que debido a la mayor prevalencia del fenotipo hipoinflamatorio con niveles de mortalidad altos, la gravedad de la patogénesis no está asociada a biomarcadores inflamatorios (127). A pesar de ser el primer estudio de su tipo,

presenta la limitación a que el pequeño tamaño de muestra no refleja el suficiente peso estadístico para emitir conclusiones válidas.

Así mismo, en el meta-análisis de *Leisman et al.*, donde se analizaron 37 estudios repartidos en: 15 estudios de COVID-19 grave, 4 de SDRA de distintas etiologías, 4 estudios de sepsis y 4 estudios de Síndrome de liberación de citocinas en el escenario del antígeno de receptor quimérico en terapia con células T (CAR); se observó que la mediana de IL-6 en pacientes con COVID-19 grave fué de 36.7pg/ml (IC 95%, 21.6-62.3pg/ml). En contraste, la mediana de la concentración de IL-6 en pacientes con síndrome de liberación de citocinas inducido por células T fue de casi 100 veces mayor al de los pacientes con COVID-19 (3074pg/ml, IC 95% 325-26735 pg/ml). Resultados similares fueron observados en pacientes con SDRA hiperinflamatorio con niveles de 1558.2 pg/ml (IC 95%, 525.8-4617.6 pg/ml) y de 983.6 pg/ml (550.1-1758.4 pg/ml) en pacientes con sepsis de otras etiologías. Aún en los pacientes con SDRA y fenotipo hipoinflamatorio, la mediana de IL-6 fue de 198.6pg/ml, es decir, 5 veces mayor a la concentración de los pacientes con COVID-19 (diferencia de 162pg/ml). En contraste, en pacientes con COVID-19 se identificaron otros biomarcadores inflamatorios elevados al compararlos con los otros padecimientos, dentro de los que destacan Dímero D, proteína C reactiva y ferritina (128). Esto demuestra que el rol de la elevación de las citocinas en la fisiopatología de pacientes críticamente enfermos con COVID-19 permanece no claro.

8. Complicaciones y SARS-CoV 2

Algunas otras complicaciones de pacientes críticamente enfermos con COVID-19 incluyen alteraciones cardíacas como miocarditis, cardiomiopatía, arritmias ventriculares e inestabilidad hemodinámica (129, 130). La enfermedad cerebrovascular aguda y encefalitis son observadas hasta en un 8% de pacientes en terapia intensiva (131, 132). Se ha reportado que eventos tromboembólicos ocurren de un 10% a un 25% en pacientes hospitalizados, sin embargo, en pacientes críticamente enfermos esta cifra sube hasta de un 31% a 59% (133-135). La tasa de mortalidad de aquellos que desarrollan enfermedad renal aguda con necesidad de terapia de soporte de la función renal asciende de un 26% hasta a un 30.5% (10, 136).

9. Auxiliares de diagnóstico

a. Detección de transcripción reversa de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR)

La RT-PCR obtenida de muestras respiratorias como nasofaringe y orofaringe, y que tienen como objetivo la amplificación genes de la proteína N y ORF1ab, obtenida de muestras respiratorias como nasofaringe y orofaringe, es el estándar de oro para el diagnóstico de infección por SARS-CoV 2. (137,138). La sensibilidad de la prueba varía de acuerdo al día de exposición. En el modelo de estudio propuesto por *Kucirka et al.*, se estimó una sensibilidad de 33% a los 4 días de exposición, 62% en el día de iniciada la sintomatología, y 80% en los 3 días posteriores al primer síntoma (139). La técnica de recolección de las muestras, así como el tipo de espécimen y el tiempo de exposición son factores asociados a falsos negativos. Las muestras de tracto respiratorio inferior tienen mejor rendimiento diagnóstico que las de vías respiratorias superiores. En la cohorte publicado por *Wang et al.*, cerca de 1070 muestras de 205 pacientes fueron recolectadas de distintos especímenes, el lavado broncoalveolar mostró tasas de positividad de hasta 93% contra los exudados nasales con 63%, esputo 72%, cepillado por fibrobroncoscopía en 46% y sangre en 1% (137).

b. SARS-CoV 2 y carga viral

Las mediciones de carga viral de las diferentes muestras son indicativas de una replicación viral activa y rutinariamente se utilizan para dar seguimiento a infecciones respiratorias graves, incluyendo progresión clínica, respuesta a tratamiento, cura y recaídas. En una reciente investigación se evidenció que la carga viral de pacientes asintomáticos fue similar a la de los pacientes con síntomas sin enfermedad grave, lo que sugiere que la carga viral en muestras respiratorias superiores quizás no refleje objetivamente el grado de enfermedad (140). Sin embargo, en la publicación realizada por *Pujadas et al.*, que consistió en una cohorte de 1145 pacientes, se observó que la media de la carga viral en \log_{10} fué de 5.6 copias/ml (SD 3.0) y la mediana de 6.2 copias/ml. En los pacientes que vivieron, la carga viral en \log_{10} , difirió significativamente al compararlos con aquellos que murieron ($n=807$, 5.2 copias/ml [SD 3] vs $n=338$, 6.4 copias/ml [SD 2.7]). En el análisis ajustado por todas las demás variables se evidenció una asociación independiente entre la carga viral y mortalidad con un HR de 1.07 (IC 95%, 1.03-1.11, $p=0.0014$) (141). En algunas series de casos la detección de ARN viral de SARS-CoV 2 en sangre se ha asociado como indicador de gravedad clínica con requerimientos de unidad de cuidados intensivos, siendo los valores de umbrales de ciclo (Ct) significativamente mayores (Ct en sangre de 34) al compararlos contra las muestras de orofaringe (Ct de 25) (142).

El umbral de ciclo (Ct) hace referencia al número de ciclos en un ensayo de RT-PCR necesario para amplificar el ARN viral y así alcanzar un nivel detectable, de tal manera, que a menor valor de Ct corresponde a una mayor carga viral. Esta variable microbiológica ha sido correlacionada con mortalidad, encontrando valores más bajos en múltiples ocasiones durante la hospitalización de pacientes que fallecieron (mediana de 34.79 [IQR 24.46–37.65]; $p < 0.001$) contra los que no fallecieron (mediana de 37.43 [IQR 34.94–38.67]) (143). En cuanto a la infectividad, se ha demostrado en análisis multivariados de regresión logística el efecto del valor de Ct en la positividad de los cultivos de muestras de vías respiratorias superiores con un OR en 0.64 (IC 95%, 0.49-0.84, $p < 0.001$), sugiriendo que por cada unidad que incrementa el Ct, la razón de momios para que el cultivo sea positivo decae un 32% (144). Así mismo, se han observado valores más bajos de Ct en pacientes que progresan a estado crítico durante la hospitalización que aquellos que evolucionaron favorablemente (24 vs 29; $p = 0.008$) (145).

c. IL-6 y carga viral

Como se comentó previamente, existe evidencia de la asociación de la carga viral con peor pronóstico, así como también estudios discrepantes sobre la significancia clínica de los valores de IL-6. En la publicación por *Chen et al.*, se caracterizó la relación de la carga viral en sangre con los niveles de IL-6 y gravedad de la enfermedad. Se incluyeron 48 pacientes con COVID-19 y se observó que la presencia de ARN viral en sangre fue casi exclusiva de los pacientes confirmados como críticamente enfermos. Además, los niveles de IL-6 estaban significativamente elevados en este mismo grupo de pacientes con una mediana de 64pg/ml (25.6-111.9) a comparación de los pacientes con enfermedad leve, mediana de 10.4 pg/ml (3.8-31.0). Al tomar como corte niveles de IL-6 > 100 pg/ml la correlación con la incidencia de carga viral en sangre se observó significancia estadística con un $R = 0.902$ y $p < 0.001$ (146). A pesar de esta evidente correlación, destaca que los valores de IL6 observados en dicho estudio, al compararlos con otros reportes expuestos previamente, los valores son considerablemente menores (128).

d. Imagen y SARS- CoV 2

Debido a las limitaciones en la detección viral en el ámbito clínico como la toma de muestra irregular con fallas en la técnica, errores de laboratorio, material viral insuficiente en los especímenes y a contaminación durante el proceso de las muestras, se han reportado falsos negativos para el diagnóstico de COVID-19. Por este motivo, desde comienzos de la pandemia los hallazgos por imagen han tomado gran importancia (147).

La radiografía de tórax no está recomendada rutinariamente en la práctica clínica por su falta de sensibilidad para la detección de COVID-19 en etapas iniciales. Sin embargo, en lugares con escasos recursos y en aquellos pacientes hospitalizados que no son trasladables a tomografía, puede tener cierta utilidad. Los hallazgos característicos son consolidación y vidrio deslustrado (2, 148).

La tomografía de tórax ha sido sugerida como una alternativa y herramienta valiosa en la detección de COVID-19 en pacientes sintomáticos. Se ha reportado una sensibilidad del 98% al compararla con la RT-PCR (149). En el escenario de una RT-PCR negativa existe evidencia que del 25.6% al 29.4% de los pacientes con RT-PCR negativa y que subsecuentemente positivizaron la prueba, tuvieron anomalías por tomografía de tórax (149,150). A pesar de que la presencia de imágenes por tomografía compatibles con COVID-19 en pacientes con alta sospecha clínica, pero con RT-PCR de inicio negativa, pueda ayudar al diagnóstico de estos pacientes, es importante resaltar que una tomografía de tórax normal no puede excluir el diagnóstico de infección por SARS-CoV 2, especialmente cuando la duración de síntomas ha sido corta (151). Por tal manera, el Colegio Americano de Radiología no recomienda el uso de la tomografía como primer examen para el diagnóstico de COVID-19 (152).

Los hallazgos más comunes por tomografía más comunes son: 1.- Vidrio deslustrado, de distribución periférica o subpleural, presente hasta en un 91% de los casos (153-155). 2.- Consolidación, de tipo multifocal, en parches, o segmentaria, con distribución subpleural o alrededor del área broncovascular, con una ocurrencia del 2 al 64% y asociación de progresión de la enfermedad de hasta 2 semanas de iniciada la sintomatología (151, 156-158). 3.- Patrón reticular con engrosamiento septal irregular y en ocasiones liso, presente de un 59% hasta un 75% de los casos (154,156,159). 4.- Patrón en pavimentación, siendo un reflejo del edema alveolar e inflamación intersticial, presente hasta en un 36% de los pacientes con COVID-19 (151, 157). 5.- Broncograma aéreo, acompañado en ocasiones por

dilatación bronquial con una frecuencia del 21% al 80% de los casos con COVID-19 moderado a grave (154, 160). 6.- Alteraciones en la vía aérea como bronquiectasias o engrosamiento bronquial irregular, presentes hasta en un 20% de los casos (156, 157, 161). 7.- Manifestaciones pleurales, como el engrosamiento pleural en un 32% y derrame pleural reportado en un 5%, ambos sugiriendo peor pronóstico de acuerdo a estudios con el MERS-CoV y otras publicaciones recientes (151, 157, 159). Otros hallazgos menos frecuentemente encontrados en los pacientes con COVID-19 incluyen a la línea subpleural curvilínea (hiperdensidad de 1 a 3mm de grosor distribuida a menos de 1cm paralela a la línea subpleural) hasta en un 20%, alargamiento vascular (descrito como dilatación de los vasos pulmonares alrededor de lesiones en vidrio deslustrado o consolidación), y nódulos que se han reportado de un 3 a un 13% de los casos de distribución multifocal y en ocasiones acompañados por el signo del halo (150, 156-158, 161, 162).

Tomando de base evaluaciones semicuantitativas descritas para caracterizar fibrosis pulmonar idiopática en tomografía, se han creado distintos scores para cuantificar el grado de extensión de la enfermedad (163, 164). Se tiene un antecedente con el SARS-CoV 1 en el 2005 en la publicación de *Chan et al.* Ellos desarrollaron el llamado “CT score”, consistente en evaluar con puntuaciones del 0 al 5 cada uno de los 5 lóbulos, de tal manera que la puntuación es: Score 0: ninguna afección, Score 1: <5% de lóbulo, score 2: 5%-25% de lóbulo, score 3: 26%-49% de lóbulo, score 4: 50%-75% de lóbulo, 5 >75% de lóbulo (165). Esta misma puntuación fue utilizada por *Li et al.*, en la evaluación de pacientes con COVID-19 grave y moderado. En dicho estudio se encontró que, para un corte del score de 7, la sensibilidad y *especificidad* para desarrollo de enfermedad grave fue de 80% y 82.8% respectivamente, con un área bajo la curva de 0.87 (IC 95%, 0.78-0.94; $p < 0.001$) (166). Otra clasificación similar basada en puntuación del 0 a 4 de acuerdo a la afección en cada lóbulo fue descrita también por *Li et al.*, evidenciando un área bajo la curva de 0.918 con una sensibilidad de 82.6% y especificidad de 100% para evaluar COVID-19 grave. Lo relevante de este estudio fue que dicho score tuvo una buena correlación interobservador para dos personas con un ICC de 0.976 (IC 95%, 0.962-0.985) (167).

e. IL-6 y hallazgos tomográficos

Los niveles de IL-6 también se han correlacionado con el volumen de las lesiones pulmonares consideradas pertinentes y expresadas en cm^3 , concluyendo en un r de 0.5001 y valor de p de 0.0030 en pacientes con enfermedad grave por COVID-19 (168). Así mismo,

en la cohorte publicada por *Liu et al.*, donde se analizaron retrospectivamente 728 casos de COVID-19 de moderado a grave, además de reportar en el análisis multivariado de regresión de Cox que la IL-6 >7pg/ml tenía un HR de 10.39 (IC 95% 1.09-99-23, $p < 0.05$) para mortalidad, se observó que la capacidad predictiva de la IL-6 elevada para las puntuaciones de gravedad por CT score fue de un área bajo la curva de 0.778 (169). Sin embargo, a pesar de que estos dos estudios confirman una correlación positiva con el grado de afección por tomografía y niveles de IL-6, siendo el último de adecuada muestra, ambos son de tipo retrospectivo y las mediciones de IL-6 y tomografía de tórax no fueron realizadas el mismo día, lo que resta de poder estadístico al atribuir una asociación causal, además de que no todos los parámetros clínicos y no clínicos estuvieron en los expedientes de todos los pacientes.

10. Tratamiento

a. Bloqueo de la acción de la IL-6

Debido a que hasta el momento no se cuenta con un tratamiento antiviral específico y a que se ha demostrado que la infección por SARS-CoV 2 es un estado hiperinflamatorio, la mayoría de los esfuerzos terapéuticos se han enfocado en el uso de medicamentos inmunosupresores. Uno de los objetivos terapéuticos que se ha estudiado en los últimos meses es el bloqueo de la acción de la IL-6. Dentro de estos fármacos destaca el tocilizumab, que es un anticuerpo monoclonal que bloquea al receptor de IL-6. Esta droga ya ha sido aprobada como tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas como artritis reumatoide, artritis idiopática juvenil, el síndrome de castleman, etc. (170, 171).

El primer estudio importante en que se analizó el efecto de tocilizumab en pacientes críticamente enfermos fue el realizado por *Biran et al.* Dicho estudio fue de tipo retrospectivo y en el análisis multivariable de regresión de Cox se encontró una asociación entre la exposición a tocilizumab y disminución de la mortalidad con un HR de 0.64 (IC 95%, 0.47-0.87, $p= 0.0040$). Al analizar factores asociados a reducción de mortalidad en aquellos pacientes que recibieron tocilizumab, se observó que existía mayor beneficio en aquellos pacientes con una proteína C-reactiva de 15mg/dl, lo que sugiere que el bloqueo de IL-6 tiene mejores efectos en pacientes con un estado hiperinflamatorio. Además, en dicha cohorte no se notó ningún aumento de infecciones nosocomiales (172). Resultados similares fueron publicados por *Guaraldi et al.*, en donde no solo se observó un beneficio en mortalidad en su análisis retrospectivo, sino que también, la exposición a tocilizumab fue asociada con

un riesgo menor de ventilación mecánica invasiva con un HR de 0.61 (IC 95%, 0.40-0.92; $p = 0.020$) (173).

A pesar de que estos estudios evidencian una respuesta favorable al tocilizumab en pacientes con estado hiperinflamatorio, existe controversia por los resultados de un análisis de mayor peso estadístico como el ensayo clínico COVACTA. En este estudio de 243 pacientes, el HR para para ventilación mecánica invasiva o muerte del grupo de tocilizumab comparado con el grupo placebo fué de 0.83 (IC 95%, 0.38-1.81; $p = 0.064$). A los 14 días el 18% del grupo intervenido presentó empeoramiento de la enfermedad contra el 14.9% del grupo placebo, por lo que se concluyó que el tocilizumab no fue eficaz para prevenir intubación o la muerte. Pese a que, estos resultados sean negativos, es de resaltar que la población de estudio tenía infección por SARS-CoV 2 catalogada como moderada excluyendo a los críticamente enfermos. Así mismo, dentro de sus criterios de inclusión destaca la ausencia de valores de IL-6, únicamente incluyendo niveles de proteína C-reactiva $> 50\text{mg/L}$, ferritina $> 500\text{ ng/ml}$, dímero D $> 1000\text{ng/ml}$ o una deshidrogenasa láctica $> 250\text{ U/L}$ (174). De igual manera, en el ensayo clínico TOC-COVID solo se incluyeron pacientes con $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ mayor a 200mmhg , y fue finalizado prematuramente por futilidad en el análisis interino debido a que no existían diferencias con el grupo de tratamiento estándar en los desenlaces primarios que fueron: tiempo hasta el deterioro clínico y tiempo hasta el alta médica (175).

Actualmente se encuentran en curso otros ensayos clínicos que tienen, a diferencia del COVACTA y el TOC-COVID, inclusión para pacientes críticamente enfermos (176, 177). De igual modo, cabe resaltar que el único estudio que tomó en cuenta niveles de IL-6 elevados como criterio de selección, es el ensayo clínico multicéntrico y fase 3 registrado como ChiCTR2000029765, desarrollado en China y que se encuentra actualmente en evolución sin resultados preliminares (178).

Existe otro anticuerpo monoclonal llamado sarilumab que también bloquea al receptor de IL-6. Al momento solo hay registrado un ensayo clínico en el que se incluyeron pacientes con $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 300$ y que tomó en cuenta como inclusión un valor corte de IL-6 $\geq 40\text{pg/ml}$. En los resultados se identificó que a pesar de que la tasa de sobrevida fue numéricamente mayor en el grupo de sarilumab (26/28 pacientes, 93%) que en el grupo de tratamiento convencional (23/28 pacientes, 82%), la diferencia no fué estadísticamente significativa con un HR 0.36 (IC 95%, 0.08- 1.68; $p = 0.21$) (179).

No existe duda de que posterior al bloqueo del receptor de IL-6, los niveles de esta citocina y de biomarcadores inflamatorios como proteína C-reactiva disminuyen considerablemente, sugiriendo mejoría del estado inflamatorio, sin embargo, la evidencia hasta el día hoy no sustenta una mejoría clínica, por lo que se requieren de mejores diseños en los siguientes ensayos clínicos (180).

b. Inactivación de vía JAK/STAT

Teniendo en cuenta las vías de traducción de la IL-6 comentadas previamente, otro blanco terapéutico que ha surgido es la inhibición de la señal de transducción intracelular con la inactivación de JAK/STAT. Esto puede realizarse inhabilitando la vía JAK 1/2 con fármacos como Ruxolitinib. Este medicamento pertenece a la clase de los inhibidores de las Janus-quinasas, y actualmente se utiliza para el tratamiento de neoplasias mieloproliferativas mutadas con JAK2, incluyendo mielofibrosis y policitemia vera (181, 182). Actualmente, solo existe un ensayo clínico publicado en el que se observó disminución de niveles de citocinas, incluida IL- 6, en el grupo con ruxolitinib, así como también una mejoría tomográfica y recuperación más rápida de la linfopenia. Sin embargo, debido a contar con solo 21 pacientes en el grupo experimental y 22 en el grupo de tratamiento estándar, no se pudo realizar un análisis estadístico de importancia en cuanto a mortalidad y uso de ventilación mecánica invasiva (183).

Baricitinib es un inhibidor selectivo de la señalización JAK-STAT, siendo así eficaz en escenarios con niveles elevados de citocinas además de IL-6. También tiene el potencial de inhibir la endocitosis e infección viral de las células (184). Por su administración oral y bajo perfil de efectos secundarios se han diseñado ensayos clínicos de terapia combinada como el ACTT-2, donde se añadió un antiviral como el Remdesivir, y que se encuentra en espera de mostrar resultados preliminares (185)

c. Esteroides y COVID-19

Los corticoesteroides son una clase de hormonas esteroideas con funciones antiinflamatorias. Son comúnmente utilizados como tratamiento de algunas enfermedades autoinmunes como supresores de la inflamación. Durante la epidemia de SARS en el 2003, la administración de esteroides se asoció a menor mortalidad y menos días de hospitalización (186). Sin embargo, en otras cohortes retrospectivas también se les asoció mayores efectos secundarios como infecciones nosocomiales e ingreso a la unidad de cuidados intensivos (187,188).

La primera evidencia que se publicó acerca del posible beneficio de la administración de corticoesteroides fue de un estudio retrospectivo en donde la administración de metilprednisolona redujo el riesgo de muerte con HR de 0.38 (IC 95%, 0.20-0.72; $p=0.003$) (112). El ensayo clínico RECOVERY estableció que una dosis moderada de dexametasona (6mg diarios por 10 días) reduce la mortalidad en pacientes hospitalizados con COVID-19 y falla respiratoria que requieren apoyo de oxígeno suplementario (23.3% vs 26.2%; rate ratio, 0.82; IC 95%, 0.72 a 0.94) o ventilación mecánica invasiva (29.3% vs 41.4%; rate ratio, 0.64; IC 95%, 0.51-0.81). Además, se observó que no existe ningún beneficio de la administración de dexametasona en aquellos pacientes hospitalizados sin requerir ningún tipo de soporte respiratorio (17.8% vs 14 %; rate ratio, 1.19; IC 95%, 0.91-1.55) (189). Estos resultados favorables fueron apoyados por otros ensayos clínicos que terminaron el reclutamiento a principios de junio del 2020 (190-192). El estudio que corroboró el beneficio de los corticoesteroides fué el meta-análisis prospectivo hecho por la OMS publicado a principios de septiembre del 2020. En este estudio se incluyeron todos los ensayos clínicos de pacientes con COVID-19 y administración de distintos corticoesteroides sistémicos. Se observó la reducción de mortalidad a los 28 días con un OR de 0.66 (IC 95%, 0.53-0.82; $p<0.001$) e índice de heterogeneidad de 15.6% en los grupos que recibieron estos medicamentos (193).

5.- JUSTIFICACIÓN

La infección por SARS COV 2, es un problema de salud global, que cursa con una gran mortalidad en los pacientes con falla respiratoria grave. Actualmente no conocemos que biomarcadores puedan ser de utilidad clínica para la predicción de desenlaces mayores como la intubación y muerte en estos pacientes. Existe controversia en la literatura médica sobre la participación de la interleucina 6 en la fisiopatología de esta enfermedad. Nuestra población atendida en el INER, tiene características particulares, que pudieran diferir con respecto a otras poblaciones en los factores de riesgo asociados a peor evolución. El estimar la fuerza de asociación de distintos factores de riesgo asociados a ventilación mecánica invasiva y/o muerte, nos ayudará conocer mejor a la COVID19 y teóricamente, tomar mejores decisiones terapéuticas.

6.- HIPÓTESIS

1. Hipótesis nula

- La Interleucina 6 sérica no está asociada a ventilación mecánica en sujetos con COVID-19 grave.
- La Interleucina 6 sérica no está asociada a muerte en sujetos con COVID-19 grave.

2. Hipótesis alterna.

- La Interleucina 6 sérica está asociada a ventilación mecánica en sujetos con COVID 19 grave.
- La Interleucina 6 sérica está asociada a muerte en pacientes con COVID 19 grave.

7.- OBJETIVOS

- **Objetivo general**

Estimar la fuerza de la asociación de la interleucina 6 sérica como factor predictor de ventilación mecánica invasiva y/o muerte en pacientes con COVID-19 grave.

- **Objetivos secundarios**

- Evaluar la fuerza de asociación de otros factores de riesgo con mortalidad y/o ventilación mecánica en pacientes con COVID-19 grave.
- Estimar la correlación entre la carga viral de SARS-COV2, medida por los Cts, con los niveles séricos de IL-6.
- Estimar la correlación entre la IL-6 sérica con los marcadores inflamatorios de los pacientes con COVID 19 grave como: proteína C reactiva, procalcitonina, ferritina y Dímero D, tomados al ingreso y a las 48 horas de la hospitalización.
- Comparar las características tomográficas mediante análisis semicuantitativos de los pacientes con COVID-19 grave de acuerdo a los desenlaces primarios de intubación y mortalidad.
- Estimar la correlación entre los valores de IL- 6 sérica y los análisis semicuantitativos medidos por tomografía de tórax (CT score, GOH modificado).

8.- MATERIAL Y MÉTODOS

1. Tipo y diseño general del estudio

Estudio de cohorte, de sujetos hospitalizados en el INER por COVID19 grave, seguidos y tratados de acuerdo la normativa Institucional, de acuerdo al momento histórico de la pandemia.

2. Lugar del estudio

El proyecto se realizó en las áreas clínicas para atención de pacientes con COVID-19 del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas”.

3. Descripción de la población de estudio

Se estudiarán pacientes hospitalizados en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias con edad mayor o igual a 15 años con diagnóstico confirmado de infección por SARS-CoV2 mediante RT-PCR de muestras de tracto respiratorio superior e inferior en un período comprendido del 01 de abril del 2020 al 30 de agosto del 2020.

4. Procedimientos del estudio

- a. Extracción de datos en el expediente clínico y electrónico
- b. Recopilación de resultado de pruebas RT-PCR para SARS-CoV 2 y obtención de valores de Ct en la primera muestra de vías respiratorias superiores (exudado nasofaríngeo y orofaríngeo) o inferiores (aspirado bronquial, lavado broncoalveolar) al ingreso del paciente a hospitalización. Los genes evaluados que amplifica la RT-PCR son aquellos que codifican la proteína N y la proteína E virales. Se utilizan 3 kits para la detección: Genefinfer, Da an GENE y Xpert SARS-CoV 2 y el análisis de PCR es en los siguientes equipos: 7500 FAST Applied biosystems, CFX 96 BIORAD y QUANSTUDIO 5 Applied biosystems. Para la extracción de ácidos nucleicos se emplea el kit Qiaamp Viral RNA**.
- c. Recopilación de niveles de IL-6 tomados dentro de las primeras 96 horas de hospitalización de los pacientes, o en su defecto, en las primeras 24 horas de intubación orotraqueal. Las muestras de sangre periféricas se obtuvieron de

todos los participantes como parte de su evaluación en su admisión hospitalaria y formaron parte de otro protocolo de investigación realizado en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas” (196). En dicho estudio se obtuvieron muestras de suero de 13 voluntarios sanos como controles. Los niveles séricos de IL-6 fueron determinados mediante prueba de ELISA con los ensayos Luminex, utilizando la plataforma Luminex Bio-Plex Multiplex 200 (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hércules, CA, EE.UU.) *.

- d. Revisión e interpretación de tomografías de tórax tomadas en las primeras 72 horas de ingreso de cada paciente de manera ciega por experto implementando los siguientes análisis semicuantitativos:
 - i. Índice de GOH modificado. El índice de GOH fué descrito como valor pronóstico en pacientes con enfermedad pulmonar intersticial y esclerosis sistémica (197). Fue validado posteriormente y se correlaciona con pruebas de función respiratoria (198,199). Consiste en dividir la tomografía de tórax de alta resolución en 5 cortes (1.- Origen de los grandes vasos, 2.- Carina principal, 3.- Confluencia venosa pulmonar, 4.- A la mitad del 3er y 5to corte y 5.- Inmediatamente encima del hemidiafragma derecho) para determinar el porcentaje de afección mediante análisis semicuantitativo y posteriormente de esa afección, establecer qué porcentaje es por lesiones en vidrio deslustrado y que porcentajes son en fibrosis. Se realizará adaptación de dicho score, únicamente modificando el porcentaje de afección de fibrosis por porcentaje de afección en consolidación.
 - ii. CT score. Consistente en evaluar con puntuaciones del 0 al 5 cada uno de los 5 lóbulos, de tal manera que la puntuación es: Score 0: ninguna afección, Score 1: <5% de lóbulo, score 2: 5%-25% de lóbulo, score 3: 26%-49% de lóbulo, score 4: 50%-75% de lóbulo, 5 >75% de lóbulo. Puntuación mayor posible es de 25 (165).

*Las muestras para medición de niveles de IL-6 formaron parte de la evaluación bioquímica de los pacientes en la hospitalización y fungieron como variable en otros proyectos de investigación clínicos y no clínicos.

**La toma de muestra de vías respiratorias superiores e inferiores para análisis de RT-PCR para SARS-CoV 2 fue parte de los procedimientos clínicos y microbiológicos de rutina de todo paciente hospitalizado con la firma del consentimiento informado general al ingreso a esta unidad médica.

5. Descripciones operacionales

Desenlaces primarios: Mortalidad durante la hospitalización e inicio de ventilación mecánica invasiva (intubación orotraqueal).

Las variables a analizar se clasificarán de la siguiente manera:

a. Categóricas

- COVID-19 grave: Aquellos pacientes que presenten disnea, frecuencia respiratoria mayor o igual a 30 rpm y/o una saturación de oxígeno menor o igual a 93%, PaO₂/FiO₂ menor de 300mmHg, o infiltrados observados por imagen en más del 50% del área pulmonar dentro de las primeras 24 a 48 horas de iniciados los síntomas (194).
- COVID-19 grave + ventilación mecánica invasiva (VMI): Pacientes con COVID-19 grave y ventilación mecánica invasiva que cumplan criterios de Berlín para Síndrome de distrés respiratorio agudo (195).
- Uso previo al ingreso de antibiótico y esteroide sistémico (no importa días ni dosis)
- Tabaquismo: Presencia de tabaquismo activo
- Esteroides durante la hospitalización: Uso de esteroide sin importar dosis por lo menos 48 horas continuas durante los primeros 5 días de hospitalización.

- Fenotipo “H”: Pacientes con ventilación mecánica invasiva y distensibilidad estática menor a 40 cmH₂O/ml medida en las primeras 12 horas de intubación orotraqueal bajo bloqueo neuromuscular (113,114, 116).
- Fenotipo “L”: Pacientes con ventilación mecánica invasiva y distensibilidad estática mayor o igual a 40 cmH₂O/ml medida en las primeras 12 horas de intubación orotraqueal bajo bloqueo neuromuscular (113,114, 116).
- Pronación: Colocación de pacientes con ventilación mecánica invasiva en prono
- Recuperación de linfocitos: Niveles de linfocitos en los primeros 5 días de hospitalización ≥ 1000 , o en su defecto el 200% del valor más bajo en los primeros 5 días, y que se mantenga por al menos 24 horas.
- Caída de linfocitos: Niveles de linfocitos por debajo de 1000 o menor al 200% del valor más bajo en los primeros 5 días de hospitalización.
- Fiebre (temperatura $\geq 38.3^{\circ}\text{C}$ o temperatura de 38°C sostenida por 1 hora), tos, esputo, disnea, artromialgias, náusea, diarrea, cefalea, hemoptisis (salida de sangre de vías respiratorias ≥ 30 ml por día), ageusia, anosmia y rinorrea.
- Lesión renal aguda: De acuerdo a definición de KDIGO durante su hospitalización (200).
- Uso de terapia de soporte de la función renal: Uso de hemodiálisis durante hospitalización.
- Fiebre durante el seguimiento: Presencia de fiebre dentro de los primeros 5 días de hospitalización.

b. Continuas:

- Bioquímicas: Linfocitos medidos en números totales (registro de los primeros 5 días de hospitalización), PCR en mg/dl (registro de los valores al ingreso y a las 48 horas), procalcitonina en ng/ml (registro de los valores al ingreso y a las 48 horas), ferritina en ng/ml (registro de los valores al ingreso y a las 48 horas) y dímero D en ug/dl (registro de los valores al ingreso y a las 48 horas); así como, lactato en mmol/L, fibrinógeno en mg/dl, Deshidrogenasa láctica en UI/L, Glucosa mg/dl, albúmina en gr/dl, Leucocitos totales, plaquetas y creatinina en mg/dl, todos ellos medidos en la admisión hospitalaria.

- Interleucina 6: Medida en pg/ml con límite de detección hasta 2722.33pg/ml
- Cts (umbrales de ciclo): Valores expresados del 1 al 50, con un corte de 40 para la positividad de la prueba para SARS-CoV 2.
- PaO2/FiO2: Expresado en mmHg (registro de primera gasometría al ingreso)
- Relación ventilatoria (RV): Medida consecutivamente en los primeros 3 días de iniciada la ventilación mecánica invasiva, con lapsos de 24 horas. Se define como la ventilación minuto (ml/min) x la presión parcial de dióxido de carbono (PaCO2) en mmHg / (Peso corporal predicho x 100 ml/min) x 37.5 mmHg (120).
- Distensibilidad pulmonar estática: Expresada en cm/L y medida en las primeras 12 horas de ventilación mecánica invasiva con bloqueo neuromuscular.
- 8 Tomada de primera gasometría al ingreso a hospitalización.
- APACHE II y SOFA al ingreso
- CT score (165)
- Índice de GOH modificado

6. Criterios de selección

- Criterios de inclusión:
 - Edad mayor o igual a 15 años
 - Diagnóstico confirmado de infección por SARS-CoV 2 mediante RT-PCR** (en primera muestra obtenida al ingreso de los pacientes, ya sea de tracto respiratorio superior o inferior).
 - Hospitalización en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias en un período comprendido del 01 de abril del 2020 al 30 de julio del 2020.
- Criterios de exclusión
 - Presencia de las siguientes comorbilidades: Artritis reumatoide, Lupus eritematoso sistémico, Sx antisintetasa, Sx Sjögren, Esclerodermia, Artritis idiopática juvenil, cualquier tipo de vasculitis de origen autoinmune y Enfermedad pulmonar intersticial difusa con rasgos de autoinmunidad.

- Toma de IL-6 mayor a 96 horas de ingreso hospitalario o mayor a 24 horas de intubación orotraqueal.
- Ausencia de tomografía de tórax (simple o tomografía de alta resolución) en las primeras 72 horas desde el ingreso.
- Presencia de coinfección bacteriana/hongos identificada en primeras 72 horas de estancia hospitalaria

7. Análisis Estadístico.

Las variables numéricas se describen utilizando medias \pm DE o medianas con intervalos intercuartilares. Las categóricas con frecuencias y porcentajes. Las pruebas de hipótesis se realizaron con la prueba de t de student o la de rangos sumados de Wilcoxon para las variables numéricas de acuerdo con su distribución, y la prueba exacta de Fisher para las categóricas. La fuerza de asociación se estimó usando la razón de momios con intervalo de confianza al 95%, para las variables categóricas y para las numéricas con el coeficiente de correlación de Pearson o Spearman según corresponda. Para el ajuste a confusor, se elaboraron modelos de regresión logística multivariados, previa evaluación de la presencia de interacciones de las variables seleccionadas. Para la elaboración de dichos modelos, se seleccionaron variables con una $P < 0.10$. Todas las pruebas de hipótesis son a dos colas, con un nivel de alfa de 5%. Todos los análisis se realizaron con Stata/MP 14.0.

9.- CONSIDERACIONES ÉTICAS

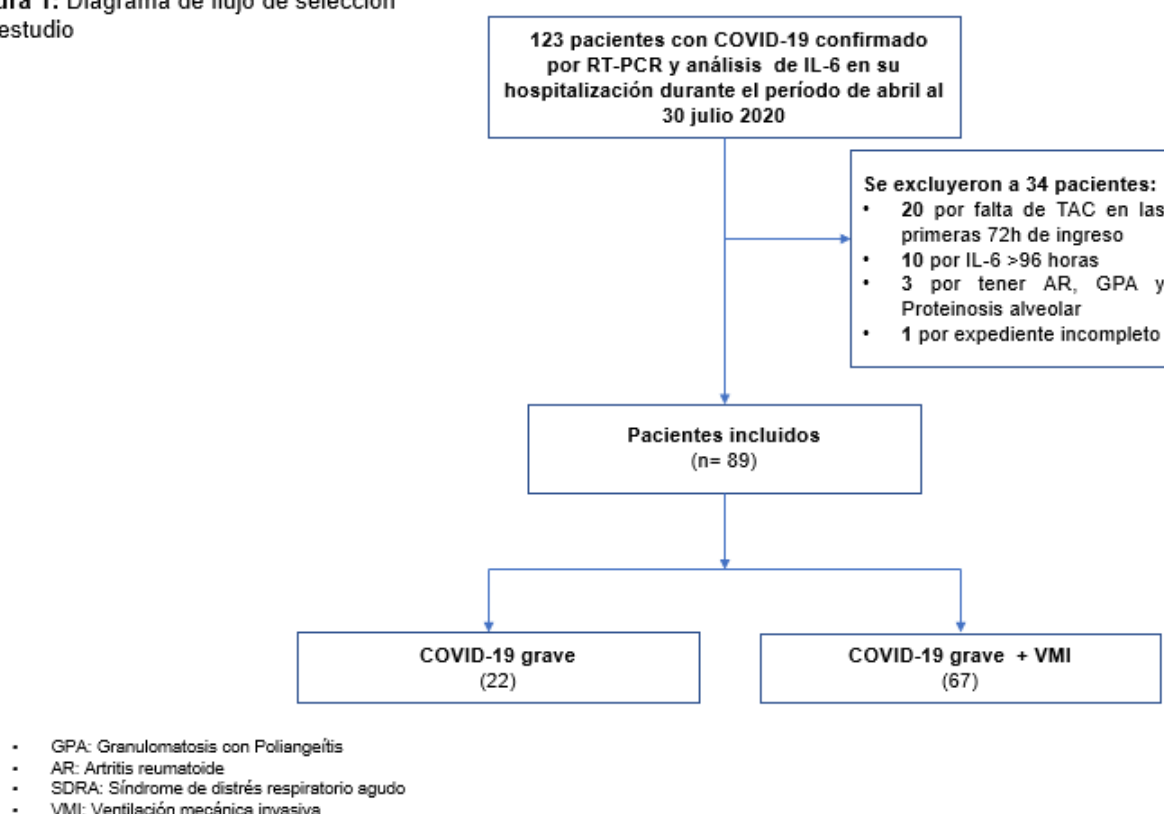
De acuerdo a lo establecido en el Art. 17 del REGLAMENTO de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud se clasifica a este estudio como una investigación sin riesgo.

10.- RESULTADOS

Características generales de los participantes del estudio

En el período comprendido del 01 de abril del 2020 al 30 de julio del mismo año se identificaron 123 pacientes sujetos que eran candidatos a ingresar a este estudio. De estos, se descartaron a 10 pacientes debido a que el análisis de IL-6 fue realizado posterior a las 96 horas de ingreso hospitalario. Posteriormente se excluyeron a 20 pacientes por no contar con tomografía de tórax simple o tomografía axial de alta resolución dentro de las primeras 72 horas de estancia hospitalaria. Se excluyeron a 3 pacientes por contar con diagnósticos previos de Artritis reumatoide, Granulomatosis con Poliangeítis (GPA) y Proteinosis alveolar con componente de autoinmunidad. Además, se eliminó a un paciente por contar con menos del 50% del expediente clínico y electrónico. Después de la exclusión de estos pacientes, finalmente se analizaron a 89 sujetos. La **Figura 1** muestra el diagrama de flujo del estudio.

Figura 1: Diagrama de flujo de selección del estudio



Características de la población por gravedad de la falla respiratoria

Las características de la población se describen la **Tabla 1**. Además, se comparan las diferencias entre los sujetos que requirieron VMI con los que no. Los pacientes que requirieron VMI tenían una tendencia a mayor edad (P: 0.06). Llama la atención la diferencia en la presencia de fiebre durante el seguimiento con una frecuencia de hasta el 97% en aquellos pacientes del grupo con COVID-19 grave y VMI. Así mismo, existieron diferencias en la frecuencia de hipertensión arterial (P: 0.03), frecuencia cardíaca (P: 0.045), frecuencia respiratoria (P:0.0001), niveles de leucocitos (P: 0.0009), creatinina (P:0.04) y albúmina (P: 0.01). Veinte sujetos fallecieron (22%), todos ellos pertenecientes al grupo de COVID-19 grave + VMI para una mortalidad del 30% en ese tipo de pacientes.

Tabla 1. Características de la población por gravedad de la falla respiratoria

Variables	Todos los pacientes (89)	COVID 19 grave (22)	COVID 19 grave + VMI (67)	Valor de p
Demográficas				
Edad (años)	53 (±13.2)	48.5 (±17.3)	54.4 (±11.42)	0.06
Género masculino	62 (70%)	18 (82%)	44 (66 %)	0.15
IMC	28.5 (26.2-32)	28 (26.2-30.7)	29 (26.2-32.4)	0.68
Comorbilidades				
Diabetes tipo 2	21 (23%)	2 (9 %)	19 (28%)	0.92
Hipertensión arterial sistémica	23 (26%)	2 (9%)	21 (31%)	0.03
Sobrepeso	42 (47%)	11 (50%)	31 (46%)	0.76
Obesidad	35 (39%)	9 (41%)	26 (39%)	0.86
Evolución pre-ingreso (días)	9 (7-12)	9.5 (7-15)	9 (7-11)	0.30
Antibiótico previo	66 (74%)	17 (77%)	49 (73%)	0.70
Esteroides previo	19 (21%)	4 (18%)	15 (22%)	0.67
Síntomas clínicos				
Fiebre	81 (91%)	20 (91%)	61 (91%)	0.98
Tos	70 (79%)	20 (91%)	50 (75%)	0.10
Artromialgias	77 (86%)	18 (82%)	59 (88%)	0.45
Disnea	85 (95%)	22 (100%)	63 (94%)	0.24
Odinofagia	38 (43%)	14 (64%)	24 (36%)	0.02
Espujo	14 (16%)	4 (18%)	10 (15%)	0.71
Hemoptisis	2 (2%)	0 (0%)	2 (3%)	0.41
diarrea	20 (22%)	5 (23%)	15 (22%)	0.97
Anosmia	7 (8%)	4 (18%)	3 (5%)	0.03
Ageusia	5 (6%)	4 (18%)	1 (1.5%)	0.003
Fiebre	81 (91%)	20 (91%)	61 (91%)	0.98
Rinorrea	16 (18%)	5 (23%)	11 (16%)	0.50
Cefalea	41 (46%)	11(50%)	30(45%)	0.67
Fiebre durante el seguimiento (días)	75 (84%)	10 (45%)	65 (97%)	0.000
Signos clínicos al ingreso				
Frecuencia cardíaca	108 (±14.1)	100 (±13.8)	107 (±13.8)	0.045
PAM (mmHg)	85 (76-92)	87 (80-95)	85 (75-92)	0.375
Frecuencia respiratoria	29.5 (25-35.5)	25 (24-28)	30 (27-38)	0.0001
Exámenes de laboratorio al ingreso				
Leucocitos	10,000 (7,000-11,900)	6,850 (6,300-9,600)	10,500 (8,200-13,100)	0.0009
Linfocitos	800 (600-1,100)	850 (700-1,200)	800 (600-1,100)	0.444
Plaquetas (x10 ³)	229 (183-328)	214 (188-214)	244 (177-345)	0.41
Creatinina (mg/dl)	0.84 (0.7-1.14)	0.74 (0.65-0.88)	0.85 (0.71-1.26)	0.04
Glucosa (mg/dl)	133 (105-186)	117.5 (88-194)	138 (110-186)	0.20
Albúmina (gr/dl)	3.33 (2.98-3.69)	3.59 (3.16-3.89)	3.26 (2.9-3.6)	0.01
Biomarcadores inflamatorios				
Lactato	1.3 (1-1.8)	1 (0.9-1.3)	1.5 (1-1.9)	0.01
Proteína C-reactiva (mg/dl)	19.4 (±10.2)	12.4 (±7.5)	21.8 (±10.5)	0.0003

Proteína C-reactiva 48 hrs (mg/dl)	16.5 (±10.9)	8.2 (± 7.3)	19.2 (±10.6)	0.0003
Ferritina (ng/ml)	888 (472-1633)	718 (429-1378)	909 (472-1670)	0.32
Ferritina 48 hrs (ng/ml)	842 (425-1342)	680 (490-916)	851.3 (372.5-1458)	0.39
DHL (UI/L)	493 (376-639)	391 (334-443)	524 (403-685)	0.0003
Procalcitonina (ng/ml)	0.145 (0.08-0.48)	0.06 (0.05-0.08)	0.22 (0.11-0.53)	0.000
Procalcitonina 48 hrs (ng/ml)	0.265 (0.08-0.905)	0.05 (0.03-0.16)	0.38 (±0.15-1.17)	0.000
Dímero D (ug/dl)	730 (370-1580)	370 (200-1050)	770 (440-2140)	0.005
Dímero D 48 hrs (ug/dl)	860 (410-2140)	510 (280-550)	1080 (525-2350)	0.002
Fibrinógeno (mg/dl)	711.5 (± 218.8)	697 (±149)	722 (±236)	0.65
IL- 6 (pg/ml)	267.3 (59.11-1182.8)	70.71 (39.6-131.99)	580.03 (125.77-2654.13)	0.0005
Recuperación de linfocitos	54 (60%)	19 (86%)	35 (52%)	0.004
Caída de linfocitos	69 (77%)	12 (54%)	57 (85%)	0.003
Cts (Umbral de ciclo de RT-PCR)	28 (±5.8)	29.33 (±6.6)	27.5 (±5.4)	0.20
Características tomográficas				
CT score	20 (±3.9)	15 (±2.9)	20.6(±3.2)	0.000
Extensión de la afección en TCT Acorde a score de GOH modificado (%)	64 (48-80)	42 (38-50)	74(54-82)	0.000
Vidrio deslustrado (%)	64 (52-81.2)	64.5 (54.8-85)	64 (51-78)	0.32
Consolidación (%)	36 (20-48)	35.5 (15-45.2)	36 (22-49)	0.35
Complicaciones				
Lesión renal aguda	42 (47%)	0 (0%)	42 (63%)	0.000
Hemodiálisis	12 (13%)	0 (0%)	12 (18%)	0.033
Esteroides durante hospitalización	40 (45%)	2 (9%)	38 (57%)	0.000
Mortalidad	20 (22%)	0 (0%)	20 (30%)	0.000

TCT: Tomografía computarizada de tórax

Los sujetos con VMI tuvieron hasta 8 veces los niveles de IL-6 (P:0.0005) comparados con aquellos que solo tuvieron COVID-19 grave (**Figura 2**). Además, los niveles de Lactato, PCR, PCR 48 horas, DHL, Procalcitonina, Procalcitonina 48 horas, Dímero D y Dímero D a las 48 horas fue significativamente mayor en los pacientes con COVID-19 grave y VMI. Los niveles de IL-6 tuvieron un área bajo la curva de 0.74 para predecir intubación, y se estableció el valor corte de 282 pg/ml para una Sensibilidad del 59.7% y Especificidad de 86.3%. El área bajo la curva de los demás biomarcadores oscilo entre 0.6 y 0.9 (Lactato 0.70; PCR 0.77; PCR 48 horas 0.80; DHL 0.75; Procalcitonina 0.86; Procalcitonina 48 horas 0.83; Dímero D 0.69; y Dímero D 48 horas en 0.74).

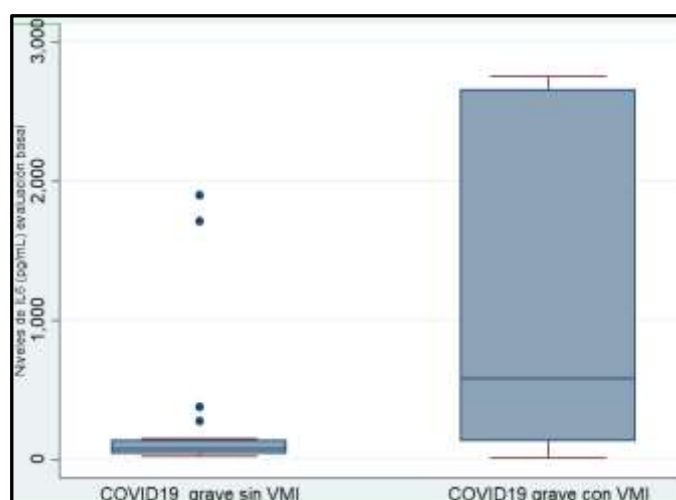


Figura 2.- Niveles de IL-6 por gravedad de falla respiratoria

El 86% de los pacientes sin ventilación mecánica invasiva tuvo recuperación de linfocitos en los primeros 5 días y el 85% de aquellos con intubación orotraqueal tuvieron una caída en el recuento linfocitario en las primeras 120 horas. A pesar de que el promedio de los Cts en el grupo con ventilación mecánica fue menor, no existió significancia estadística en ambos grupos. Ningún paciente con COVID-19 grave sin VMI presentó lesión renal aguda y más del 50% de los pacientes con COVID-19 grave + VMI recibieron esteroide durante su estancia intrahospitalaria (57%). Para la afección por tomografía (**Figura 3 y Figura 4**) se resalta que los pacientes con COVID-19 grave y ventilación mecánica tuvieron mayores puntajes de CT score (P: 0.000) con un área bajo la curva de 0.90, siendo el mejor valor corte de 20 con Sensibilidad de 65.6% y Especificidad de 95.4%, y mayor porcentaje de afección (Índice de GOH) (P:000), con área bajo la curva de 0.89 con un valor corte del 60% para una Sensibilidad del 68.6% y Especificidad de 95.4%. Sin embargo, al momento de dividir por tipo de afección (vidrio deslustrado o consolidación), no se demostró diferencia. En la **Figura 5** se ejemplifica el análisis semicuantitativo por tomografía de un paciente con COVID-19 grave y ventilación mecánica invasiva.

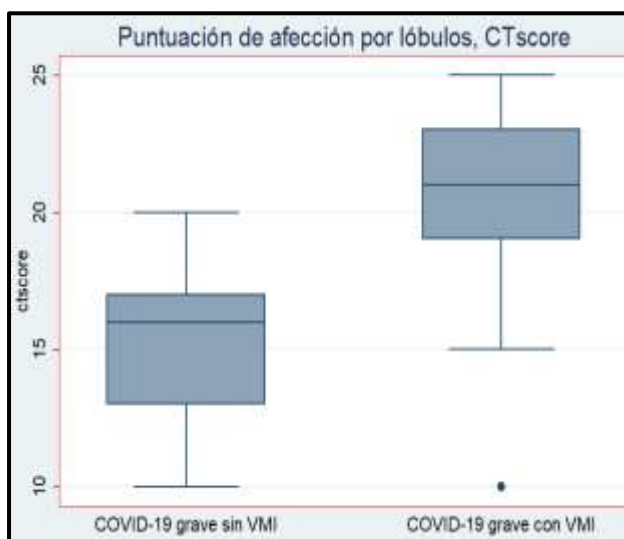


Figura 3.- CTscore por ventilación mecánica invasiva

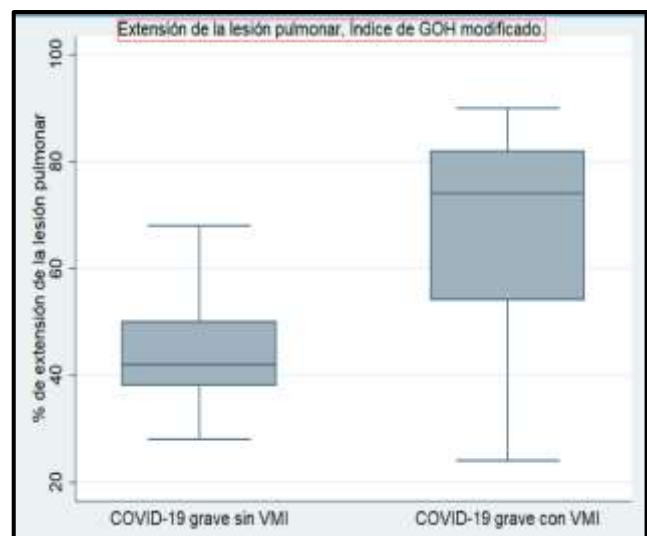


Figura 4.- Índice de GOH modificado por ventilación mecánica invasiva

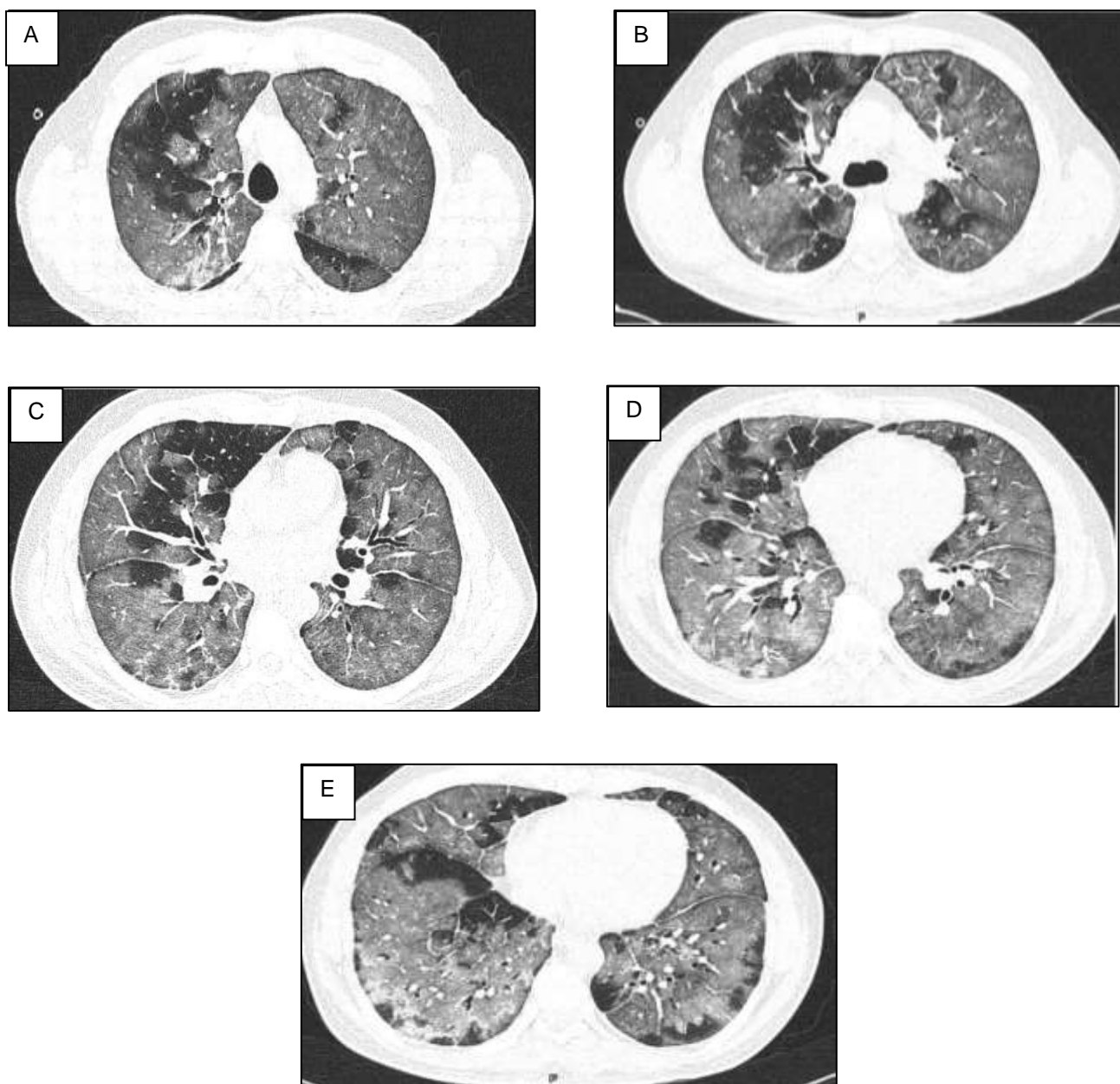


Figura 5: Análisis semicuantitativo de tomografía de tórax utilizando el CT score y GOH modificado. Masculino de 53 años de edad con COVID-19 grave y SDRA. Puntuación de CT score de 23, GOH modificado de 85% de afectación con un 78% de lesión en vidrio deslustrado y un 22% en consolidación. A) Corte 1: origen de los grandes vasos; B) Corte 2: carina principal; C) Corte 3: confluencia venosa pulmonar; D) Corte 4: a la mitad del 3er y 4to corte; E) Corte 5: Inmediatamente superior a hemidiafragma derecho.

En el análisis de regresión logística multivariada se incluyeron variables con P menor a 10% y factibles. Se eliminaron variables con riesgo alto de colinealidad y se observó que la IL-6 $\geq 282\text{pg/ml}$ (P:0.02) y el porcentaje de afectación en tomografía por Índice de GOH $\geq 60\%$ (P:0.005) pueden usarse como factores independientes para ventilación mecánica invasiva con razón de momios ajustada de 10.8 (1.56-75.4) y 38.8 (2.98-505) respectivamente (**Tabla 2.**). La curva ROC (AUROC 0.9588) de este modelo se presenta en la **Figura 6.**

Tabla 2. Factores asociados a presencia ventilación mecánica invasiva. Se presenta el análisis univariado y un modelo multivariado ajustado a confusor de las variables, en el modelo se incluyeron a Fiebre dentro de los primeros 5 días desde el ingreso, Frecuencia respiratoria al ingreso, IL-6 \geq 282 pg/ml y % de afección \geq 60% por Índice de GOH modificado.

Variable	ORc (IC 95%) P	ORa (IC 95%) P
Hipertensión arterial sistémica	4 (0.97 – 21.3) 0.054	
Días de evolución antes de acudir a urgencias	0.91 (0.8 -1.002) 0.05	
Fiebre dentro de los primeros 5 días desde el ingreso.	38.99 (7.57 – 200) 0.000	37.63 (2.61-542) 0.008
Frecuencia respiratoria	1.24 (1.08-1.41) 0.002	1.13 (0.97 – 1.33) 0.10
Leucocitos	1.0002 (1.00004-1.0004) 0.02	
Creatinina	7.15 (1.09-46.9) 0.04	
Albúmina	0.46 (0.2 – 1.04) 0.06	
PCR	1.10 (1.04 – 1.17) 0.001	
PCR 48hrs	1.14 (1.05 – 1.24) 0.002	
PCR \geq 20mg/dl	4.77 (1.65 – 13.8) 0.004	
DHL	1.006 (1.002-1.01) 0.002	
Procalcitonina	234.5 (2.49-21998.7) 0.02	
Procalcitonina 48 hrs	16.4 (1.37-196.5) 0.03	
Procalcitonina \geq 0.21 ng/ml	10.93 (2.3 – 50.5) 0.02	
IL-6	1.01 (1.0002-1.002) 0.01	
IL-6 \geq 282pg/ml	9.38 (2.52 – 34.83) 0.001	10.8 (1.56-75.4) 0.02
Recuperación de las cifras de linfocitos dentro de los primeros cinco días desde el ingreso hospitalario	0.17 (0.04 – 0.63) 0.009	
CT score $>$ 20	40.17 (5.07-317) 0.0001	
GOH modificado \geq 60%	48.6 (5.79 – 365.069) 0.0001	38.8 (2.98-505) 0.005

ORc: Razón de momios cruda

ORa: Razón de momios ajustada

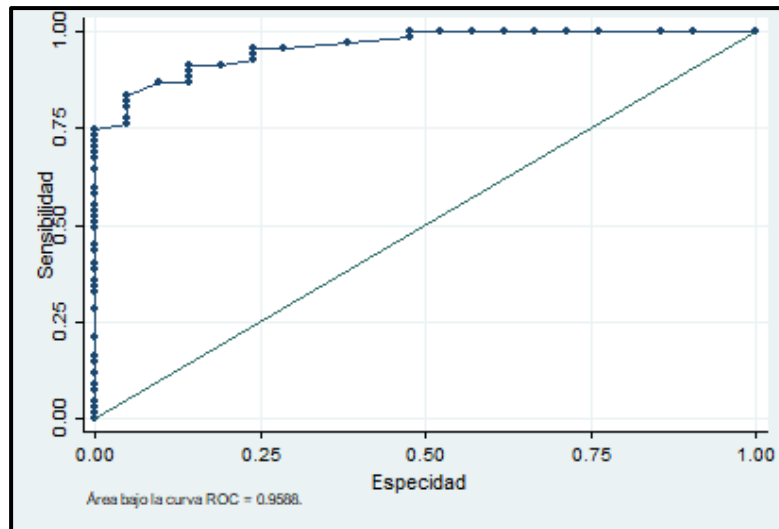


Figura 6. Curva ROC de modelo de regresión logística multivariado. Se presenta un área bajo la curva de 0.9588 para ventilación mecánica invasiva. Ajustado a Fiebre dentro de los primeros 5 días de hospitalización, Frecuencia respiratoria al ingreso, IL-6 ≥ 282 pg/ml y % de afección $\geq 60\%$ por Índice de GOH modificado.

Correlación de biomarcadores inflamatorios, carga viral por Cts y tomografía con IL-6.

Las variables que correlacionaron con los niveles de IL-6 se resumen en la **Tabla 3**. Dentro de los biomarcadores inflamatorios destaca la PCR 48 hrs con una fuerte correlación ($\rho = 0.67$, $P: 0.000$), así como también a Procalcitonina a las 48 hrs ($\rho = 0.51$, $P: 0.000$), Procalcitonina de ingreso ($\rho = 0.43$, $P: 0.000$). El porcentaje de afección medido por índice de GOH modificado y CT score tuvieron una correlación débil, y la medición de la carga viral medida por Cts no obtuvo significancia estadística.

Tabla 3. Análisis de la correlación entre la IL-6 sérica con biomarcadores inflamatorios, tomografía y la carga viral medida por Cts.

Variables	Coefficiente de correlación Rho Spearman	Valor de P
Leucocitos	0.27	0.008
PCR	0.22	0.041
PCR 48 horas	0.67	0.000
Ferritina	0.27	0.014
Ferritina 48 horas	0.39	0.0013
Procalcitonina	0.4335	0.000
Procalcitonina 48 horas	0.51	0.000
Dímero D ingreso	0.09	0.36
Dímero D 48 horas	0.337	0.0027
CTs ingreso.	- 0.19	0.06
Lactato ingreso	0.25	0.03
CT score	0.34	0.001
Índice de GOH modificado	0.32	0.0022
% vidrio	-0.20	0.05
% Consolidación	0.19	0.06
Linfocitos	0.01	0.86
Distensibilidad pulmonar estática	-0.09	0.43
PaO2/FiO2	-0.23	0.02

Variables asociadas a mortalidad en pacientes con COVID-19 grave y Ventilación mecánica invasiva

En la **Tabla 4.** se resumen las diferencias de los sujetos sobrevivientes y muertos. Las variables categóricas que mostraron mayor diferencia en ambos grupos fueron: edad (P:0.06), corticoesteroide previo (P:0.043), recuperación de linfocitos (P:0.000), hipertensión arterial sistémica (P:0.005), fiebre durante el seguimiento (P: 0.028) y caída de linfocitos (P:0.03). Los biomarcadores inflamatorios con mejor diferencia estadística y área bajo la curva fueron: IL-6 (P:0.01, AUROC:0.67), procalcitonina (P: 0.01, AUROC: 0.69) y la procalcitonina 48 horas (P: 0.0004, AUROC: 0.81). Se estableció el punto de corte de 2,100 pg/ml para IL-6 con una Sensibilidad de 40% y Especificidad de 84.06%, así como un valor de corte de 0.27 ng/ml para procalcitonina 48hrs con Sensibilidad 85.7% y Especificidad de 59.2%.

Tabla 4. Principales variables asociadas a mortalidad en pacientes con COVID-19 grave + VMI

Variables	Sobrevivientes (69)	Muertos (20)	Valor de p
<i>Demográficas</i>			
Género masculino	46 (67%)	16 (80%)	0.25
Edad	51.5 (±13.7)	58 (±10.5)	0.06
<i>Comorbilidades</i>			
Hipertensión arterial sistémica	13 (19%)	10 (50%)	0.005
<i>Corticoesteroide previo</i>	18 (26%)	1 (5%)	0.043
<i>Evolución pre-ingreso (días)</i>	10 (7-13)	7 (5-9)	0.004
<i>Esteroides durante hospitalización</i>	30 (44%)	10 (50%)	0.60
<i>Fiebre durante el seguimiento</i>	55 (80%)	20 (100%)	0.028
<i>Caída de linfocitos</i>	50 (72%)	19 (95%)	0.033
<i>Recuperación de linfocitos</i>	53(77%)	1 (5%)	0.000
<i>Biomarcadores inflamatorios</i>			
Proteína C-reactiva (mg/dl)	18.2 (±9.3)	23.4 (±13.4)	0.05
Proteína C-reactiva 48 hrs (mg/dl)	15.3 (±10.3)	21.6 (±12.4)	0.06
Procalcitonina (ng/ml)	0.13 (0.07-0.31)	0.39 (0.1-0.82)	0.01
Procalcitonina 48 hrs (ng/ml)	0.17 (0.06-0.54)	1.3 (0.35-3.21)	0.0004
IL- 6 (pg/ml)	217.7 (49.1-1010.7)	707 (186.4-2711.1)	0.01
<i>Características tomográficas</i>			
CT score	18.7 (±4)	21.2 (±2.9)	0.012
Extensión de la afección en TCT Acorde a score de GOH modificado (%)	56 (RIC 46-76)	80 (RIC 68-83)	0.0041
Vidrio (%)	65.4 (RIC 53-83)	61.5 (47-77.5)	0.347
Consolidación (%)	34.6 (RIC 19-47)	38.5 (RIC 22.5-53)	0.368
<i>Cts (Umbral de ciclo de RT-PCR)</i>	28.5 (± 5.8)	26 (±5.39)	0.094
<i>Variables ventilatorias</i>			
Ventilación mecánica	47 (68%)	20 (100%)	0.004
Prono	11 (24%)	10 (50%)	0.042
Tipo H	30 (64%)	15 (75%)	0.373
Tipo L	17(36%)	5 (26.3%)	0.442
Distensibilidad pulmonar estática	34.2 (±10.2)	33.4 (±8.8)	0.75
PaO2/FiO2	140 (RIC 110-232)	110 (RIC 81-180)	0.029

RV (24 hr)	1.84 (RIC 1.6-2.6)	2.14 (RIC 1.64-2.93)	0.46
RV (72hr)	1.76(RIC 1.52-2.22)	2.53 (RIC 2-3.01)	0.003
Escalas			
APACHE II	10 (\pm 4.1)	13.7 (\pm 4.9)	0.0013
SOFA	3 (RIC 2-3)	4 (2-5)	0.0092
Complicaciones			
Lesión renal aguda	24 (35%)	18 (90%)	0.000
Hemodiálisis	4 (6%)	8 (40%)	0.000

TCT: Tomografía computada de tórax

RV: Relación ventilatoria

El análisis tomográfico que mostró mayor diferencia en ambos grupos fue el índice de GOH modificado (AUROC: 0.71), por lo que se estableció el punto de corte de 72% con Sensibilidad de 75% y Especificidad de 66.7%. En las variables ventilatorias se destaca la RV (**Figura 7**) medida a las 72 horas (P: 0.003) con AUROC de 0.74 (Corte de 2 con Sensibilidad de 76.4% y Especificidad de 62.8%). El 90% de los pacientes que murieron tuvieron lesión renal aguda durante su hospitalización (P: 0.000), de estos, el 44% requirió hemodiálisis (P: 0.000) siendo el 40% de todos los pacientes que murieron. Finalmente, el APACHE II (P: 0.0013) tuvo más diferencia estadística comparado con el SOFA (P:0.009) medidos a la admisión hospitalaria.

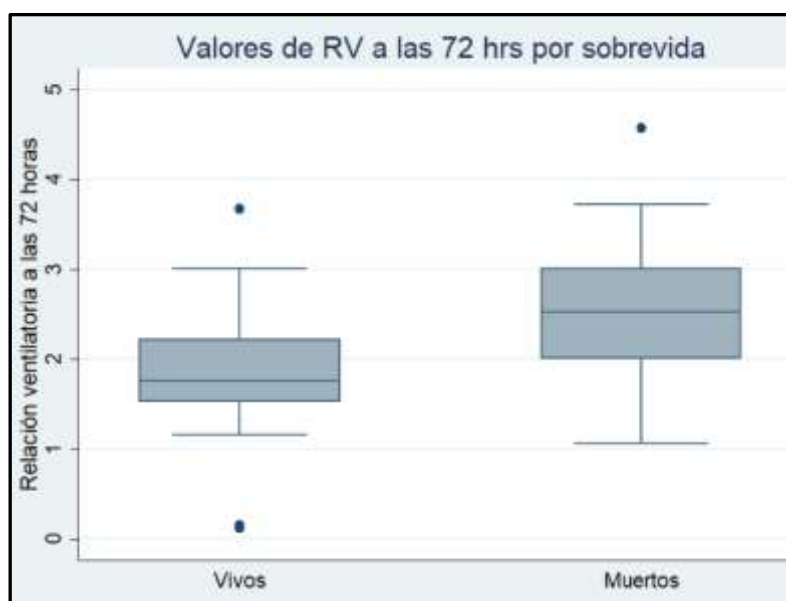


Figura 7. Valores de Relación Ventilatoria medida a las 72 horas de los pacientes con ventilación mecánica invasiva en relación a mortalidad

En el análisis de regresión univariada para el desenlace de mortalidad (**Tabla 5**), las variables que más se asociaron fueron la recuperación de linfocitos dentro de los primeros 5 días desde el ingreso hospitalario como un factor protector con un ORc de 0.015 (0.001 – 0.12, P: 0.000), Hipertensión arterial sistémica con ORc de 4.3 (1.48 – 12.48, P:0.007), Índice de GOH modificado $\geq 70\%$, una Relación Ventilatoria a las 72 horas con OR de 3.74 (1.49-9.37, P:0.005), APACHE II al ingreso ORc 1.2 (1.06-1.36, P:0.003) y la presencia de lesión renal aguda durante la hospitalización con un ORc de 16.8 (3.6-78.9, P:0.000). Para un valor corte de IL-6 $\geq 2,100$ pg/ml se observó un ORc de 3.5 (1.16 – 10.58, P: 0.02) y para un corte de ≥ 0.27 ng/ml de procalcitonina un ORc de 2.37 (1.21-6.64, P:0.01). Sin embargo, a pesar de estos valores de ambos biomarcadores, en el análisis de regresión logística multivariado (**Tabla 5**) donde se incluyeron a la recuperación de linfocitos y lesión renal aguda para ajuste de confusor, la IL-6 $\geq 2,100$ pg/ml resultó no estadísticamente significativa con una razón de momios ajustada de 2.12 (0.38-11.78, P:0.38), así como también para la procalcitonina de 48 horas ≥ 0.27 ng/ml con una razón de momios ajustada de 1.46 (0.18-11.7, P:0.36). La curva ROC construida para este modelo de regresión logística multivariada se expone en la **Figura 8**.

Tabla 5. Análisis de factores asociados a mortalidad. Se presenta el análisis univariado y un modelo multivariado ajustado a confusor de las variables, en el modelo se incluyeron a recuperación de linfocitos dentro de los primeros cinco días de hospitalización, Procalcitonina ≥ 0.27 ng/ml, IL-6 $\geq 2,100$ pg/ml y a lesión renal aguda durante la hospitalización.

Variable	ORc (IC 95%) P	ORa (IC 95%) P
Hipertensión arterial sistémica	4.3 (1.48 – 12.48) 0.007	
Días de evolución antes de acudir a urgencias	0.84 (0.73 – 0.98) 0.02	
Recuperación de las cifras de linfocitos dentro de los primeros cinco días desde el ingreso hospitalario	0.015 (0.001 – 0.12) 0.000	0.09 (0.002 – 0.19) 0.001
Procalcitonina	1.69 (0.92 – 3.07) 0.085	
Procalcitonina 48 hrs.	2.37 (1.21 – 4.64) 0.01	
Procalcitonina 48 hrs ≥ 0.27 ng/ml	2.37 (1.21 – 4.64) 0.01	1.46 (0.18 – 11.7) 0.36
IL-6	1.0004 (1 – 1.0009) 0.03	
IL-6 $\geq 2,100$ pg/ml	3.5 (1.16 – 10.58) 0.02	2.12 (0.38 – 11.78) 0.38
PCR 48 hrs	1.05 (0.99 – 1.11)	

	0.07	
PCR 48 hrs \geq 30mg/dl	3.42 (1.22 – 9.6)	
	0.02	
GOH modificado	1.04 (1.01 – 1.08)	
	0.005	
GOH modificado \geq 70%	4.9 (1.61 – 12.25)	
	0.005	
RV a las 72 horas	3.74 (1.49 – 9.37)	
	0.005	
APACHE II	1.2 (1.06 – 1.36)	
	0.003	
SOFA	1.34 (1.05 – 1.72)	
	0.02	
Lesión renal aguda durante hospitalización	16.8 (3.6 – 78.9)	16.4 (2.53 – 106.42)
	0.000	0.003

P: Valor de P

IC: Intervalo de confianza

ORc: Razón de momios cruda

ORa: Razón de momios ajustada

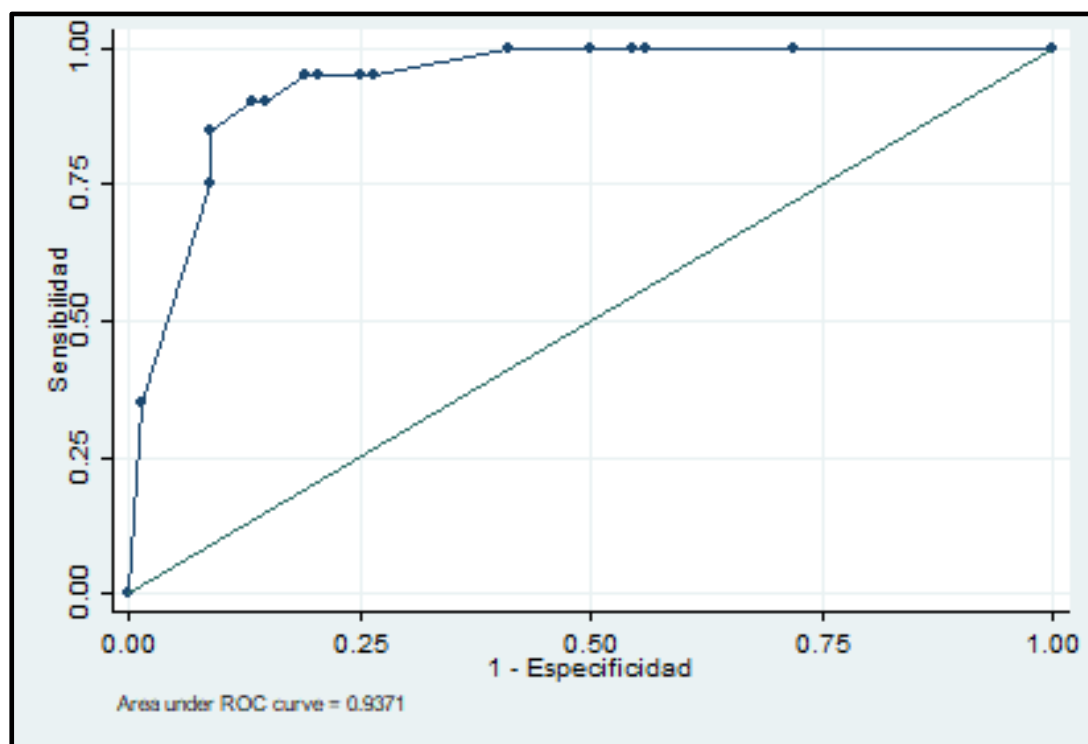


Figura 8. Curva ROC de análisis de regresión logística multivariada ajustada a confusor con un AUROC: **0.9371** para el desenlace de mortalidad. En el modelo se incluyeron las siguientes variables: Recuperación de linfocitos dentro de los primeros 5 días de hospitalización, Procalcitonina \geq 0.27ng/ml, IL-6 \geq 2,100pg/ml y a lesión renal aguda durante la hospitalización.

11.- DISCUSIÓN

Con base en los estudios previos sobre la fisiopatología de otros coronavirus como el SARS-CoV 1 y el MERS se ha estipulado que la respuesta inflamatoria juega un rol importante en la COVID-19, y que un incremento en biomarcadores como citocinas proinflamatorias es crucial en la progresión a formas más graves de la enfermedad (77-79, 83). La IL-6 es una citocina plurifuncional que tiene efectos proinflamatorios como antiinflamatorios (59,62, 68-70). En ausencia de tratamiento antiviral específico para COVID-19, la mayoría de los esfuerzos terapéuticos se han enfocado en tratar el estado hiperinflamatorio, uno de los objetivos ha sido el bloqueo de la acción de IL-6. Si embargo, desde inicios de la pandemia ha existido controversia sobre el papel de esta citocina en la fisiopatología de la infección por SARS-CoV 2. Se ha demostrado que los niveles séricos de IL-6 se encuentran elevados en el contexto de mayor gravedad de COVID-19 (21, 83, 84, 97, 112, 169, 201). Sin embargo, al compararse con otras entidades con similar fisiopatología y presentación clínica, el valor de IL-6 es considerablemente menor, lo que ha llevado a la hipótesis nula de que la infección por SARS-CoV 2 es caracterizada por niveles más bajos de respuestas de citocinas séricas (22, 128). Aunque algunos estudios han indicado que el aumento de IL-6 sérica es potencialmente asociado con una mayor probabilidad de gravedad y mortalidad en COVID-19, estos carecen de poder estadístico ya que no se consideraron factores de confusión y algunos otros, solo evaluaron las diferencias de COVID-19 en presentación clínica moderada y grave, con poca población representativa de pacientes críticamente enfermos y ventilación mecánica invasiva (112, 169, 201).

En este estudio realizamos una cohorte retrospectiva donde nuestro objetivo principal fué la evaluación de la utilidad de los niveles de IL-6 sérica como factor predictor de inicio de ventilación mecánica invasiva y/o muerte en pacientes con COVID-19 grave. Hasta nuestro conocimiento, este es el primer estudio en evaluar la gravedad de la falla respiratoria en pacientes con COVID-19 grave, así como también el primer reporte que incluye un número significativo de pacientes con SDRA por SARS-CoV 2 e intubación orotraqueal, en los reportes previos se menciona el análisis de hasta 25 sujetos con ventilación mecánica invasiva y hasta 62 sujetos con SDRA por COVID-19. Nosotros hipotetizamos acerca de que niveles mayores de esta citocina están asociados a inicio de ventilación mecánica invasiva y mortalidad en pacientes con COVID19 grave. No evaluamos como desenlace la estancia en Unidad de Cuidados Intensivos, ya que, debido a la gravedad de la pandemia, nuestro hospital es la institución más grande de Latinoamérica para la atención de COVID-19 grave.

En los análisis encontramos que la mediana de niveles de IL-6 fué de 267.3 pg/ml (59.11-1182.8) y que el valor de esta citocina resultó hasta 8 veces mayor en pacientes con COVID-19 grave y SDRA con ventilación mecánica invasiva (n=67) a comparación de los pacientes con solo COVID-19 grave(n=22) (P:0.0005). Llama la atención de que a pesar que se utilizaron pruebas y mecanismos de procesamiento similares a otros estudios (ELISA), los niveles de IL-6 que analizamos son considerablemente más altos a los reportados en la literatura médica, inclusive para COVID-19 en pacientes críticamente enfermos (mediana de 49.8, 18.9-130.9) (128). Para el desenlace de ventilación mecánica invasiva observamos una asociación fuerte de IL-6 al establecer un valor corte de ≥ 282 pg/ml, inclusive posterior al ajuste a confusores, con una razón de momios de 10.8 (1.56-75.4, P: 0.02), lo que se traduce en un factor independiente en el inicio de ventilación mecánica invasiva. Sin embargo, a pesar de que los niveles de IL-6 fueron mayores en los sujetos que fallecieron, al momento de analizar su asociación con mortalidad en el modelo de regresión logística multivariada, encontramos una razón de momios no estadísticamente significativa. Una posible explicación de este hallazgo es la baja mortalidad que se observó en el estudio (22%) en relación a otros reportes (63%) (127), y al menor número de población incluida en el análisis final.

La procalcitonina medida al ingreso sorpresivamente fué el mejor biomarcador independiente para predecir falla respiratoria e inicio de ventilación mecánica invasiva con un área bajo la curva de 0.86. Los valores de corte con mejor rendimiento estadístico son por debajo de los ya anteriormente establecidos como auxiliar en el diagnóstico de sepsis y neumonía bacteriana (202-204). Existen reportes de la asociación de la procalcitonina con COVID-19 grave, sin embargo, a pesar de que este biomarcador se ha evaluado en más pacientes críticos con VMI que este estudio, en nuestro reporte se observaron niveles más bajos con gran significancia estadística (205, 206). Estos hallazgos sugieren que la medición seriada de este biomarcador puede tener un rol importante en la identificación oportuna de la falla respiratoria en COVID-19 grave. La posible explicación a la elevación de procalcitonina va de la mano a que las concentraciones sostenidas de IL-1 β , FNT- α e IL-6 son amplificadores de su secreción y liberación, mientras que su producción se ve inhibida por acción del IFN- γ que, a su vez, en ciertos modelos de fisiopatología de infección por SARS-CoV 2 grave se ve atenuado (18, 83).

Otras variables que se asociaron a inicio de VMI, inclusive posterior al ajuste a confusores, fueron la presencia de fiebre durante los primeros 5 días de hospitalización (OR 37.63, P: 0.008) y la presencia de extensión de la lesión pulmonar $\geq 60\%$ con el índice que adecuamos para estas mediciones (OR 38, P: 0.005). Sin embargo, a pesar de la modificación que se le hizo al índice de GOH, no se observó diferencia estadística al momento de distinguir entre vidrio deslustrado y consolidación por tomografía. Esto concuerda con lo publicado anteriormente, dándole peso a los análisis semicuantitativos como una herramienta feasible y accesible en la mayoría de centros especializados (166-169). Aunque, se hayan obtenido rendimientos similares en relación a lo previamente publicado con otros análisis semicuantitativos por tomografía, el análisis de GOH modificado debe ser reproducido y validado para su aplicación posterior (167).

La presencia de lesión renal aguda durante la hospitalización fue el factor que más peso estadístico tuvo para asociarlo con mortalidad, lo que concuerda con otros reportes (10, 36). A pesar de que, el valor de linfocitos como variable continua no tuvo asociación en inicio de VMI y mortalidad, al convertirla en variable categórica definiéndola como la recuperación de linfocitos en los primeros 5 días de hospitalización, se observó que es un factor protector en todos los modelos de regresión logística multivariados realizados con un OR final de 0.09 (0.002-0.19, P:0.001), por lo que sería de gran ayuda en la evaluación hospitalaria de pacientes con COVID-19 grave y SDRA con ventilación mecánica invasiva.

La carga viral medida por Cts no tuvo ninguna asociación con la gravedad de la falla respiratoria ni con mortalidad, por lo que se atribuye que la magnitud de la respuesta inflamatoria no va influida por esta variable, lo que contrasta con lo anteriormente reportado. Después de todo, en este estudio solo se recopiló una medición de RT-PCR, por lo que para dar más peso estadístico a la carga viral se necesitan estudios con mediciones seriadas y la valoración de análisis en sangre de ARN viral (141, 144,146).

La interleucina 6 tuvo una correlación importante con la PCR tomada a las 48 horas de la admisión hospitalaria, junto con mediciones de procalcitonina medida al ingreso y a las 48 horas. Tampoco tuvieron una buena correlación los valores de Cts ni los análisis semicuantitativos por tomografía con los niveles de esta citocina.

Nuestro estudio tiene muchas limitaciones, primero que nada, dado a la naturaleza retrospectiva del estudio no pudimos realizar mediciones seriadas y estandarizadas de IL-6 sérica. Así mismo, existieron datos faltantes en los expedientes clínicos y electrónicos de los

pacientes. Además, la medición de interleucina 6 solo estuvo disponible durante cierto lapso de tiempo en relación a otros protocolos de estudio y existieron conductas médicas (como el uso de esteroides, hidroxiclороquina, ensayos clínicos, etc.) de acuerdo al contexto histórico de la pandemia por COVID-19 que pudieron influir en los desenlaces de los pacientes. Sin embargo, un punto fuerte de este trabajo es la homogeneización y la inclusión de solo sujetos con medición de IL-6 dentro de las primeras 96 horas de la hospitalización, la realización de tomografía de tórax dentro de los primeros 3 días de admisión a urgencias, y la no inclusión de pacientes con otros aislamientos microbianos y otras comorbilidades autoinmunes, lo que redujo el sesgo de otras causas de elevación de interleucina 6, así como, indicaciones de manejo avanzado de vía aérea y otras causas de mortalidad.

12.- CONCLUSIONES

Existen criterios clínicos (persistencia de fiebre), biomarcadores (IL-6 y procalcitonina) y la mayor extensión de la neumonía medida por tomografía de tórax, que están fuertemente asociados a mayor riesgo de inicio de ventilación mecánica invasiva. Estas variables en conjunto pueden ser utilizadas para elaborar modelos con AUC mayores de .90.

De la misma manera, existen variables identificadas durante la hospitalización que pueden predecir mortalidad, como son la recuperación de los linfocitos, mayores niveles de IL-6, la lesión renal aguda, y niveles de procalcitonina a las 48 horas de seguimiento mayores de .27. Estas variables en su conjunto tienen un AUC mayores de .90.

12.-REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- World Health Organization. Pneumonia of unknown cause-China. Emergencies preparedness, response [Internet]. China: Disease outbreak news; january 5th 2020; [cited 2020 may 08]. Disponible en: <https://www.who.int/csr/don/05-january-2020-pneumonia-of-unkown-cause-china/en/>.
- 2.- Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, Zhao X, Huang B, Shi W, Lu R, Niu P, Zhan F, Ma X, Wang D, Xu W, Wu G, Gao GF, Tan W; China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020 Feb 20;382(8):727-733. doi: 10.1056/NEJMoa2001017.
- 3.- Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, Si HR, Zhu Y, Li B, Huang CL, Chen HD, Chen J, Luo Y, Guo H, Jiang RD, Liu MQ, Chen Y, Shen XR, Wang X, Zheng XS, Zhao K, Chen QJ, Deng F, Liu LL, Yan B, Zhan FX, Wang YY, Xiao GF, Shi ZL. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020 Mar;579(7798):270-273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
- 4.- Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Actualización Epidemiológica: Nuevo coronavirus (COVID-19). 14 de febrero de 2020, Washington, D.C.: OPS/OMS; 2020
- 5.- Organización Panamericana de la Salud / La OMS caracteriza a COVID-19 como una pandemia. [Internet]. Ginebra. 11 marzo 2020; [cited 2020 may 08]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/noticias/11-3-2020-oms-caracteriza-covid-19-como-pandemia>
- 6.- COVID-19 CORONAVIRUS PANDEMIC. Coronavirus cases. [Internet]. Worldometers.info. [November 06, 2020 / cited 2020 may 5]. Disponible en: https://www.worldometers.info/coronavirus/?utm_campaign=homeAdvegas1?
- 7.- World Health Organization / Global, Mexico situation of COVID-19. [Internet]. World Health Organization. . [Data last updated 2020/11/06 / cited 2020/06/30].Disponible en: <https://covid19.who.int/region/amro/country/mx>
- 8.- 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 Intern Med*. 2020;180(7):934–943. doi:10.1001/jamainternmed.2020.0994.
- 9.- Yang X, Yu Y, Xu J, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia inWuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med*. 2020;8(5):475-481. doi:10.1016/S2213-2600(20) 30079-5.
- 10.- Grasselli G, Zangrillo A, Zanella A, et al; COVID-19 Lombardy ICU Network. Baseline characteristics and outcomes of 1591 patients infected with SARS-CoV-2 admitted to

ICUs of the Lombardy Region, Italy. JAMA. 2020;323(16):1574- 1581. doi:10.1001/jama.2020.5394.

11.- Arentz M, Yim E, Klaff L, Lokhandwala S, Riedo FX, Chong M, Lee M. Characteristics and Outcomes of 21 Critically Ill Patients With COVID-19 in Washington State. JAMA. 2020 Apr 28;323(16):1612-1614. doi: 10.1001/jama.2020.4326.

12.- Ñamendys-Silva SA, Gutiérrez-Villaseñor A, Romero-González JP. Hospital mortality in mechanically ventilated COVID-19 patients in Mexico. Intensive Care Med. 2020 Nov;46(11):2086-2088. doi: 10.1007/s00134-020-06256-3.

13.- Holman N, Knighton P, Kar P, O'Keefe J, Curley M, Weaver A, Barron E, Bakhai C, Khunti K, Wareham NJ, Sattar N, Young B, Valabhji J. Risk factors for COVID-19-related mortality in people with type 1 and type 2 diabetes in England: a population-based cohort study. Lancet Diabetes Endocrinol. 2020 Oct;8(10):823-833. doi: 10.1016/S2213-8587(20)30271-0.

14.- Barron E, Bakhai C, Kar P, Weaver A, Bradley D, Ismail H, Knighton P, Holman N, Khunti K, Sattar N, Wareham NJ, Young B, Valabhji J. Associations of type 1 and type 2 diabetes with COVID-19-related mortality in England: a whole-population study. Lancet Diabetes Endocrinol. 2020 Oct;8(10):813-822. doi: 10.1016/S2213-8587(20)30272-2.

15.- Giannouchos TV, Sussman RA, Mier JM, Poulas K, Farsalinos K. Characteristics and risk factors for COVID-19 diagnosis and adverse outcomes in Mexico: an analysis of 89,756 laboratory-confirmed COVID-19 cases. Eur Respir J. 2020 Jul 30:2002144. doi: 10.1183/13993003.02144-2020.

16.- McElvaney OJ, et al. Characterization of the Inflammatory Response to Severe COVID-19 Illness. Am J Respir Crit Care Med. 2020 Sep 15;202(6):812-821. doi: 10.1164/rccm.202005-1583OC.

17.- Chen, H., Wang, J., Su, N. et al. Simplified immune-dysregulation index: a novel marker predicts 28-day mortality of intensive care patients with COVID-19. Intensive Care Med, 2020. 46, 1645–1647. doi:10.1007/s00134-020-06114-2.

18.- Giamarellos-Bourboulis et al., Cell Host Microbe. 2020 Jun 10;27(6):992-1000.e3. doi: 10.1016/j.chom.2020.04.009.

19.- Okabayashi T, Kariwa H, Yokota S, Iki S, Indoh T, Yokosawa N, Takashima I, Tsutsumi H, Fujii N. Cytokine regulation in SARS coronavirus infection compared to other respiratory virus infections. J Med Virol. 2006 Apr;78(4):417-24. doi: 10.1002/jmv.20556.

20.- Kim ES, Choe PG, Park WB, Oh HS, Kim EJ, Nam EY, Na SH, Kim M, Song KH, Bang JH, Park SW, Kim HB, Kim NJ, Oh MD. Clinical Progression and Cytokine Profiles

of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Infection. J Korean Med Sci. 2016 Nov;31(11):1717-1725. Disponible en: <https://doi.org/10.3346/jkms.2016.31.11.1717>.

21.- Coomes EA, Haghighi H. Interleukin-6 in Covid-19: A systematic review and meta-analysis. Rev Med Virol. 2020 Aug 26:e2141. doi: 10.1002/rmv.2141.

22.- Sinha P, Matthay MA, Calfee CS. Is a "Cytokine Storm" Relevant to COVID-19? JAMA Intern Med. 2020;180(9):1152–1154. doi:10.1001/jamainternmed.2020.3313.

23.- Dhama K, Khan S, Tiwari R, Sircar S, Bhat S, Malik YS, Singh KP, Chaicumpa W, Bonilla-Aldana DK, Rodriguez-Morales AJ. Coronavirus disease 2019–COVID-19. Clin Microbiol Rev jun 2020, 33:e00028-20. <https://doi.org/10.1128/CMR.00028-20>.

24.- Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. J Med Virol. 2020 Apr;92(4):418-423. doi: 10.1002/jmv.25681.

25.- Pillaiyar T, Meenakshisundaram S, Manickam M. Recent discovery and development of inhibitors targeting coronaviruses. Drug Discov Today. 2020 Apr;25(4):668-688. doi: 10.1016/j.drudis.2020.01.015.

26.- Lieberman D, Shimon A, Shemer-Avni Y, Keren-Naos A, Shtainberg R, Lieberman D. Respiratory viruses in adults with community-acquired pneumonia. Chest. 2010 Oct;138(4):811-6. doi: 10.1378/chest.09-2717.

27.- Bradburne AF, Bynoe ML, Tyrrell DA. Effects of a "new" human respiratory virus in volunteers. Br Med J. 1967 Sep 23;3(5568):767-9. doi: 10.1136/bmj.3.5568.767.

28.- World Health Organization. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003 [Internet]. [24 July 2015 and cited 30 May 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/publications/m/item/summary-of-probable-sars-cases-with-onset-of-illness-from-1-november-2002-to-31-july-2003>.

29.- World Health Organization. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). [Internet]. November 2019. [cited by 30 May 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/>

30.- Liu L. Fields Virology, 6th Edition. Clinical Infectious Diseases, May 11, 2014, 59 (4), 613. doi: <https://doi.org/10.1093/cid/ciu346>.

31.- Millet JK, Whittaker GR. Host cell proteases: Critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. Virus Res. 2015 Apr 16;202:120-34. doi: 10.1016/j.virusres.2014.11.021.

32.- Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. Nat Med. 2020 Apr;26(4):450-452. doi: 10.1038/s41591-020-0820-9.

- 33.- DeDiego ML, Alvarez E, Almazán F, Rejas MT, Lamirande E, Roberts A, Shieh WJ, Zaki SR, Subbarao K, Enjuanes L. A severe acute respiratory syndrome coronavirus that lacks the E gene is attenuated in vitro and in vivo. *J Virol.* 2007 Feb;81(4):1701-13. doi: 10.1128/JVI.01467-06.
- 34.- Cui L, Wang H, Ji Y, Yang J, Xu S, Huang X, Wang Z, Qin L, Tien P, Zhou X, Guo D, Chen Y. The Nucleocapsid Protein of Coronaviruses Acts as a Viral Suppressor of RNA Silencing in Mammalian Cells. *J Virol.* 2015 Sep;89(17):9029-43. doi: 10.1128/JVI.01331-15.
- 35.- Gorbalenya, A.E., Baker, S.C., Baric, R.S. et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol* 5, 536–544 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>.
- 36.- Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA.* 2020 Aug 25;324(8):782-793. doi: 10.1001/jama.2020.12839.
- 37.- Santarpia JL, et al. Aerosol and Surface Transmission Potential of SARS-CoV-2. *medRxiv* 2020.03.23.20039446; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.23.20039446>.
- 38.- Krevanko C, Stern R, Koutrakis P. Letter to the editor. *J Air Waste Manag Assoc.* 2020 Aug;70(8):739-744. doi: 10.1080/10962247.2020.1787773.
- 39.- Meselson M. Droplets and Aerosols in the Transmission of SARS-CoV-2. *N Engl J Med.* 2020 May 21;382(21):2063. doi: 10.1056/NEJMc2009324.
- 40.- Chen H, Guo J, Wang C, Luo F, Yu X, Zhang W, Li J, Zhao D, Xu D, Gong Q, Liao J, Yang H, Hou W, Zhang Y. Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records. *Lancet.* 2020 Mar 7;395(10226):809-815. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30360-3.
- 41.- Vivanti AJ, Vauloup-Fellous C, Prevot S, Zupan V, Suffee C, Do Cao J, Benachi A, De Luca D. Transplacental transmission of SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun.* 2020 Jul 14;11(1):3572. doi: 10.1038/s41467-020-17436-6.
- 42.- Zeng L, Xia S, Yuan W, Yan K, Xiao F, Shao J, Zhou W. Neonatal Early-Onset Infection With SARS-CoV-2 in 33 Neonates Born to Mothers With COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Pediatr.* 2020 Jul 1;174(7):722-725. doi: 10.1001/jamapediatrics.2020.0878.

- 43.- Van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med*. 2020; 382(16):1564-1567. doi:10.1056/NEJMc2004973.
- 44.- He X, Lau EHY, Wu P, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med*. 2020;26(5):672-675. doi:10.1038/s41591-020-0869-5.
- 45.- Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, Ren R, Leung KSM, Lau EHY, Wong JY, Xing X, Xiang N, Wu Y, Li C, Chen Q, Li D, Liu T, Zhao J, Liu M, Tu W, Chen C, Jin L, Yang R, Wang Q, Zhou S, Wang R, Liu H, Luo Y, Liu Y, Shao G, Li H, Tao Z, Yang Y, Deng Z, Liu B, Ma Z, Zhang Y, Shi G, Lam TTY, Wu JT, Gao GF, Cowling BJ, Yang B, Leung GM, Feng Z. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med*. 2020 Mar 26;382(13):1199-1207. doi: 10.1056/NEJMoa2001316.
- 46.- Byambasuren O, et al. Estimating the extent of asymptomatic COVID-19 and its potential for community transmission: systematic review and meta-analysis. *medRxiv* 2020.05.10.20097543; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.10.20097543>.
- 47.- Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-280. doi:10.1016/j.cell.2020.02.052.
- 48.- Zumla A, Chan JF, Azhar EI, Hui DS, Yuen KY. Coronaviruses - drug discovery and therapeutic options. *Nat Rev Drug Discov*. 2016 May;15(5):327-47. doi: 10.1038/nrd.2015.37.
- 49.- Channappanavar R, Fehr AR, Vijay R, Mack M, Zhao J, Meyerholz DK, Perlman S. Dysregulated Type I Interferon and Inflammatory Monocyte-Macrophage Responses Cause Lethal Pneumonia in SARS-CoV-Infected Mice. *Cell Host Microbe*. 2016 Feb 10;19(2):181-93. doi: 10.1016/j.chom.2016.01.007.
- 50.- Lazear HM, Schoggins JW, Diamond MS. Shared and Distinct Functions of Type I and Type III Interferons. *Immunity*. 2019 Apr 16;50(4):907-923. doi: 10.1016/j.immuni.2019.03.025.
- 51.- Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu WC, Uhl S, Hoagland D, Møller R, Jordan TX, Oishi K, Panis M, Sachs D, Wang TT, Schwartz RE, Lim JK, Albrecht RA, tenOever BR. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell*. 2020 May 28;181(5):1036-1045.e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.026.
- 52.- Ye G, Lin H, Chen S, Wang S, Zeng Z, Wang W, Zhang S, Reibmann T, Li Y, Pan Z, Yang Z, Wang Y, Wang F, Qian Z, Wang X. Environmental contamination of SARS-CoV-2 in healthcare premises. *J Infect*. 2020 Aug;81(2):e1-e5. doi: 10.1016/j.jinf.2020.04.034.

- 53.- Guo ZD, Wang ZY, Zhang SF, Li X, Li L, Li C, Cui Y, Fu RB, Dong YZ, Chi XY, Zhang MY, Liu K, Cao C, Liu B, Zhang K, Gao YW, Lu B, Chen W. Aerosol and Surface Distribution of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Hospital Wards, Wuhan, China, 2020. *Emerg Infect Dis.* 2020 Jul;26(7):1583-1591. doi: 10.3201/eid2607.200885.
- 54.- Sun J, Xiao J, Sun R, Tang X, Liang C, Lin H, Zeng L, Hu J, Yuan R, Zhou P, Peng J, Xiong Q, Cui F, Liu Z, Lu J, Tian J, Ma W, Ke C. Prolonged Persistence of SARS-CoV-2 RNA in Body Fluids. *Emerg Infect Dis.* 2020 Aug;26(8):1834-1838. doi: 10.3201/eid2608.201097.
- 55.- Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020;581(7809):465-469. doi:10.1038/s41586-020-2196-x.
- 56.- Weissenbach J, Chernajovsky Y, Zeevi M, Shulman L, Soreq H, Nir U, Wallach D, Perricaudet M, Tiollais P, Revel M. Two interferon mRNAs in human fibroblasts: in vitro translation and Escherichia coli cloning studies. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1980 Dec;77(12):7152-6. doi: 10.1073/pnas.77.12.7152.
- 57.- Scheller J, Garbers C, Rose-John S. Interleukin-6: from basic biology to selective blockade of pro-inflammatory activities. *Semin Immunol.* 2014 Feb;26(1):2-12. doi: 10.1016/j.smim.2013.11.002.
- 58.- Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nat Immunol.* 2015 May;16(5):448-57. doi: 10.1038/ni.3153.
- 59.- Wolf J, Rose-John S, Garbers C. Interleukin-6 and its receptors: a highly regulated and dynamic system. *Cytokine.* 2014 Nov;70(1):11-20. doi: 10.1016/j.cyto.2014.05.024.
- 60.- Schaper F, Rose-John S. Interleukin-6: Biology, signaling and strategies of blockade. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2015 Oct;26(5):475-87. doi: 10.1016/j.cytogfr.2015.07.004.
- 61.- Riethmueller S, et al. Proteolytic Origin of the Soluble Human IL-6R In Vivo and a Decisive Role of N-Glycosylation. *PLoS Biol.* 2017 Jan 6;15(1):e2000080. doi: 10.1371/journal.pbio.2000080.
- 62.- Baran P, Hansen S, Waetzig GH, Akbarzadeh M, Lamertz L, Huber HJ, Ahmadian MR, Moll JM, Scheller J. The balance of interleukin (IL)-6, IL-6-soluble IL-6 receptor (sIL-6R), and IL-6-sIL-6R-sgp130 complexes allows simultaneous classic and trans-signaling. *J Biol Chem.* 2018 May 4;293(18):6762-6775. doi: 10.1074/jbc.RA117.001163.

- 63.- Campbell IL, Erta M, Lim SL, Frausto R, May U, Rose-John S, Scheller J, Hidalgo J. Trans-signaling is a dominant mechanism for the pathogenic actions of interleukin-6 in the brain. *J Neurosci*. 2014 Feb 12;34(7):2503-13. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2830-13.2014.
- 64.- Jones SA, Jenkins BJ. Recent insights into targeting the IL-6 cytokine family in inflammatory diseases and cancer. *Nat Rev Immunol*. 2018 Dec;18(12):773-789. doi: 10.1038/s41577-018-0066-7.
- 65.- Rabe B, Chalaris A, May U, Waetzig GH, Seegert D, Williams AS, Jones SA, Rose-John S, Scheller J. Transgenic blockade of interleukin 6 transsignaling abrogates inflammation. *Blood*. 2008 Feb 1;111(3):1021-8. doi: 10.1182/blood-2007-07-102137.
- 66.- Rose-John S, Waetzig GH, Scheller J, Grötzinger J, Seegert D. The IL-6/sIL-6R complex as a novel target for therapeutic approaches. *Expert Opin Ther Targets*. 2007 May;11(5):613-24. doi: 10.1517/14728222.11.5.613.
- 67.- Barkhausen T, Tschernig T, Rosenstiel P, van Griensven M, Vonberg RP, Dorsch M, Mueller-Heine A, Chalaris A, Scheller J, Rose-John S, Seegert D, Krettek C, Waetzig GH. Selective blockade of interleukin-6 trans-signaling improves survival in a murine polymicrobial sepsis model. *Crit Care Med*. 2011 Jun;39(6):1407-13. doi: 10.1097/CCM.0b013e318211ff56.
- 68.- Longhi MP, Wright K, Lauder SN, Nowell MA, Jones GW, Godkin AJ, Jones SA, Gallimore AM. Interleukin-6 is crucial for recall of influenza-specific memory CD4 T cells. *PLoS Pathog*. 2008 Feb 29;4(2):e1000006. doi: 10.1371/journal.ppat.1000006.
- 69.- Dienz O, Rud JG, Eaton SM, Lanthier PA, Burg E, Drew A, Bunn J, Suratt BT, Haynes L, Rincon M. Essential role of IL-6 in protection against H1N1 influenza virus by promoting neutrophil survival in the lung. *Mucosal Immunol*. 2012 May;5(3):258-66. doi: 10.1038/mi.2012.2.
- 70.- Kaur S, Bansal Y, Kumar R, Bansal G. A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors. *Bioorg Med Chem*. 2020 Mar 1;28(5):115327. doi: 10.1016/j.bmc.2020.115327.
- 71.- Jones BE, Maerz MD, Buckner JH. IL-6: a cytokine at the crossroads of autoimmunity. *Curr Opin Immunol*. 2018 Dec;55:9-14. doi: 10.1016/j.coi.2018.09.002.
- 72.- Yasukawa K, Hirano T, Watanabe Y, Muratani K, Matsuda T, Nakai S, Kishimoto T. Structure and expression of human B cell stimulatory factor-2 (BSF-2/IL-6) gene. *EMBO J*. 1987 Oct;6(10):2939-45.
- 73.- Schmidt-Arras D, Rose-John S. IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy. *J Hepatol*. 2016 Jun;64(6):1403-15. doi: 10.1016/j.jhep.2016.02.004.
- 74.- Fraunberger P, Wang Y, Holler E, Parhofer KG, Nagel D, Walli AK, Seidel D. Prognostic value of interleukin 6, procalcitonin, and C-reactive protein levels in intensive

care unit patients during first increase of fever. *Shock*. 2006 Jul;26(1):10-2. doi: 10.1097/01.shk.0000215319.06866.bd.

75.- Campard D, Vasse M, Rose-John S, Poyer F, Lamacz M, Vannier JP. Multilevel regulation of IL-6R by IL-6-sIL-6R fusion protein according to the primitiveness of peripheral blood-derived CD133+ cells. *Stem Cells*. 2006 May;24(5):1302-14. doi: 10.1634/stemcells.2005-0173.

76.- Su H, Lei CT, Zhang C. Interleukin-6 Signaling Pathway and Its Role in Kidney Disease: An Update. *Front Immunol*. 2017 Apr 21;8:405. doi: 10.3389/fimmu.2017.00405.

77.- Wang WK, Chen SY, Liu IJ, Kao CL, Chen HL, Chiang BL, Wang JT, Sheng WH, Hsueh PR, Yang CF, Yang PC, Chang SC; Severe Acute Respiratory Syndrome Research Group of the National Taiwan University College of Medicine/NTU Hospital. Temporal relationship of viral load, ribavirin, interleukin (IL)-6, IL-8, and clinical progression in patients with severe acute respiratory syndrome. *Clin Infect Dis*. 2004 Oct 1;39(7):1071-5. doi: 10.1086/423808.

78.- Zhang Y, Li J, Zhan Y, Wu L, Yu X, Zhang W, Ye L, Xu S, Sun R, Wang Y, Lou J. Analysis of serum cytokines in patients with severe acute respiratory syndrome. *Infect Immun*. 2004 Aug;72(8):4410-5. doi: 10.1128/IAI.72.8.4410-4415.2004.

79.- Mahallawi WH, Khabour OF, Zhang Q, Makhdoum HM, Suliman BA. MERS-CoV infection in humans is associated with a pro-inflammatory Th1 and Th17 cytokine profile. *Cytokine*. 2018 Apr;104:8-13. doi: 10.1016/j.cyto.2018.01.025.

80.- Vardhana SA, Wolchok JD. The many faces of the anti-COVID immune response. *J Exp Med*. 2020 Jun 1;217(6):e20200678. doi: 10.1084/jem.20200678.

81.- Lee DW, Gardner R, Porter DL, Louis CU, Ahmed N, Jensen M, Grupp SA, Mackall CL. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. *Blood*. 2014 Jul 10;124(2):188-95. doi: 10.1182/blood-2014-05-552729.

82.- Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. *J Infect*. 2020 Jun;80(6):607-613. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.037.

83.- Chen G, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H, Wang T, Zhang X, Chen H, Yu H, Zhang X, Zhang M, Wu S, Song J, Chen T, Han M, Li S, Luo X, Zhao J, Ning Q. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest*. 2020 May 1;130(5):2620-2629. doi: 10.1172/JCI137244.

84.- Wen W, Su W, Tang H, Le W, Zhang X, Zheng Y, Liu X, Xie L, Li J, Ye J, Dong L, Cui X, Miao Y, Wang D, Dong J, Xiao C, Chen W, Wang H. Immune cell profiling of COVID-19 patients in the recovery stage by single-cell sequencing. *Cell Discov*. 2020 May 4;6:31. doi: 10.1038/s41421-020-0168-9.

- 85.- Zhang et al. COVID-19 infection induces readily detectable morphological and inflammation-related phenotypic changes in peripheral blood monocytes, the severity of which correlate with patient outcome.medRxiv (Preprint posted March 26, 2020). <https://doi.org/10.1101/2020.03.24.20042655>.
- 86.- Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, Wang X, Yuan J, Li T, Li J, Qian S, Hong C, Wang F, Liu Y, Wang Z, He Q, Li Z, He B, Zhang T, Fu Y, Ge S, Liu L, Zhang J, Xia N, Zhang Z. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020 Mar 28;ciaa344. doi: 10.1093/cid/ciaa344.
- 87.- Robbiani DF, et al. Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent individuals. *Nature*. 2020 Aug;584(7821):437-442. doi: 10.1038/s41586-020-2456-9.
- 88.- Long QX, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med*. 2020 Jun;26(6):845-848. doi: 10.1038/s41591-020-0897-1.
- 89.- Kaneko N, et al. Loss of Bcl-6-Expressing T Follicular Helper Cells and Germinal Centers in COVID-19. *Cell*. 2020 Oct 1;183(1):143-157.e13. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.025.
- 90.- Quinti I, Lougaris V, Milito C, Cinetto F, Pecoraro A, Mezzaroma I, Mastroianni CM, Turriziani O, Bondioni MP, Filippini M, Soresina A, Spadaro G, Agostini C, Carsetti R, Plebani A. A possible role for B cells in COVID-19? Lesson from patients with agammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol*. 2020 Jul;146(1):211-213.e4. doi: 10.1016/j.jaci.2020.04.013.
- 91.- Baazim H, et al. CD8+ T cells induce cachexia during chronic viral infection. *Nat Immunol*. 2019 Jun;20(6):701-710. doi: 10.1038/s41590-019-0397-y.
- 92.- Grifoni A, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell*. 2020 Jun 25;181(7):1489-1501.e15. doi: 10.1016/j.cell.2020.05.015.
- 93.- Hyoun-Shik et al, Immune Responses to Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus During the Acute and Convalescent Phases of Human Infection, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 68, Issue 6, 15 March 2019, Pages 984–992, <https://doi.org/10.1093/cid/ciy595>.
- 94.- Li CK, Wu H, Yan H, Ma S, Wang L, Zhang M, Tang X, Temperton NJ, Weiss RA, Brenchley JM, Douek DC, Mongkolsapaya J, Tran BH, Lin CL, Screaton GR, Hou JL, McMichael AJ, Xu XN. T cell responses to whole SARS coronavirus in humans. *J Immunol*. 2008 Oct 15;181(8):5490-500. doi: 10.4049/jimmunol.181.8.5490.
- 95.- Wang F, Hou H, Luo Y, Tang G, Wu S, Huang M, Liu W, Zhu Y, Lin Q, Mao L, Fang M, Zhang H, Sun Z. The laboratory tests and host immunity of COVID-19 patients with

different severity of illness. JCI Insight. 2020 May 21;5(10):e137799. doi: 10.1172/jci.insight.137799.

96.- Xiong Y, et al. Transcriptomic characteristics of bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood mononuclear cells in COVID-19 patients. Emerg Microbes Infect. 2020 Dec;9(1):761-770. doi: 10.1080/22221751.2020.1747363.

97.- Liu J, et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. EBioMedicine. 2020 May;55:102763. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102763.

98.- Zhang X, Tan Y, Ling Y, Lu G, Liu F, Yi Z, Jia X, Wu M, Shi B, Xu S, Chen J, Wang W, Chen B, Jiang L, Yu S, Lu J, Wang J, Xu M, Yuan Z, Zhang Q, Zhang X, Zhao G, Wang S, Chen S, Lu H. Viral and host factors related to the clinical outcome of COVID-19. Nature. 2020 Jul;583(7816):437-440. doi: 10.1038/s41586-020-2355-0.

99.- Zhao Q, Meng M, Kumar R, Wu Y, Huang J, Deng Y, Weng Z, Yang L. Lymphopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A systemic review and meta-analysis. Int J Infect Dis. 2020 Jul;96:131-135. doi: 10.1016/j.ijid.2020.04.086.

100.- Huang I, Pranata R. Lymphopenia in severe coronavirus disease-2019 (COVID-19): systematic review and meta-analysis. J Intensive Care. 2020 May 24;8:36. doi: 10.1186/s40560-020-00453-4.

101.- Chan et al, Mechanisms of lymphocyte loss in SARS coronavirus infection. Hong Kong Med J 2008;14(Suppl 4):S21-6.

102.- Tan L, Wang Q, Zhang D, Ding J, Huang Q, Tang YQ, Wang Q, Miao H. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. Signal Transduct Target Ther. 2020 Mar 27;5(1):33. doi: 10.1038/s41392-020-0148-4.

103.- Chen et al. The Novel Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Directly Decimates Human Spleens and Lymph Nodes.2020 medRxiv 2020.03.27.20045427; doi:10.1101/2020.03.27.20045427.

104.- Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, et al. The incubation period of coronavirus disease 2019 (COVID-19) from publicly reported confirmed cases: estimation and application. Ann Intern Med. 2020;172(9):577- 582. doi:10.7326/M20-0504.

105.- GuanWJ, Ni ZY, Hu Y, et al; China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. N Engl J Med. 2020;382(18):1708-1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.

106.- Garg S, Kim L, Whitaker M, et al. Hospitalization rates and characteristics of patients hospitalized with laboratory-confirmed coronavirus disease 2019—COVID-NET, 14

States, March 1-30, 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2020;69(15):458- 464. doi:10.15585/mmwr.mm6915e3.

107.- Richardson S, et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. JAMA. 2020 May 26;323(20):2052-2059. doi: 10.1001/jama.2020.6775.

108.- Docherty AB, et al. Features of 20 133 UK patients in hospital with covid-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: prospective observational cohort study. BMJ. 2020 May 22;369:m1985. doi: 10.1136/bmj.m1985.

109.- World Health Organization-China. Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Who.int/docs. 16-24 february 2020; pp:11-13. Disponible en: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>

110.- Giacomelli A, et al. Self-reported Olfactory and Taste Disorders in Patients With Severe Acute Respiratory Coronavirus 2 Infection: A Cross-sectional Study. Clin Infect Dis. 2020 Jul 28;71(15):889-890. doi: 10.1093/cid/ciaa330.

111.- Myers LC, Parodi SM, Escobar GJ, Liu VX. Characteristics of Hospitalized Adults With COVID-19 in an Integrated Health Care System in California. JAMA. 2020 Jun 2;323(21):2195-2198. doi: 10.1001/jama.2020.7202.

112.- Wu C, et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. JAMA Intern Med. 2020 Jul 1;180(7):934-943. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.0994.

113.- Gattinoni L, Chiumello D, Rossi S. COVID-19 pneumonia: ARDS or not? Crit Care. 2020 Apr 16;24(1):154. doi: 10.1186/s13054-020-02880-z.

114.- Gattinoni L, Chiumello D, Caironi P, Busana M, Romitti F, Brazzi L, Camporota L. COVID-19 pneumonia: different respiratory treatments for different phenotypes? Intensive Care Med. 2020 Jun;46(6):1099-1102. doi: 10.1007/s00134-020-06033-2.

115.- Montenegro F, et al. Acute respiratory distress syndrome (ARDS) caused by the novel coronavirus disease (COVID-19): a practical comprehensive literature review. Expert Rev Respir Med. 2020 Oct 18:1-13. doi: 10.1080/17476348.2020.1820329.

116.- Bos L, Paulus F, Vlaar A, Beenen L, & Schultz M. Subphenotyping ARDS in COVID-19 Patients: Consequences for Ventilator Management. Ann Am Thorac Soc. 2020 Sep;17(9):1161-1163. doi:10.1513/annalsats.202004-376rl.

- 117.- Nuckton TJ, Alonso JA, Kallet RH, Daniel BM, Pittet JF, Eisner MD, Matthay MA. Pulmonary dead-space fraction as a risk factor for death in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2002 Apr 25;346(17):1281-6. doi: 10.1056/NEJMoa012835.
- 118.- Sinha P, Calfee CS, Beitler JR, Soni N, Ho K, Matthay MA, Kallet RH. Physiologic Analysis and Clinical Performance of the Ventilatory Ratio in Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019 Feb 1;199(3):333-341. doi: 10.1164/rccm.201804-0692OC.
- 119.- Amato MB, Meade MO, Slutsky AS, Brochard L, Costa EL, Schoenfeld DA, Stewart TE, Briel M, Talmor D, Mercat A, Richard JC, Carvalho CR, Brower RG. Driving pressure and survival in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2015 Feb 19;372(8):747-55. doi: 10.1056/NEJMsa1410639.
- 120.- Sinha P, Fauvel NJ, Singh S, Soni N. Ventilatory ratio: a simple bedside measure of ventilation. *Br J Anaesth*. 2009 May;102(5):692-7. doi: 10.1093/bja/aep054.
- 121.- Sinha P, Fauvel NJ, Singh P, Soni N. Analysis of ventilatory ratio as a novel method to monitor ventilatory adequacy at the bedside. *Crit Care*. 2013 Feb 27;17(1):R34. doi: 10.1186/cc12541.
- 122.- Liu X, Liu X, Xu Y, Xu Z, Huang Y, Chen S, Li S, Liu D, Lin Z, Li Y. Ventilatory Ratio in Hypercapnic Mechanically Ventilated Patients with COVID-19-associated Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020 May 15;201(10):1297-1299. doi: 10.1164/rccm.202002-0373LE.
- 123.- Calfee CS, Delucchi K, Parsons PE, Thompson BT, Ware LB, Matthay MA; NHLBI ARDS Network. Subphenotypes in acute respiratory distress syndrome: latent class analysis of data from two randomised controlled trials. *Lancet Respir Med*. 2014 Aug;2(8):611-20. doi: 10.1016/S2213-2600(14)70097-9.
- 124.- Calfee CS, Delucchi KL, Sinha P, Matthay MA, Hackett J, Shankar-Hari M, McDowell C, Laffey JG, O'Kane CM, McAuley DF; Irish Critical Care Trials Group. Acute respiratory distress syndrome subphenotypes and differential response to simvastatin: secondary analysis of a randomised controlled trial. *Lancet Respir Med*. 2018 Sep;6(9):691-698. doi: 10.1016/S2213-2600(18)30177-2.
- 125.- Famous KR, Delucchi K, Ware LB, Kangelaris KN, Liu KD, Thompson BT, Calfee CS; ARDS Network. Acute Respiratory Distress Syndrome Subphenotypes Respond Differently to Randomized Fluid Management Strategy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017 Feb 1;195(3):331-338. doi: 10.1164/rccm.201603-0645OC.
- 126.- Sinha P, Delucchi KL, Thompson BT, McAuley DF, Matthay MA, Calfee CS; NHLBI ARDS Network. Latent class analysis of ARDS subphenotypes: a secondary analysis of

the statins for acutely injured lungs from sepsis (SAILS) study. *Intensive Care Med.* 2018 Nov;44(11):1859-1869. doi: 10.1007/s00134-018-5378-3.

127.- Sinha P, Calfee CS, Cherian S, Brealey D, Cutler S, King C, Killick C, Richards O, Cheema Y, Bailey C, Reddy K, Delucchi KL, Shankar-Hari M, Gordon AC, Shyamsundar M, O'Kane CM, McAuley DF, Szakmany T. Prevalence of phenotypes of acute respiratory distress syndrome in critically ill patients with COVID-19: a prospective observational study. *Lancet Respir Med.* 2020 Aug 27:S2213-2600(20)30366-0. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30366-0.

128.- Leisman DE, Ronner L, Pinotti R, Taylor MD, Sinha P, Calfee CS, Hirayama AV, Mastroiani F, Turtle CJ, Harhay MO, Legrand M, Deutschman CS. Cytokine elevation in severe and critical COVID-19: a rapid systematic review, meta-analysis, and comparison with other inflammatory syndromes. *Lancet Respir Med.* 2020 Oct 16:S2213-2600(20)30404-5. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30404-5.

129.- Long B, Brady WJ, Koyfman A, Gottlieb M. Cardiovascular complications in COVID-19. *Am J Emerg Med.* 2020 Jul;38(7):1504-1507. doi: 10.1016/j.ajem.2020.04.048.

130.- Hendren NS, Drazner MH, Bozkurt B, Cooper LT Jr. Description and Proposed Management of the Acute COVID-19 Cardiovascular Syndrome. *Circulation.* 2020 Jun 9;141(23):1903-1914. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047349.

131.- Mao L, Jin H, Wang M, Hu Y, Chen S, He Q, Chang J, Hong C, Zhou Y, Wang D, Miao X, Li Y, Hu B. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol.* 2020 Jun 1;77(6):683-690. doi: 10.1001/jamaneurol.2020.1127.

132.- Helms J, Kremer S, Merdji H, Clere-Jehl R, Schenck M, Kummerlen C, Collange O, Boulay C, Fafi-Kremer S, Ohana M, Anheim M, Meziani F. Neurologic Features in Severe SARS-CoV-2 Infection. *N Engl J Med.* 2020 Jun 4;382(23):2268-2270. doi: 10.1056/NEJMc2008597.

133.- Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers DAMPJ, Kant KM, Kaptein FHJ, van Paassen J, Stals MAM, Huisman MV, Endeman H. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res.* 2020 Jul;191:145-147. doi: 10.1016/j.thromres.2020.04.013.

134.- Levi M, Thachil J, Iba T, Levy JH. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19. *Lancet Haematol.* 2020 Jun;7(6):e438-e440. doi: 10.1016/S2352-3026(20)30145-9.

135.- Middeldorp S, Coppens M, van Haaps TF, Foppen M, Vlaar AP, Müller MCA, Bouman CCS, Beenen LFM, Kootte RS, Heijmans J, Smits LP, Bonta PI, van Es N.

Incidence of venous thromboembolism in hospitalized patients with COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020 Aug;18(8):1995-2002. doi: 10.1111/jth.14888.

136.- Goicoechea M, et al. COVID-19: clinical course and outcomes of 36 hemodialysis patients in Spain. *Kidney Int.* 2020 Jul;98(1):27-34. doi: 10.1016/j.kint.2020.04.031.

137.- Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, Tan W. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA.* 2020 May 12;323(18):1843-1844. doi: 10.1001/jama.2020.3786.

138.- Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA.* 2020 Jun 9;323(22):2249-2251. doi: 10.1001/jama.2020.8259.

139.- Kucirka LM, Lauer SA, Laeyendecker O, Boon D, Lessler J. Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction-Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure. *Ann Intern Med.* 2020 Aug 18;173(4):262-267. doi: 10.7326/M20-1495.

140.- Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, Yu J, Kang M, Song Y, Xia J, Guo Q, Song T, He J, Yen HL, Peiris M, Wu J. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med.* 2020 Mar 19;382(12):1177-1179. doi: 10.1056/NEJMc2001737.

141.- Pujadas E, Chaudhry F, McBride R, Richter F, Zhao S, Wajnberg A, Nadkarni G, Glicksberg BS, Houldsworth J, Cordon-Cardo C. SARS-CoV-2 viral load predicts COVID-19 mortality. *Lancet Respir Med.* 2020 Sep;8(9):e70. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30354-4.

142.- Chen W, Lan Y, Yuan X, Deng X, Li Y, Cai X, Li L, He R, Tan Y, Deng X, Gao M, Tang G, Zhao L, Wang J, Fan Q, Wen C, Tong Y, Tang Y, Hu F, Li F, Tang X. Detectable 2019-nCoV viral RNA in blood is a strong indicator for the further clinical severity. *Emerg Microbes Infect.* 2020 Feb 26;9(1):469-473. doi: 10.1080/22221751.2020.1732837.

143.- Huang JT, Ran RX, Lv ZH, Feng LN, Ran CY, Tong YQ, Li D, Su HW, Zhu CL, Qiu SL, Yang J, Xiao MY, Liu MJ, Yang YT, Liu SM, Li Y. Chronological Changes of Viral Shedding in Adult Inpatients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin Infect Dis.* 2020 May 23:ciaa631. doi: 10.1093/cid/ciaa631.

144.- Bullard J, Dust K, Funk D, Strong JE, Alexander D, Garnett L, Boodman C, Bello A, Hedley A, Schiffman Z, Doan K, Bastien N, Li Y, Van Caeseele PG, Poliquin G. Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples. *Clin Infect Dis.* 2020 May 22:ciaa638. doi: 10.1093/cid/ciaa638.

145.- Yu X, Sun S, Shi Y, Wang H, Zhao R, Sheng J. SARS-CoV-2 viral load in sputum correlates with risk of COVID-19 progression. *Crit Care.* 2020 Apr 23;24(1):170. doi: 10.1186/s13054-020-02893-8.

- 146.- Chen X, Zhao B, Qu Y, Chen Y, Xiong J, Feng Y, Men D, Huang Q, Liu Y, Yang B, Ding J, Li F. Detectable Serum Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Viral Load (RNAemia) Is Closely Correlated With Drastically Elevated Interleukin 6 Level in Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020 Nov 5;71(8):1937-1942. doi: 10.1093/cid/ciaa449.
- 147.- Yang W, Sirajuddin A, Zhang X, Liu G, Teng Z, Zhao S, Lu M. The role of imaging in 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19). *Eur Radiol*. 2020 Sep;30(9):4874-4882. doi: 10.1007/s00330-020-06827-4.
- 148.- Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, Qiu Y, Wang J, Liu Y, Wei Y, Xia J, Yu T, Zhang X, Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020 Feb 15;395(10223):507-513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
- 149.- Fang Y, Zhang H, Xie J, Lin M, Ying L, Pang P, Ji W. Sensitivity of Chest CT for COVID-19: Comparison to RT-PCR. *Radiology*. 2020 Aug;296(2):E115-E117. doi: 10.1148/radiol.2020200432.
- 150.- Ai T, Yang Z, Hou H, Zhan C, Chen C, Lv W, Tao Q, Sun Z, Xia L. Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. *Radiology*. 2020 Aug;296(2):E32-E40. doi: 10.1148/radiol.2020200642.
- 151.- Bernheim A, Mei X, Huang M, Yang Y, Fayad ZA, Zhang N, Diao K, Lin B, Zhu X, Li K, Li S, Shan H, Jacobi A, Chung M. Chest CT Findings in Coronavirus Disease-19 (COVID-19): Relationship to Duration of Infection. *Radiology*. 2020 Jun;295(3):200463. doi: 10.1148/radiol.2020200463.
- 152.- American College of Radiology. (Internet).ACR Recommendations for the use of chest radiography and computed tomography (CT) for suspected COVID-19 infection. Accessed 30 june 2020. Disponible en: <https://www.acr.org/Advocacy-and-Economics/ACR-Position-Statements/Recommendations-for-Chest-Radiography-and-CT-for-Suspected-COVID19-Infection>.
- 153.- Pan Y, Guan H, Zhou S, Wang Y, Li Q, Zhu T, Hu Q, Xia L. Initial CT findings and temporal changes in patients with the novel coronavirus pneumonia (2019-nCoV): a study of 63 patients in Wuhan, China. *Eur Radiol*. 2020 Jun;30(6):3306-3309. doi: 10.1007/s00330-020-06731-x.
- 154.- Song F, Shi N, Shan F, Zhang Z, Shen J, Lu H, Ling Y, Jiang Y, Shi Y. Emerging 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) Pneumonia. *Radiology*. 2020 Apr;295(1):210-217. doi: 10.1148/radiol.2020200274.

- 155.- Ng et al Imaging profile of the COVID-19 infection: radiologic findings and literature review. *Radiology: Cardiothoracic Imaging*, Feb 13 2020. <https://doi.org/10.1148/ryct.2020200034>.
- 156.- Wu J, Wu X, Zeng W, Guo D, Fang Z, Chen L, Huang H, Li C. Chest CT Findings in Patients With Coronavirus Disease 2019 and Its Relationship With Clinical Features. *Invest Radiol*. 2020 May;55(5):257-261. doi: 10.1097/RLI.0000000000000670.
- 157.- Li K, Wu J, Wu F, Guo D, Chen L, Fang Z, Li C. The Clinical and Chest CT Features Associated With Severe and Critical COVID-19 Pneumonia. *Invest Radiol*. 2020 Jun;55(6):327-331. doi: 10.1097/RLI.0000000000000672.
- 158.- Pan F, Ye T, Sun P, Gui S, Liang B, Li L, Zheng D, Wang J, Hesketh RL, Yang L, Zheng C. Time Course of Lung Changes at Chest CT during Recovery from Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Radiology*. 2020 Jun;295(3):715-721. doi: 10.1148/radiol.2020200370.
- 159.- Shi H, Han X, Jiang N, Cao Y, Alwalid O, Gu J, Fan Y, Zheng C. Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet Infect Dis*. 2020 Apr;20(4):425-434. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30086-4.
- 160.- Yoon SH, Lee KH, Kim JY, Lee YK, Ko H, Kim KH, Park CM, Kim YH. Chest Radiographic and CT Findings of the 2019 Novel Coronavirus Disease (COVID-19): Analysis of Nine Patients Treated in Korea. *Korean J Radiol*. 2020 Apr;21(4):494-500. doi: 10.3348/kjr.2020.0132.
- 161.- Xie X, Zhong Z, Zhao W, Zheng C, Wang F, Liu J. Chest CT for Typical Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia: Relationship to Negative RT-PCR Testing. *Radiology*. 2020 Aug;296(2):E41-E45. doi: 10.1148/radiol.2020200343.
- 162.- Li X, Zeng X, Liu B, Yu Y (2020) COVID-19 infection presenting with CT halo sign. *Radiology: Cardiothoracic Imaging*. <https://doi.org/10.1148/ryct.2020200026>.
- 163.- Kazerooni EA, Martinez FJ, Flint A, Jamadar DA, Gross BH, Spizarny DL, Cascade PN, Whyte RI, Lynch JP 3rd, Toews G. Thin-section CT obtained at 10-mm increments versus limited three-level thin-section CT for idiopathic pulmonary fibrosis: correlation with pathologic scoring. *AJR Am J Roentgenol*. 1997 Oct;169(4):977-83. doi: 10.2214/ajr.169.4.9308447.
- 164.- Flaherty KR, Colby TV, Travis WD, et al. Fibroblastic foci in usual interstitial pneumonia: idiopathic versus collagen vascular disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167:1410–1415. doi: 10.1164/rccm.200204-373OC.

- 165.- Chang YC, Yu CJ, Chang SC, Galvin JR, Liu HM, Hsiao CH, Kuo PH, Chen KY, Franks TJ, Huang KM, Yang PC. Pulmonary sequelae in convalescent patients after severe acute respiratory syndrome: evaluation with thin-section CT. *Radiology*. 2005 Sep;236(3):1067-75. doi: 10.1148/radiol.2363040958.
- 166.- Li K, Wu J, Wu F, et al. The Clinical and Chest CT Features Associated With Severe and Critical COVID-19 Pneumonia. *Invest Radiol*. 2020;55(6):327-331. doi:10.1097/RLI.0000000000000672
- 167.- Li K, Fang Y, Li W, Pan C, Qin P, Zhong Y, Liu X, Huang M, Liao Y, Li S. CT image visual quantitative evaluation and clinical classification of coronavirus disease (COVID-19). *Eur Radiol*. 2020 Aug;30(8):4407-4416. doi: 10.1007/s00330-020-06817-6.
- 168.- He S, Zhou C, Lu D, Yang H, Xu H, Wu G, Pan W, Zhu R, Jia H, Tang X, Chen X, Wu X. Relationship between chest CT manifestations and immune response in COVID-19 patients. *Int J Infect Dis*. 2020 Sep;98:125-129. doi: 10.1016/j.ijid.2020.06.059.
- 169.- Liu Z, Li J, Chen D, Gao R, Zeng W, Chen S, Huang Y, Huang J, Long W, Li M, Guo L, Wang X, Wu X. Dynamic Interleukin-6 Level Changes as a Prognostic Indicator in Patients With COVID-19. *Front Pharmacol*. 2020 Jul 17;11:1093. doi: 10.3389/fphar.2020.01093.
- 170.- Magro G. SARS-CoV-2 and COVID-19: Is interleukin-6 (IL-6) the 'culprit lesion' of ARDS onset? What is there besides Tocilizumab? SGP130Fc. *Cytokine X*. 2020 Jun;2(2):100029. doi: 10.1016/j.cyttox.2020.100029.
- 171.- Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Therapeutic targeting of the interleukin-6 receptor. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2012;52:199-219. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010611-134715.z
- 172.- Biran N, et al. Tocilizumab among patients with COVID-19 in the intensive care unit: a multicentre observational study. *Lancet Rheumatol*. 2020 Oct;2(10):e603-e612. doi: 10.1016/S2665-9913(20)30277-0.
- 173.- Guaraldi G, et al. Tocilizumab in patients with severe COVID-19: a retrospective cohort study. *Lancet Rheumatol*. 2020 Aug;2(8):e474-e484. doi: 10.1016/S2665-9913(20)30173-9.
- 174.- Stone H. J., et al. Efficacy of Tocilizumab in Patients Hospitalized with Covid-19. *N Engl J Med*. 2020 Oct 21. doi: 10.1056/NEJMoa2028836.
- 175.- Salvarani C, et al.; RCT-TCZ-COVID-19 Study Group. Effect of Tocilizumab vs Standard Care on Clinical Worsening in Patients Hospitalized With COVID-19

Pneumonia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Intern Med.* 2020 Oct 20:e206615. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.6615.

176.- Piccirillo MC, et al. TOCIVID-19 - A multicenter study on the efficacy and tolerability of tocilizumab in the treatment of patients with COVID-19 pneumonia. Study protocol. *Contemp Clin Trials.* 2020 Oct 6;98:106165. doi: 10.1016/j.cct.2020.106165.

177.- Eu Clinical Trials Register [Internet]. Belgium – FPS Health-DGM. Public register code 2020-001770-30. April 15 2020 (Cited by 30 june 2020). Disponible en: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2020-001770-30/BE#P>

178.-Chines Clinical Trial Registry [Internet]. China. Registration number: ChiCTR2000029765. A multicenter, randomized controlled trial for the efficacy and safety of tocilizumab in the treatment of new coronavirus pneumonia (COVID-19). February 13 2020 (Cited by 30 sept 2020). Disponible en: <http://www.chictr.org.cn/showprojen.aspx?proj=49409>

179.- Della-Torre E, et al.; SARI-RAF Study Group members. Interleukin-6 blockade with sarilumab in severe COVID-19 pneumonia with systemic hyperinflammation: an open-label cohort study. *Ann Rheum Dis.* 2020 Oct;79(10):1277-1285. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-218122.

180.- Antwi-Amoabeng D, Kanji Z, Ford B, Beutler BD, Riddle MS, Siddiqui F. Clinical outcomes in COVID-19 patients treated with tocilizumab: An individual patient data systematic review. *J Med Virol.* 2020 May 21;10.1002/jmv.26038. doi: 10.1002/jmv.26038.

181.- Verstovsek S, Kantarjian H, Mesa RA, Pardanani AD, Cortes-Franco J, Thomas DA, Estrov Z, Fridman JS, Bradley EC, Erickson-Viitanen S, Vaddi K, Levy R, Tefferi A. Safety and efficacy of INCB018424, a JAK1 and JAK2 inhibitor, in myelofibrosis. *N Engl J Med.* 2010 Sep 16;363(12):1117-27. doi: 10.1056/NEJMoa1002028.

182.- Mesa RA. Ruxolitinib, a selective JAK1 and JAK2 inhibitor for the treatment of myeloproliferative neoplasms and psoriasis. *IDrugs.* 2010 Jun;13(6):394-403.

183.- Cao Y, et al. Ruxolitinib in treatment of severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A multicenter, single-blind, randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol.* 2020 Jul;146(1):137-146.e3. doi: 10.1016/j.jaci.2020.05.019.

184.- Choi J, et al. Baricitinib-induced blockade of interferon gamma receptor and interleukin-6 receptor for the prevention and treatment of graft-versus-host disease. *Leukemia.* 2018 Nov;32(11):2483-2494. doi: 10.1038/s41375-018-0123-z.

- 185.- Clinical Trials National Library of Medicine. [Internet]. Multicenter study. Identifier: NCT04401579. A multicenter, Adaptive, Randomized Blinded Controlled Trial of the Safety and Efficacy of Investigational Therapeutics for the Treatment of COVID-19 in Hospitalized Adults (ACTT-2). May 8, 2020 (cited by 30 sept 2020). Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04401579>
- 186.- Chen RC, Tang XP, Tan SY, Liang BL, Wan ZY, Fang JQ, Zhong N. Treatment of severe acute respiratory syndrome with glucosteroids: the Guangzhou experience. *Chest*. 2006 Jun;129(6):1441-52. doi: 10.1378/chest.129.6.1441.
- 187.- Yam LY, Lau AC, Lai FY, Shung E, Chan J, Wong V; Hong Kong Hospital Authority SARS Collaborative Group (HASCOG). Corticosteroid treatment of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *J Infect*. 2007 Jan;54(1):28-39. doi: 10.1016/j.jinf.2006.01.005.
- 188.- Auyeung TW, Lee JS, Lai WK, Choi CH, Lee HK, Lee JS, Li PC, Lok KH, Ng YY, Wong WM, Yeung YM. The use of corticosteroid as treatment in SARS was associated with adverse outcomes: a retrospective cohort study. *J Infect*. 2005 Aug;51(2):98-102. doi: 10.1016/j.jinf.2004.09.008.
- 189.- RECOVERY Collaborative Group, Horby P, Lim WS, Emberson JR, Mafham M, Bell JL, Linsell L, Staplin N, Brightling C, Ustianowski A, Elmahi E, Prudon B, Green C, Felton T, Chadwick D, Rege K, Fegan C, Chappell LC, Faust SN, Jaki T, Jeffery K, Montgomery A, Rowan K, Juszczak E, Baillie JK, Haynes R, Landray MJ. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 - Preliminary Report. *N Engl J Med*. 2020 Jul 17;NEJMoa2021436. doi: 10.1056/NEJMoa2021436
- 190.- Dequin PF, et al.; CAPE COVID Trial Group and the CRICS-TriGGERSep Network. Effect of Hydrocortisone on 21-Day Mortality or Respiratory Support Among Critically Ill Patients With COVID-19: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2020 Oct 6;324(13):1298-1306. doi: 10.1001/jama.2020.16761.
- 191.- Tomazini BM, et al.; COALITION COVID-19 Brazil III Investigators. Effect of Dexamethasone on Days Alive and Ventilator-Free in Patients With Moderate or Severe Acute Respiratory Distress Syndrome and COVID-19: The CoDEX Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2020 Oct 6;324(13):1307-1316. doi: 10.1001/jama.2020.17021.
- 192.- Angus DC, Derde L, Al-Beidh F, et al. Effect of hydrocortisone on mortality and organ support in patients with severe COVID-19: the REMAP-CAP COVID-19 corticosteroid domain randomized clinical trial. *JAMA*. 2020 Oct 6;324(13):1317-1329. doi: 10.1001/jama.2020.17022.

- 193.- WHO Rapid Evidence Appraisal for COVID-19 Therapies (REACT) Working Group, Sterne JAC, et al. Association Between Administration of Systemic Corticosteroids and Mortality Among Critically Ill Patients With COVID-19: A Meta-analysis. *JAMA*. 2020 Oct 6;324(13):1330-1341. doi: 10.1001/jama.2020.17023.
- 194.- Berlin DA, Gulick RM, Martinez FJ. Severe Covid-19. *N Engl J Med*. 2020 May 15. doi: 10.1056/NEJMcp2009575.
- 195.- ARDS Definition Task Force, Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, Camporota L, Slutsky AS. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA*. 2012 Jun 20;307(23):2526-33. doi: 10.1001/jama.2012.5669.
- 196.- Choreaño p et al. Clinical and immunological factors that distinguish COVID-19 from pandemic influenza A (H1N1). *medRxiv* 2020.08.10.20170761; doi: 10.1101/2020.08.10.20170761.
- 197.- Goh NS, Desai SR, Veeraraghavan S, Hansell DM, Copley SJ, Maher TM, Corte TJ, Sander CR, Ratoff J, Devaraj A, Bozovic G, Denton CP, Black CM, du Bois RM, Wells AU. Interstitial lung disease in systemic sclerosis: a simple staging system. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Jun 1;177(11):1248-54. doi: 10.1164/rccm.200706-877OC.
- 198.- Moore OA, Goh N, Corte T, Rouse H, Hennessy O, Thakkar V, Byron J, Sahhar J, Roddy J, Gabbay E, Youssef P, Nash P, Zochling J, Proudman SM, Stevens W, Nikpour M. Extent of disease on high-resolution computed tomography lung is a predictor of decline and mortality in systemic sclerosis-related interstitial lung disease. *Rheumatology (Oxford)*. 2013 Jan;52(1):155-60. doi: 10.1093/rheumatology/kes289.
- 199.- Hoffmann-Vold AM, Aaløkken TM, Lund MB, Garen T, Midtvedt Ø, Brunborg C, Gran JT, Molberg Ø. Predictive value of serial high-resolution computed tomography analyses and concurrent lung function tests in systemic sclerosis. *Arthritis Rheumatol*. 2015 May;67(8):2205-12. doi: 10.1002/art.39166.
- 200.- Chawla LS, et al.; Acute Disease Quality Initiative Workgroup 16. Acute kidney disease and renal recovery: consensus report of the Acute Disease Quality Initiative (ADQI) 16 Workgroup. *Nat Rev Nephrol*. 2017 Apr;13(4):241-257. doi: 10.1038/nrneph.2017.2.
- 201.- Liu F, Li L, Xu M, Wu J, Luo D, Zhu Y, Li B, Song X, Zhou X. Prognostic value of interleukin-6, C-reactive protein, and procalcitonin in patients with COVID-19. *J Clin Virol*. 2020 Jun;127:104370. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104370.

- 202.- Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE, Vadas L, Pugin J; Geneva Sepsis Network. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Aug 1;164(3):396-402. doi: 10.1164/ajrccm.164.3.2009052.
- 203.- Kamat IS, Ramachandran V, Eswaran H, Abers MS, Musher DM. Low procalcitonin, community acquired pneumonia, and antibiotic therapy. *Lancet Infect Dis*. 2018 May;18(5):496-497. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30215-9.
- 204.- Metlay JP, et al. Diagnosis and Treatment of Adults with Community-acquired Pneumonia. An Official Clinical Practice Guideline of the American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019 Oct 1;200(7):e45-e67. doi: 10.1164/rccm.201908-1581ST.
- 205.- Lippi G, Plebani M. Procalcitonin in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis. *Clin Chim Acta*. 2020 Jun;505:190-191. doi: 10.1016/j.cca.2020.03.004.
- 206.- Hu R, Han C, Pei S, Yin M, Chen X. Procalcitonin levels in COVID-19 patients. *Int J Antimicrob Agents*. 2020 Aug;56(2):106051. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106051.

13.-ANEXOS

Se anexa la hoja de recolección de datos

Características clínicas, ventilatorias, imagenológicas y microbiológicas asociadas a la respuesta inflamatoria mediada por interleucina 6 en pacientes con infección moderada-grave por SARS-CoV2

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Ismael Cosío Villegas"

Nombre: _____

Género: _____ Edad: _____

No. Expediente: _____ Fecha de nacimiento (dd/mm/aaaa): _____

Fecha de ingreso a urgencias: _____

Fecha de ingreso a pabellón: _____

Fecha de ingreso a UCIR: _____

Fin de seguimiento: _____

Infección por SARS-CoV 2 positiva: _____

1.- Somatometría

Peso: _____ Talla: _____ IMC: _____

2.- Comorbilidades

Sobrepeso	
Obesidad	
Diabetes	
Hipertensión arterial sistémica	
EPOC	
Asma	
Tabaquismo	
Índice tabáquico	
VIH	
Otros	

4.- Signos y gasometría al ingreso

Frecuencia cardíaca	
Frecuencia respiratoria	
Presión arterial media	
PaO2/FiO2	
Lactato	

3.-Padecimiento actual

Evolución preingreso	
Uso de AINES	
Antibiótico previo	
Corticoesteroide previo	
Tos	
Artromialgias	
Disnea	
Faringodinia	
Espujo	
Hemoptisis	
Diarrea	
Anosmia	
Ageusia	
Cefalea	
Fiebre	

5.- Datos de tomografía

Fecha de tomografía: _____

5.1.- CT score

Lóbulo	Puntuación del 0 al 5
Inferior derecho	
Medio	
Superior derecho	
Inferior izquierdo	
Superior izquierdo	
Total	

5.2.- GH0 modificado

Corte	% afección	% vidrio deslustrado	% consolidación
1			
2			
3			
4			
5			
Total			

6.-Ventilación mecánica

Uso de ventilación mecánica invasiva: _____

Fecha de intubación: _____

Fecha de extubación: _____

Traqueostomía: _____

Criterios de Berlín para SDRA: _____

Prono en los primeros 5 días	
Respuesta al prono	
Distensibilidad estática mayor o igual a 40	
Distensibilidad estática	
Presión plateau	
Driving pressure	
Ventilatory ratio	

7.- Laboratorio

7.1.- Linfocitos

Al ingreso	
2do día	
3er día	
4to día	
5to día	
Recupera linfos	
Caen linfos	

7.2.-

Leucocitos	
Plaquetas	
Hemoglobina	
TGO	
TGP	
DHL	
Albúmina	
CPK	
Glucosa	
Hemoglobina glicada	
Ácido úrico	
Creatinina	
Urea	
BUN	
Fibrinógeno	
BNP	
PCR al ingreso	
PCR a las 48 horas	
Ferritina al ingreso	
Ferritina a las 48 horas	
Procalcitonina al ingreso	
Procalcitonina a las 48 horas	
Dímero D al ingreso	
Dímero D a las 48 horas	
Troponina al ingreso	

8.- Interleucina 6

- Fecha de toma: _____
- Valor: _____

9.- Desenlaces

- Lesión renal aguda: _____
- Hemodiálisis: _____
- Muerte a los 30 días: _____
- Muerte a los 60 días: _____

10.- Análisis de Ct

- Fecha de toma de muestra: _____
- Tipo de muestra: _____
- Valor de CTs: _____
- Gen amplificado: _____

11- Otros:

- APACHE II al ingreso:
- SOFA al ingreso:
- ISTH al ingreso:
- SIC al ingreso:
- Uso de esteroide durante hospitalización:
- Días de esteroide:
- Kaletra:
- Tocilizumab:
- Remdesivir:
- Hidroxicloroquina:

Fecha de Tocilizumab:

Dosis de tocilizumab: