

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA “ALBERTO CAZORLA TALLERÍ”



**“VALOR PREDICTIVO DEL RATIO NEUTRÓFILO/LINFOCITO, RATIO
PLAQUETA/LINFOCITO Y VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO SOBRE LA MORTALIDAD
DE PACIENTES COVID-19 ATENDIDOS EN EL HOSPITAL CAYETANO HEREDIA”**

AUTORA

BSc. Camila Cecilia Rojo Fleming

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Biología

ASESORA

MSc. Dulce E. Alarcon Yaquette

CO ASESOR

Dr. Germán Málaga

Lima – Perú

2022

Índice

| | | |
|----------|-----------------------------------------------------------|----|
| 1. | Resumen..... | 5 |
| 2. | Abstract | 7 |
| 3. | Introducción..... | 9 |
| 4. | Marco teórico..... | 12 |
| 4.1. | SARS-CoV-2: Estructura y generalidades..... | 12 |
| 4.1.1. | Estructura | 12 |
| 4.2. | Mecanismo de infección | 13 |
| 4.2.1. | Mecanismo de interacción: Virus - Célula..... | 13 |
| | Evolución de la enfermedad | 14 |
| 4.2.2. | Mecanismo de contagio: Humano - Humano..... | 14 |
| 4.3. | Patogénesis | 15 |
| 4.3.1. | Sintomatología | 15 |
| 4.4. | Respuesta inmune e inflamatoria | 16 |
| 4.4.1. | Respuesta inmunológica innata | 16 |
| 4.4. | Hemograma automatizado | 29 |
| 4.5. | La pandemia de la COVID-19..... | 29 |
| 4.6. | Epidemiología de COVID-19 | 31 |
| | Epidemia en Perú 31 | |
| 4.7.1. | Principales indicadores | 32 |
| 4.7.1.1 | Sensibilidad | 32 |
| 4.7.1.2. | Especificidad..... | 32 |
| 4.7.1.3. | Valor predictivo positivo y negativo | 32 |
| 4.7.2. | Puntos de corte | 32 |
| 4.7.3. | Curva ROC, AUC y Prueba de DeLong | 33 |
| 5. | Pregunta de Investigación/Problema de Investigación | 33 |
| 6. | Objetivos | 33 |
| 6.1. | General..... | 33 |
| 6.2. | Específicos | 34 |
| 7. | Métodos | 34 |
| 7.1. | Tipo de estudio y diseño | 34 |
| 7.2. | Población y muestra de estudio..... | 34 |

| | | |
|------|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 7.3. | Análisis y procesamiento de datos..... | 35 |
| 8. | Resultados..... | 38 |
| 8.1. | Características generales de la población de estudio..... | 38 |
| 8.2. | Análisis comparativo de NLR, PLR y VPM según desenlace..... | 41 |
| 8.3. | Análisis de regresión de NLR, PLR y VPM sobre la tasa de mortalidad por COVID-19 | 43 |
| 8.4. | Poder predictivo de los biomarcadores sobre la tasa de mortalidad..... | 44 |
| 9. | Discusión..... | 49 |
| 10. | Conclusiones..... | 55 |
| 11. | Financiamiento..... | 55 |
| 12. | Referencias..... | 56 |

Índice de tablas

| | | |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 1. | Valores de NLR en población adulta normal y enferma | 25 |
| Tabla 2. | Valores normales y patológicos de marcadores estudiados | 28 |
| Tabla 3. | Hallazgos en pacientes COVID-19 | 28 |
| Tabla 4. | Operacionalización de Variables | 37 |
| Tabla 5. | Comparación de comorbilidades y medicación previa a la hospitalización de fallecidos y no fallecidos | 39 |
| Tabla 6. | Análisis Bivariado de las características generales de los pacientes COVID-29 al momento de la hospitalización en HCH | 40 |
| Tabla 7. | Análisis Bivariado de las líneas celulares y variables hematológicas de los pacientes COVID-19 al momento de la hospitalización | 42 |
| Tabla 8. | Análisis de regresión de marcador NLR, PLR y VPM sobre mortalidad por COVID-19 | 43 |
| Tabla 9. | Criterio de Información de Akaike (AIC) y Análisis de Post Estimación Hosmer y Hemeshow | 44 |
| Tabla 10. | Puntos de corte, Sensibilidad y Especificidad de marcadores estudiados | 46 |
| Tabla 11. | Comparación de desenlace según nivel de NLR | 46 |

Índice de figuras

| | | |
|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. | Modelo Bivariado. Curvas ROC de variables hematológicas sobre mortalidad | 47 |
| Marcador no definido. | | |
| Figura 2. | Modelo Bivariado. Curvas ROC NLR, PLR y VPM crudo sobre mortalidad | 47 |

Figura 3. Modelo Multivariado. Curva ROC de modelo NLR ajustado por sexo y edad sobre mortalidad 48

Figura 4. Modelo Multivariado. Curva ROC de modelo NLR ajustado por sexo, edad y número de comorbilidades sobre mortalidad 48

1. Resumen

SARS-CoV-2, el virus responsable por la pandemia del COVID-19, induce una respuesta inflamatoria e inmune adaptativa que desencadena una variación en la expresión de citoquinas proinflamatorias. En consecuencia, se genera un desbalance en la proliferación de células inmunes como linfocitos y neutrófilos y también plaquetas a nivel sistémico. Hay precedentes del uso de biomarcadores como el ratio neutrófilo linfocito (NLR), plaqueta linfocito (PLR) y volumen plaquetario medio (VPM) para predecir y diagnosticar el desenlace de diversas patologías inflamatorias agudas y crónicas. Por ello este estudio tiene la finalidad de identificar el poder predictivo de NLR, PLR y VPM sobre la mortalidad en una cohorte de pacientes COVID-19 atendidos en el Hospital Cayetano Heredia (HCH) en Lima, Perú.

El presente estudio es un análisis primario de una base de datos de un estudio de cohorte prospectivo (SIDISI 204190), que reclutó 100 pacientes COVID-19 internados en el HCH entre octubre del 2020 y enero del 2021. Este trabajo hace uso de los conteos absolutos iniciales de neutrófilos, linfocitos y plaquetas para calcular los valores de NLR, PLR y VPM. Se realizaron pruebas t-student para comparar los valores según desenlace y se presentan áreas bajo la curva (AUC) con sus intervalos de confianza 95% para determinar el poder predictivo de estos marcadores sobre la mortalidad.

Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre neutrófilos, linfocitos, plaquetas, amplitud de distribución eritrocitaria (ADE) y el NLR entre los fallecidos y no fallecidos. Los valores de neutrófilos, ADE y NLR en el grupo de fallecidos aumenta con respecto al grupo de sobrevivientes. De la misma manera, se presenta una reducción en linfocitos y plaquetas en el grupo fallecido por COVID-19. No se evidencian diferencias significativas en los valores de los biomarcadores PLR y VPM entre el grupo fallecido ($p = 0.053$) y el grupo de no fallecidos ($p = 0.07$). El biomarcador NLR obtuvo el mejor AUC en el modelo ajustado por sexo, edad y número de comorbilidades, con un valor de 0.945 [0.88-1.00]. Con una especificidad de 76.82% y una sensibilidad de 100%.

El punto de corte del ratio NLR para la clasificación es 8.91 Esto nos lleva a concluir que el ratio NLR tiene poder predictivo sobre la mortalidad de pacientes COVID-19.

Palabras clave: COVID-19, ratio neutrófilo – linfocito, ratio plaqueta – linfocito, volumen plaquetario medio, mortalidad.

2. Abstract

SARS-CoV-2 is the virus that is responsible for the current COVID-19 pandemic, it induces an inflammatory and adaptive immune response that leads to a variation in the proinflammatory cytokine expression. Therefore, there is an imbalance in the proliferation of immune cells, such as lymphocytes and neutrophils, as well as platelet production at a systemic level. There are precedents of the use of biomarkers like the neutrophil to lymphocyte ratio (NLR, platelet to lymphocyte ratio (PLR) and medium platelet volume to predict and diagnose the outcome of different acute and chronic inflammatory pathologies, because of their accessibility and low cost. For these reasons this study has the objective to identify the predictive value of NLR, PLR and VPM over the mortality of a COVID-19 patient cohort that were admitted to Cayetano Heredia National Hospital (HCH) in Lima Peru.

The present investigation is a primary analysis of a data base from a prospective cohort study (SIDISI: 204190). This principal study analyzed a cohort of 100 COVID-19 patients that were confirmed by a serological or molecular COVID -19 test and were interned at the HCH during the months of October 2020 and January 2021. We used the neutrophil, lymphocyte, and platelet absolute count from the automated hemogram to calculate NLR, PLR and VPM values. We present T-Student tests as well as Areas under the curve (AUC) with a 95% confidence interval to determine the predictive value of the biomarkers of interest.

Our results show statistically significant differences ($p < 0.05$) in neutrophils, lymphocytes, red blood cell distribution width (RDW), platelets and NLR between the deceased and survivor groups. We observed an increase in the neutrophil concentration, RDW and NLR values in the deceased group versus the control group. There was also a reduction in the absolute lymphocyte and platelet count in the deceased COVID-19 group. There were no significant differences in the other biomarker values, PLR and VPM, between groups, $p = 0.053$ and $p = 0.07$ respectively. The NLR biomarker obtained the best AUC value in the model adjusted by sex, age, and number of comorbidities, with

a value of 0.945 [0.88-1.00], specificity of 76.82% and sensitivity of 100%. The cutoff value for the classification of NLR was 8.91. With these results we conclude that NLR has a predictive value over the mortality of COVID-19 patients.

Keywords: COVID-19, neutrophil to lymphocyte ratio, platelet to lymphocyte ratio, medium platelet volume, mortality.

3. Introducción

Los coronavirus son una subfamilia de virus que está compuesta de patógenos responsables por tres enfermedades graves que han surgido en los últimos 20 años. Dichas enfermedades incluyen al SARS del 2002 que fue causado por el virus SARS - CoV, al MERS que ocurrió en el 2012 y fue provocado por el patógeno MERS - CoV, y al actual COVID-19, ocasionado por el SARS - CoV - 2, cuyo brote inició en diciembre del 2019. El virus se transmite fácilmente entre humanos debido a su ruta de transmisión: al entrar en contacto directo o indirecto con la mucosa y/o saliva de una persona contagiada (1). La infección produce una serie de complicaciones respiratorias. La principal es el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA). Se caracteriza por ser una condición pulmonar, específicamente alveolar, que afecta la frecuencia respiratoria que genera a su vez, una inadecuada saturación de oxígeno en la sangre (2).

Se conoce que el mecanismo de invasión del SARS-CoV-2 consiste en infectar células endoteliales de la vía respiratoria, mediante el reconocimiento de la proteína Spike del virus, ubicada en la membrana celular de las células mencionadas (3). Debido a que se trata de una infección respiratoria que causa daño alveolar con la destrucción epitelial y endotelial, SDRA se manifiesta como resultado de la destrucción celular causada por la respuesta inflamatoria sistémica aguda (4).

SARS-CoV-2 es el agente infeccioso que ocasiona el evento inflamatorio que induce a la respuesta inmune adaptativa. La respuesta inmune puede provocar un desbalance en la homeostasis inmune. Este desbalance genera una variación sistémica en la proliferación de células inmunes como linfocitos, neutrófilos y plaquetas. Como consecuencia, se produce un cambio en la expresión de citoquinas proinflamatorias (4).

Para esta investigación se han elegido 3 biomarcadores para evaluar y asociar a la muerte de pacientes COVID-19: ratio neutrófilo/linfocito, ratio plaqueta/linfocito y volumen plaquetario medio. Se han seleccionado porque se conoce cómo varían en condiciones de inflamación severa y en COVID-19. Asimismo, por la información que

está disponible sobre las funciones y los niveles de proliferación de los neutrófilos, linfocitos y plaquetas en eventos de infección e inflamación.

Los índices neutrófilo/linfocito (NLR) y plaqueta/linfocito (PLR) son indicadores de la respuesta inflamatoria sistémica (5). Han sido utilizados para cuantificar y predecir el nivel inflamatorio, ya sea agudo o crónico, en múltiples patologías como cáncer de múltiples tipos, diabetes mellitus e infecciones sistémicas (6–9). El marcador PLR es novedoso y útil para predecir eventos inflamatorios y mortalidad (10,11). En recientes estudios realizados en China, se ha determinado que ambos índices son indicadores para predecir el estado inflamatorio en casos COVID -19 (4).

Al igual que los ratios mencionados, el volumen plaquetario medio (VPM) es otro biomarcador que refleja la producción de plaquetas y el nivel de inflamación sistémica (11). VPM ha sido utilizado para diagnosticar enfermedades inflamatorias crónicas como tumores, diabetes, enfermedades cardíacas y cerebrovasculares, entre otras (11). El artículo de Ozder (2020) concluye que el VPM sería un marcador útil para identificar COVID-19 en diabéticos (12). El estudio compara el biomarcador con un grupo de pacientes con otro tipo de infecciones de tracto respiratorio superior (No COVID-19) (13) y concluye que sería útil para un pronóstico temprano, costo-efectivo y específico de COVID-19 en pacientes diabéticos en el primer nivel de atención (13). Por otro lado, otros artículos han asociado los niveles del marcador con la severidad y el desenlace de la enfermedad. Si bien es cierto, esta evidencia es aún insuficiente para asegurar categóricamente la utilidad diagnóstica del marcador, si justifica mayores estudios para corroborar estos hallazgos (13–15).

Según el reporte epidemiológico más reciente de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (21 de noviembre, 2021), se han confirmado más de 256 millones de casos de COVID-19 y más de 5.14 millón de muertes mundialmente (16,17). Semanalmente hay 3.6 millones nuevos casos (16). En el Perú, hasta el 25 de noviembre del presente año, se han reportado aproximadamente 2.2 millones de casos de COVID-19 y alrededor de 200 mil fallecidos; la tasa de incidencia de infección por SARS-CoV-2, en lima, es de

9168,20 infectados por cada 100,000 habitantes (17). Durante varios meses, el Perú llegó a ser el país con la peor tasa de mortalidad por COVID-19 por número de habitantes en el mundo. A lo largo de la pandemia se ha mantenido entre los 20 países con la tasa más alta de mortalidad por cada 100 mil habitantes en el mundo. Actualmente con una cifra de 618.71 muertes por cada 100 mil personas y una tasa de caso – fatalidad del 9.0% (19).

El patrón de crecimiento de casos confirmados y la alta tasa de mortalidad relacionada al SARS-CoV-2 son preocupantes y se debe proponer una forma para predecir un caso fatal, para tratar al paciente temprana e intensivamente y prevenir su fallecimiento, asimismo reducir la tasa de mortalidad por COVID-19 en el país. Conociendo que nuestro país tiene una alta tasa de mortalidad por COVID -19, además que esta enfermedad genera una respuesta inflamatoria e inmune, se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿El ratio neutrófilo/linfocito, plaqueta/linfocito y el volumen plaquetario medio tendrán un poder predictivo sobre la mortalidad de pacientes infectados por SARS-CoV-2?

4. Marco teórico

4.1. SARS-CoV-2: Estructura y generalidades

4.1.1. Estructura

El coronavirus tipo 2 responsable del síndrome respiratorio agudo grave o SARS- CoV-2 pertenece a la familia Coronaviridae y específicamente, al género β -coronavirus, junto con otros virus como SARS-CoV y MERS-CoV (1,2). Este género, a diferencia del α - coronavirus, tiene la habilidad de infectar a humanos y otras especies y ya han causado dos epidemias el 2003 y el 2012 (1,3,18).

Los coronavirus reciben este nombre por su aspecto microscópico donde se pueden observar unas proteínas en forma de picos en su envoltura que tienen un parecido a una corona. El SARS-CoV-2 es un virus de ARN de hebra simple en sentido positivo; su genoma es de aproximadamente 30 Kb (2–4). Sus genes codifican para formar proteínas estructurales y no estructurales. Estructuralmente, el virus posee 4 proteínas principales: la glicoproteína S de *spike*, la glicoproteína E de envoltura, la glicoproteína M de membrana y la proteína de la nucleocápside N (4).

La proteína *Spike* es la que le da la apariencia típica a este género y es conservada entre todos los coronavirus que infectan a humanos (3). Consiste en un dominio transmembrana anclado a la membrana. Esta glicoproteína forma homotrímeros que forman protuberancias en toda la superficie del virus. *Spike*, a su vez, está compuesta de dos subunidades: S1 y S2. La subunidad 1 tiene la función de unirse y anclarse a la célula a infectar. La segunda subunidad se encarga de la fusión de las membranas del virus con la de la célula hospedera. Entre las subunidades existe un sitio de clivaje que se denomina S1/S2; esta ruptura ocurre debido a proteasas de la célula blanco y de esta manera se activa a la proteína *Spike* del virus cuando se ancla al receptor ACE2 de la célula del huésped (3–6). Este clivaje es indispensable para que se dé la fusión de membrana del virus con la de la célula blanco (5).

La proteína de la nucleocápside es expresada durante las primeras etapas de infección. La nucleocápside tiene la función de unirse directamente al ARN del virus para formar un núcleo de ribonucleoproteína. Esta proteína está involucrada en el ciclo de replicación del virus y la respuesta celular de las células invadidas, otra función es que se asocia a la proteína de la membrana M (4).

La proteína más abundante, de todos los coronavirus es la proteína de membrana “M” que forma la bicapa estructural y se une a la proteína de la Envoltura viral. Tiene la capacidad de unirse a las demás proteínas estructurales del virus (envoltura, *spike* y nucleocápside), esto brinda estabilidad a las proteínas de nucleocápside durante el ensamblaje del virus (4,7).

Por último, la glicoproteína de envoltura “E”, es la proteína estructural más pequeña del SARS-CoV-2. Tiene múltiples funciones, se puede oligomerizar y formar un canal iónico. También actúa durante el ensamblaje del virus, es decir, durante la producción y maduración viral; liberación de viriones y tiene un rol crítico en la patogénesis (4,7).

4.2. Mecanismo de infección

4.2.1. Mecanismo de interacción: Virus - Célula

El mecanismo de invasión del virus, en términos generales, requiere de la unión de la proteína *Spike* con el receptor celular ACE2 del hospedero para permitir la fusión de membranas, invasión y luego la replicación del virus. Para la invasión inicial de la célula huésped, esta célula no solo debe expresar el receptor ACE2, sino que también la enzima TMPRSS2. Ésta es una proteasa transmembrana de serina 2 que interactúa con el receptor aportándole la facilidad de contagio y patogenicidad. Es expresada, al igual que el receptor ACE2, en el epitelio de la vía respiratoria y facilita la entrada del SARS-CoV-2 a neumocitos y macrófagos alveolares y células endoteliales vasculares (6,19).

La glicoproteína *Spike* es clivada en el sitio S1/S2 por una furina - enzima que activa la proteína- y luego se une al receptor ACE2. TMPRSS2 también se une al receptor

permitiendo el ingreso del SARS-CoV-2 a la célula huésped (6). Cuando el virus traspasa la membrana celular por endocitosis, es transportado mediante endosomas y/o lisosomas por el citoplasma. Se libera el genoma viral para la traslación, replicación y ensamblaje (6). SARS-CoV-2 utiliza los ribosomas de la célula huésped para la traslación de la proteína polimerasa; luego comienza la replicación viral mediante vesículas de doble membrana derivadas del retículo endoplasmático. Durante esta etapa, el genoma viral en sentido positivo sirve como plantilla para generar la hebra negativa. La formación del ARN en sentido negativo resultará en la transcripción subgenómica, es decir de las proteínas estructurales del SARS-CoV-2. Esto luego será insertado en un compartimento del Retículo endoplasmático - Aparato de Golgi para el ensamblaje de nuevos viriones. El último paso de la formación de nuevas partículas virales es la incorporación del ARN. Finalmente, los nuevos viriones son expulsados del citoplasma mediante exocitosis (6,19).

Evolución de la enfermedad

Después de la exposición al SARS-CoV-2, el periodo de incubación puede variar entre 3 a 7 días, pero existen casos donde dura hasta 14 (20,21). Durante este período ocurre la invasión, replicación y ensamblaje del virus, asimismo, un aumento en la carga viral. La carga viral se correlaciona con la transmisibilidad entre humanos (21). Al culminar esta etapa de la infección, se pueden clasificar a los pacientes en sintomáticos o asintomáticos. Los sintomáticos pueden presentar cuadros leves, moderados o severos (22,23). La duración de la etapa infecciosa puede ser entre 7 a 14 días desde la aparición de los síntomas o desde la prueba PCR positiva. Con el avance de los días, la carga viral disminuye (24). A la par, hay un aumento de inflamación sistémica, que dependerá del cuadro clínico de cada individuo.

4.2.2. Mecanismo de contagio: Humano - Humano

El alto número de casos a nivel mundial de COVID-19 se debe a la facilidad de transmisión entre individuos. El mecanismo de transmisión principal es mediante gotículas provenientes del tracto respiratorio que se expulsan y se quedan suspendidas en el aire durante un periodo de tiempo corto, de manera que forman un aerosol (19). La expulsión de estas gotículas con el virus puede provocarse al hablar, estornudar y

toser; asimismo, el contagio se puede dar por entrar en contacto con la saliva o lágrimas de un infectado (25,26).

4.3. Patogénesis

4.3.1. Sintomatología

Los síntomas que se desarrollan durante la enfermedad se deben a la alta afinidad que tiene el SARS-CoV-2 por células epiteliales del sistema respiratorio superior e inferior. De esta manera, la manifestación respiratoria es mediante sinusitis, rinitis, anosmia, ageusia, faringitis; y en cuadros moderados y severos se puede desarrollar disnea, dolor torácico, neumonía e incluso SDRA (2,19). Sin embargo, el receptor ACE2 no se encuentra únicamente en el tracto respiratorio superior, es decir las células epiteliales bronquiales, alveolares y neumocitos, sino que también en células miocárdicas (21). Por lo tanto, la infección puede estar acompañada de síntomas cardíacos y neurológicos, como el dolor torácico y arritmia, mareos, cefalea y pérdida de consciencia, respectivamente (2,19,21). Ya que el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) se encuentra en los enterocitos del intestino delgado y esófago superior, se puede evidenciar el desarrollo de diarrea, náuseas, vómitos y dolor abdominal.

El cuadro de infección por SARS-CoV-2 se puede clasificar clínicamente, según sus marcadores clínicos y síntomas, en 5 grupos: Asintomático, leve, moderado, severo y crítico. El grupo asintomático se reconoce mediante una prueba PCR de COVID-19, sin síntomas comunes de la enfermedad y con una radiografía torácica normal. Los casos leves son los más frecuentes, en donde el individuo desarrolla múltiples síntomas mencionados anteriormente; sin embargo, no presenta una disnea o una radiografía torácica anormal. Una infección moderada por COVID-19 puede presentar neumonía sin hipoxemia ($SpO_2 \geq 94\%$), y a diferencia de los otros grupos clínicos, este sí presenta una radiografía de tórax con lesiones (21,23).

Los cuadros más graves como el severo y crítico se caracterizan por requerir de internamiento hospitalario debido a los síntomas que presentan. Un paciente con

COVID-19 severo puede diagnosticarse mediante una frecuencia respiratoria de más de 30 rpm, neumonía con hipoxemia ($SpO_2 \geq 94\%$), una tasa de presión parcial arterial de oxígeno con respecto a la fracción de oxígeno inspirado (PaO_2/FiO_2) menor a 300 mmHg. En un estado crítico de COVID-19 puede desarrollar encefalopatía, lesiones miocárdicas, insuficiencia cardíaca, renal o de múltiples órganos y SDRA (19,21,23) El síndrome de distrés respiratorio agudo es una insuficiencia respiratoria que ocurre en pacientes críticos. Se genera cuando los alvéolos acumulan líquido e impide la ventilación adecuada de los pulmones, por lo tanto, no ocurre correctamente el intercambio gaseoso al nivel capilar. El diagnóstico de este síndrome consiste en la presencia de un edema pulmonar, hipoxemia, aumento en la frecuencia respiratoria y requerimiento de ventilación mecánica. Según el protocolo de Berlín, el paciente debe presentar opacidades bilaterales del tórax e hipoxemia (PaO_2/FiO_2 menor a 300 mmHg). Esta hipoxemia se categoriza en 3 niveles: leve (PaO_2/FiO_2 de 201-300), moderado (PaO_2/FiO_2 de 101-200) y severo (PaO_2/FiO_2 menor o igual a 100 mmHg) (27).

4.4. Respuesta inmune e inflamatoria

Inmediatamente después del ingreso del SARS-CoV-2 al organismo y la invasión celular del huésped, inicia la estimulación del sistema inmune innato para producir una respuesta y protección contra este. El mecanismo de activación del sistema inmune está compuesto por varias etapas y sistemas complementarios (28). La inmunidad innata es la primera respuesta y defensa (29).

4.4.1. Respuesta inmunológica innata

La respuesta inmune innata se describe como el sistema de respuesta rápida contra el ingreso de cualquier patógeno al organismo. Se encarga del reclutamiento de células inmunes al sitio de infección, que actúan de forma general y específica. Este sistema incluye células específicas como neutrófilos, células natural killer (NK), macrófagos, entre otros, que producen proteínas como interferones (IFN), citoquinas proinflamatorias, quimioquinas y anticuerpos (28,29). Estos tipos celulares tienen una función similar durante esta respuesta, la cual es limitar la dispersión de la infección viral y su replicación, esto lo logra mediante su acción citotóxica para atacar a las células

infectadas, induciendo la apoptosis de células infectadas. A la vez estimulando la producción de citoquinas la activación de la respuesta inmune adaptativa (28,30,31).

Como parte de la respuesta inmune innata, primero debe darse el reconocimiento del patógeno o componente extraño. En el caso del SARS-CoV-2, la proteína *Spike* es glicosilada con glicanos ricos en manosa, con la finalidad de brindarle estabilidad y también una forma de protección contra mecanismos inmunes del huésped. Junto al sistema inmune innato, se activa el sistema complementario. Una vía de reconocimiento del sistema complementario es mediante la activación de una lectina unida a manosa (MBL), cuya función es reconocer residuos de manosa en la membrana del patógeno, activando la respuesta inflamatoria y fagocitosis (28,32). Debido a que el SARS-CoV-2 presenta gran cantidad de glicanos ricos en manosa en el sitio S1 de la proteína *Spike*, se especula que hay una interacción entre MBL - S1 y el receptor ACE2 (28,32).

Interferón

Entre los primeros en responder están los interferones (IFN) que tienen como función limitar la dispersión de la infección viral, esto es mediante sus actividades antiproliferativas e inmunomoduladoras del sistema inmunológico innato y adaptativo (33,34). Los IFN tipo I son producidos por toda célula con núcleo ante cualquier infección. Logran controlar y limitar la dispersión de la infección entre células, brindan resistencia viral a las células infectadas y sanas mediante una acción autocrina y paracrina respectivamente, activan mecanismos de apoptosis para eliminar a las células infectadas, asimismo, activan a las células natural killer (NK) para trabajar en conjunto y potenciar su citotoxicidad (28,34).

Los interferones tipo III también forman parte de la respuesta inmune innata ante la invasión del SARS-CoV-2 (34). La expresión de los receptores de este tipo es más específica y restringida; a diferencia del tipo I, controlan solamente la diseminación local de la infección, ya que su expresión es limitada (28,34). Los receptores de los INF-III son expresados principalmente en barreras de tejido mucoso como el tracto respiratorio y gastrointestinal, entre estos sistemas se presentan únicamente en células epiteliales,

neutrófilos, células dendríticas, macrófagos y células B. Debido a su selectividad de expresión, se podría sugerir que los IFN de tipo III actúan de manera más específica en la respuesta inmune (28,34).

Los interferones tipo III tienen un rol especial en la respuesta inmune de los pulmones. Su mecanismo de activación es diferente, ya que se producen cuando la carga viral aún es baja. Esto sirve para prevenir que la infección del tracto respiratorio superior se esparza a los pulmones (28).

Citoquinas

Las citoquinas también forman parte de la primera línea de defensa contra esta infección (35). Estas proteínas son producidas por múltiples células del sistema inmune innato y adaptativo. Las células del sistema innato producen citoquinas de tipo proinflamatoria, cuya función es inhibir la replicación del SARS-CoV-2 y estimular la respuesta inmune adaptativa. Se conoce que cuando los niveles de estas proteínas junto a los de IFN puede generar una tormenta de citoquinas y esto como consecuencia lleva a la migración de neutrófilos, células T, macrófagos, entre otros al sitio de la infección (35).

Las citoquinas proinflamatorias secretadas por las células inmunes son TNF-alpha, IL-6, IL-8, IL-1B, las citoquinas antiinflamatorias son IL-10 e IL-4 (36). Estas células también liberan quimioquinas como CCL20, CXCL1, CXCL2 (38). Las citoquinas proinflamatorias son aquellas que inician la respuesta inflamatoria y las antiinflamatorias inhiben y regulan esta acción. Se puede dar la sobreproducción de estas y este fenómeno está asociado con un pobre desenlace de la enfermedad (37). Entre las citoquinas más importantes en la enfermedad COVID-19, están IL-1, TNF e IL-6 (38). Se ha observado que durante la infección por SARS-CoV-2, los niveles plasmáticos de estas moléculas aumentan y aún más en cuadros clínicos severos (39). Específicamente, niveles elevados de IL-6 están asociados con un pobre desenlace de la enfermedad, desarrollo de SDRA y un mayor riesgo a morir (40). De igual manera, en un estudio que investigó casos severos de COVID-19 que terminaron ingresando a UCI, reportó que estos pacientes presentaron niveles altos de citoquinas proinflamatorias y que esto tiene como consecuencia un cuadro más severo (41).

A partir de un estudio que analizó anatómicamente a los pacientes fallecidos por COVID-19, fue reportado que presentaban daño tisular en el tracto respiratorio inferior, esto se podría explicar por una respuesta inflamatoria severa y una tormenta de citoquinas (42). Una tormenta de citoquinas se denomina a la hiperproducción y liberación de citoquinas proinflamatorias a nivel local y sistémico, junto con una falla en la regulación de ello y la resolución de la inflamación (43). El síndrome está acompañado de la hiperactivación de células NK, macrófagos y linfocitos. Esta patología puede ocasionar apoptosis de las células del tejido afectado (43). En una infección por SARS-CoV-2, aquel paciente que desarrolla una tormenta de citoquinas tiene mayor probabilidad de presentar un edema alveolar y estar en condiciones hipóxicas (36).

Durante una tormenta de citoquinas aumentan los niveles plasmáticos de IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-alpha. El aumento lleva a la hiperinflamación ya que hay un reclutamiento excesivo y pronto de células inmunes e inflamatorias, como los linfocitos T, linfocitos B y macrófagos, sobre todo en la zona de invasión, que en este caso serían los neumocitos (36).

La presencia de la tormenta de citoquinas en pacientes severos COVID-19 aún sigue en investigación y debate. Algunos estudios reportan que estos pacientes sí desarrollan dicho síndrome inflamatorio y que la hipercitoquinemia (niveles elevados de citoquinas) produce los síntomas del COVID-19 severo y crítico: neumonía, fallo pulmonar y de otros órganos, SDRA y finalmente la muerte (36). Por otro lado, existen investigadores que critican la presencia del síndrome en pacientes COVID-19, reportando que no hay evidencia del desarrollo de éste (43). Mencionan que la respuesta inflamatoria de la infección por SARS-CoV-2 no coincide con una tormenta de citoquinas típica, ya que los niveles de IL-6 en COVID-19 solo aumentaron aproximadamente 3 veces del valor normal y en una verdadera hipercitoquinemia el aumento puede ser de hasta 1000 veces mayor que el valor típico (44).

Neutrófilos

Los neutrófilos son leucocitos polimorfonucleares (PMN) que componen entre el 50-70% de los leucocitos totales de la sangre (45). Son producidos en la médula ósea para luego entrar a la circulación y cumplir sus funciones esenciales en el sistema inmune innato y también durante la inflamación de algún tejido (46). Son las células inmunes que son reclutadas primero (47). Se cree que los neutrófilos en infecciones virales interactúan con otras células inmunes para potenciar su actividad de defensa. Entre los otros mecanismos de protección está la liberación de citoquinas, desgranulación, ataque de células infectadas por SARS-CoV-2 mediante fagocitosis y liberación de radicales libres de oxígeno (ROS) durante este último (45).

Estas células en su forma activada tienen la capacidad de cumplir su función inmunológica y también en la reparación del epitelio pulmonar donde se replica el SARS-CoV-2. Debido a que este daño tisular ocurre en células pulmonares, se produce una condición de hipoxia en el tejido y esto induce a la migración de neutrófilos. La presencia de neutrófilos en la zona dañada es positiva ya que estimulan la regeneración de este, pero a la vez se pueden presentar efectos adversos como generar la hiperproducción de citoquinas proinflamatorias, así como la concentración de un mayor número de neutrófilos en la condición hipóxica puede inhibir la apoptosis de estas células inmunes (45,46).

En una condición homeostática, el conteo de neutrófilos totales en el cuerpo debe ser entre 1.5 y 6.6×10^3 neutrófilos/ μL de sangre en adultos (48,49). Un estudio llevado a cabo en Berlín que se basó en pacientes COVID-19 de dos cohortes observacionales, determinó que hay un aumento en la cantidad de neutrófilos absolutos en las zonas más afectadas por el virus, como el epitelio de la vía respiratoria superior y también en los pulmones (50,51). De la misma forma, otra investigación realizada en una población china, observó un incremento significativo en el conteo absoluto de neutrófilos en sangre periférica en pacientes con una infección severa por SAR-CoV-2 en su primer día de admisión hospitalaria, en comparación con los demás grupos COVID-19 (leve y moderado) (52). El conteo de neutrófilos es significativamente más alto en casos severos

que en casos moderados de COVID-19 (Neutrófilos $> 6.9 \times 10^3/\mu\text{L}$, $p=0.002$) (56). A partir de estudios publicados se ha podido identificar que durante el proceso de infección de SARS (SARS-CoV-1) ocurre una activación de neutrófilos y de desgranulación, esto explicaría el aumento de este tipo celular. Asimismo, se observó el reclutamiento de estas células inmunes en la infección por SARS-CoV-2. Por otro lado, en un metaanálisis se pudo determinar que los valores altos de neutrófilos en una infección por SARS-CoV-2 se podrían utilizar como predictor de un pobre desenlace por esta enfermedad (45). De la misma manera, un estudio realizado en dos grupos de pacientes COVID-19 que fueron divididos según su admisión a UCI, se observó que hubo un incremento en los niveles de neutrófilos y una disminución de linfocitos en los casos más severos y aquellos que llegaron a la muerte (42,53).

Linfocitos

Los linfocitos son células del sistema inmune que actúan en la respuesta innata como también adaptativa. Existen tres tipos de linfocitos: células *natural killer* (NK), células B y células T (54). Están presentes en la sangre y linfa, pero las células B son producidas en la médula ósea igual que otras células inmunes y las células T en el órgano linfoide llamado timo (54,55).

En una condición normal, los niveles de linfocitos absolutos en sangre deben oscilar entre 1.5 y $3.5 \times 10^3/\mu\text{L}$ (49). En cambio, en la infección por SARS-CoV-2 se ha observado que los pacientes presentan una reducción en la cantidad de linfocitos, en algunos casos llegando a linfopenia (Linfocitos $<1.5 \times 10^3/\mu\text{L}$) (56). A partir de un metaanálisis que estudió la variación en la media del conteo de linfocitos se determinó que había una reducción significativa en este parámetro en los casos severos de COVID-19 (56). De la misma manera, pacientes que no sobrevivían la infección tenían un conteo más bajo que los otros casos no severos (57). Esta reducción podría explicarse porque la infección por SARS-CoV-2 suprime la producción de los linfocitos en la médula ósea o induce la destrucción de estas células, por lo tanto, generando linfopenia (56).

Debido a que se puede observar un patrón en la cantidad de linfocitos en casos severos de COVID-19 y en casos fatales, se determinó que existe una asociación entre la linfopenia y casos severos de esta enfermedad. Asimismo, el conteo de linfocitos se puede utilizar como un marcador pronóstico para predecir el desenlace clínico y severidad de la infección (56,58).

Plaquetas

Las plaquetas son células producidas en la médula ósea, cuyo rol principal es en la hemostasis (59,60). Por otro lado, tienen funciones como la liberación de factores de crecimiento, actividad inmunomoduladora e inflamatoria mediante la liberación de citoquinas para atraer leucocitos, forman agregados con otras células del sistema inmune e influyen en la actividad de los linfocitos B y T (61,62). Se encuentran entre las primeras células en responder ante un daño tisular u organismo extraño.

Se sabe que el virus tiene afinidad por los neumocitos, al invadir este tejido pulmonar causa inflamación y desencadena la activación de plaquetas y formación de trombos. El virus en sí no genera la activación de plaquetas, sino es la respuesta inflamatoria ante la destrucción del tejido y la infección que induce la hiperactividad de las plaquetas (63).

A pesar de la hiperactividad de estas células, está demostrado que los pacientes con COVID-19 con neumonía frecuentemente desarrollan anomalías en la coagulación, como trombocitopenia moderada, es decir una reducción en la cantidad de plaquetas (63). A partir de un estudio realizado en casos severos de COVID-19 se determinó que entre el 58 y 95% de ellos presentaban trombocitopenia (63). El conteo de plaquetas en un individuo sano se debe hallar en el rango de 150 a $450 \times 10^3/\mu\text{L}$ y niveles por debajo de $150 \times 10^3/\mu\text{L}$ se pueden considerar como trombocitopenia (49,64,65).

La coexistencia de esta coagulopatía con la hiperactividad de plaquetas se puede explicar por el aumento en la producción de plaquetas (Hiperactividad) para responder a la inflamación y esto genera un incremento en el consumo o destrucción de ellas (Trombocitopenia) (63,66). En el caso del COVID-19, el tejido afectado es el endotelio

pulmonar que activa el reclutamiento de plaquetas a esta zona y esto estimula la agregación de plaquetas y por lo tanto, formación de microtrombos (67).

Se han determinado posibles mecanismos por los cuales el virus SARS-CoV-2 genera el desarrollo de trombocitopenia, basándose en las respuestas de los huéspedes en cualquier infección viral. Se cree que la inflamación sistémica provocada por la infección interrumpe el microambiente hematopoyético, alterando la producción plaquetaria. Otro mecanismo es mediante la interacción directa del virus con las células madre de las plaquetas, impidiendo su diferenciación. Por último, en presencia de algunos virus, las células B generan anticuerpos anti - plaquetarios, esto resultaría en la destrucción de plaquetas (67–69).

Está demostrado que la trombocitopenia tiene poder predictivo sobre la severidad y mortalidad de múltiples infecciones (70–72). Con respecto al COVID-19, la presencia de trombocitopenia ha sido asociado con un pobre desenlace de los pacientes con esta enfermedad (73).

Ratio Neutrófilo/Linfocito

El Ratio Neutrófilo/Linfocito (NLR) representa la proporción entre el conteo de neutrófilos y linfocitos en la sangre periférica. Este marcador refleja la inflamación mediante el conteo absoluto de neutrófilos y también la inmunidad a partir del conteo de linfocitos (74). Debido a que es un marcador altamente accesible y económico, ya que se puede calcular a partir de un conteo sanguíneo completo de sangre, se utiliza su valor predictor para múltiples enfermedades agudas y crónicas como cáncer, hepatitis, diabetes, sepsis, neumonía viral, entre otras (75,76).

Niveles normales de NLR en individuos sanos están entre 1 y 3 pero en condiciones de inflamación generalmente el valor del índice aumenta, generalmente por encima de 3 (Tabla 1)(77). Los niveles promedio entre mujeres y hombres son similares, las mujeres tienen un rango normal de 1.67 a 1.75 y los hombres de 1.65 a 1.73 (Tabla 1) (78) . El aumento se explica por el incremento de la cantidad de neutrófilos (Neutrófilos>6.3

$\times 10^3/\mu\text{L}$) en la circulación como forma de una defensa innata y a la vez, debe haber un impacto en la producción de linfocitos. Estudios han determinado que la elevación de este puede representar un pobre desenlace de múltiples enfermedades. El aumento en el nivel de NLR depende de la severidad de la enfermedad y de la enfermedad en sí. Por ejemplo, en una infección bacteriana el valor patológico de NLR es de 3 a 7; en una condición séptica el ratio puede alcanzar niveles de 10 a 11, y en un choque séptico el paciente puede desarrollar un NLR entre 11 a 17 (77). Varias publicaciones han reportado que NLR también es útil para el pronóstico y detección de enfermedades inflamatorias e infecciosas (45,47,79).

El rol predictivo de este ratio fue aplicado al SARS-CoV-2 en una muestra de pacientes hospitalizados que habían estado en el epicentro Wuhan, o que habían estado en contacto con personas de la mencionada ciudad. A partir de los resultados, los investigadores concluyeron que el NLR elevado, mayor a 3.13, se considera un biomarcador predictor independiente que afectó del desenlace de neumonía en pacientes COVID-19 (80). En otro estudio se demostró que un nivel alto de NLR durante la infección por SARS-CoV-2 tiene un poder predictivo sobre un caso severo de la enfermedad, aun estando en etapas tempranas de la infección (12,45,79–81). De la misma manera, un grupo de investigación estudió los valores del índice NLR en pacientes hospitalizados por COVID-19 que presentaban comorbilidades, específicamente diabetes y reportaron que los pacientes con esta condición son más susceptibles a presentar un aumento en NLR y lo asociaron con un desenlace no favorable de la infección(12,45,79,81).

Tabla 1. Valores de NLR en población adulta normal y enferma.

| NLR | Estado normal | | Estado patológico |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| Promedio (Humanos Adultos) | 1-3 | | >3 |
| Sexo | Hombre | Mujer | |
| | 1.65-1.73 | 1.67-1.75 | |
| Edad | | | |
| <ul style="list-style-type: none"> ● 20-29 ● 30-39 ● 40-49 ● 50-59 ● 60-69 | <ul style="list-style-type: none"> 1.57 ± 0.61 1.55 ± 0.56 1.53 ± 0.52 1.60 ± 0.55 1.71 ± 0.68 | <ul style="list-style-type: none"> 1.64 ± 0.59 1.72 ± 0.68# 1.74 ± 0.61 1.52 ± 0.62 1.51 ± 0.64 | |

Zahorec R. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, past, present, and future perspectives. Bratislava Med J. 2021;122:474–88.

Wu L, Zou S, Wang C, Tan X, Yu M. Neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratio in Chinese Han population from Chaoshan region in South China. BMC Cardiovasc Disord. BioMed Central Ltd.; 2019;19:125

Moosazadeh M, Maleki I, Alizadeh-Navaei R, Kheradmand E. Normal values of neutrophil-to-lymphocyte ratio, lymphocyte-to-monocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio among Iranian population: Results of Tabari Cohort. Casp J Intern Med. 2019;10:320–5.

Ratio Plaqueta/Linfocito

Al igual que el ratio neutrófilo/linfocito (NLR), el ratio plaqueta/linfocito (PLR) muestra la proporción de plaquetas y linfocitos en la sangre (82). Es un biomarcador que refleja las vías inflamatorias y de agregación plaquetaria de diversas patologías como infarto del miocardio, insuficiencia renal aguda, carcinoma hepatocelular y cáncer al pulmón; pero también de diferentes tipos de infecciones como neumonía, celulitis y sepsis (83,84). Es un marcador que puede pronosticar inflamación y mortalidad en muchas enfermedades (85,86). Es de gran relevancia aplicarlo a la inflamación que es generada por la infección por SARS-CoV-2 (80,82,87,88).

PLR en pacientes sanos debe tener un valor entre 36 y 172; en casos de infección, como por SARS-CoV-2, los valores del ratio aumentan (78). Esto se debe a que los conteos totales de plaquetas y linfocitos sufren una variación a lo largo de la infección. En personas sanas, el conteo de plaquetas debe encontrarse entre 150 a 450 x 10³/μL y el conteo de linfocitos 1.5 y 4 x 10³/μL (64). Sin embargo, en múltiples estudios se ha

reportado el desarrollo de linfopenia en estos pacientes COVID-19, es decir ocurre una disminución en la cantidad de linfocitos, y el aumento de plaquetas podría explicarse por la hiperactivación de estas (40,89).

Un estudio que investigó el valor predictor de PLR sobre la mortalidad por sepsis, dividió a los pacientes con esta infección según los valores del biomarcador (Grupo 1 $PLR \leq 150$, Grupo 2 $150 < PLR \leq 250$ y Grupo 3 $PLR > 250$) y observó que aquellos que presentaban PLR mayor a 250 tenían un riesgo alto a la muerte hospitalaria (82). Con respecto a la infección por SARS-CoV-2, durante los primeros meses de la pandemia se registraron casos de pacientes COVID-19 con neumonía severa y mediante los conteos completos de sangre rutinarios se observaron cambios alarmantes en los valores de plaquetas y el ratio plaqueta/linfocito. Por ello, en una investigación realizada en Huizhou, China se estudió el poder predictivo del marcador y se determinó que el valor máximo de plaquetas y de PLR son considerados factores que predicen la severidad y posiblemente fatales por una tormenta de citoquinas que potenciaría la activación de plaquetas y, por ende, un pobre pronóstico (84). Asimismo, se ha reportado en un estudio de casos - controles que los niveles de PRL fueron más elevados en pacientes COVID-19 positivos que aquellos sanos (90).

Volumen Plaquetario Medio

El volumen plaquetario medio (VPM) es un promedio de las dimensiones de las plaquetas que es fácil de obtener a partir de un hemograma automatizado. Este parámetro está asociado a la hemostasis de la masa y producción o destrucción plaquetaria (62). Existe una relación inversamente proporcional entre los niveles de plaquetas y el volumen plaquetario medio, para mantener la homeostasis. Valores altos de VPM indican la presencia de plaquetas jóvenes, que se caracterizan por ser de mayor tamaño, por poseer más gránulos y material protrombótico. Estas plaquetas son más activas metabólicamente y funcionalmente, pero también se relacionan al riesgo de formar coágulos (62). Un VPM elevado también está relacionado a un conteo plaquetario más bajo (91). Esto se debe a que la producción y destrucción de plaquetas ocurre paralelamente, y como consecuencia entran a la circulación plaquetas inmaduras (92).

En condiciones normales, el valor de VPM debe encontrarse en el rango de 7 a 11 fL, en cambio en una condición inflamatoria, hay una disminución en el volumen plaquetario medio. Esto ocurre debido a que durante un evento de este tipo aumenta la producción de factores proinflamatorios y procoagulantes en las plaquetas, que intervienen en la formación de estas células y provocan una disminución en su tamaño, por lo tanto disminuye el valor de la variable que describe el volumen de las plaquetas (VPM) (62,93,94).

Al ser un parámetro bastante estudiado y relacionado a múltiples enfermedades, se conoce que tiene un poder predictivo sobre el desenlace de éstas. Recientemente se han realizado investigaciones donde se ha determinado el poder del marcador inflamatorio VPM para pronosticar una infección por SARS-CoV-2 en personas con diabetes mellitus tipo II. En este estudio se observaron niveles significativamente más altos de VPM (11.21 fL) durante la infección en comparación con los últimos resultados del volumen plaquetario medio (10.59 fL) previo a la infección (12). En esta misma publicación se observó que los pacientes con trombocitopenia tenían VPM mayores que los que no desarrollaron trombocitopenia (94). Asimismo, otro estudio determinó un aumento significativo en los niveles de VPM ($p=0.015$) en el día de admisión de pacientes que luego desarrollaron una infección severa de COVID-19. Junto a este, otro estudio determinó que el incremento por cada 1 unidad de este biomarcador aumentaba la mortalidad en estos pacientes por 1.76 veces (95). Con ello concluyeron que el VPM sería un indicador para casos severos y la mortalidad asociada a dicha enfermedad (13,15,42). Por último, una investigación realizada en pacientes COVID-19 y clasificados según la severidad de la enfermedad, demostró que individuos que desarrollan cuadros clínicos moderados presentan VPM más altos y una disminución plaquetaria en comparación con individuos sanos o no COVID-19 (66). Se ha demostrado que, en diversas enfermedades crónicas, como sinusitis, insuficiencia renal, enfermedades reumáticas y diabetes, el marcador VPM tiene una tendencia a aumentar. En casos de infecciones causadas por patógenos virales, como el dengue, el patrón se mantiene sobre todo en la etapa crítica de la enfermedad (96).

En la tabla 2 se presenta un resumen de los valores normales y patológicos de las variables usadas en el estudio y en la tabla 3 se presenta una compilación de los hallazgos asociados a los biomarcadores motivo de nuestro estudio de investigación.

Tabla 2. Valores normales y patológicos de marcadores estudiados

| Biomarcador | Valores normales | Valores patológicos |
|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Neutrófilos | 1.5 – 6.6 x 10 ³ /μL | >6.9 x 10 ³ /μL (56) |
| Linfocitos | 1.5 – 3.5 x 10 ³ /μL | <1.5 x 10 ³ /μL |
| Plaquetas | 150 – 450 x 10 ³ /μL | <150 x 10 ³ /μL |
| Ratio Neutrófilo/Linfocito | 1-3 | >3 |
| Ratio Plaqueta/Linfocito | 36 – 172 | >250 |
| Volumen Plaquetario Medio | 7 – 11 fL | >11 fL |

Laboratorio Clínico Hospital Del Niño Dr. José Renán Esquivel. Valores Normales de Referencia Hemograma. 1era Edición. Panamá. 2017.

Zahorec R. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, past, present, and future perspectives. Bratislava Med J. 2021;122:474–88.

Wu L, Zou S, Wang C, Tan X, Yu M. Neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratio in Chinese Han population from Chaoshan region in South China. BMC Cardiovasc Disord. 2019 May 27;19(1):125.

Korniluk A, Koper-Lenkiewicz OM, Kamińska J, Kemonia H, Dymicka-Piekarska V. Mean platelet volume (MPV): New perspectives for an old marker in the course and prognosis of inflammatory conditions. Mediators Inflamm. 2019;2019

Tabla 3. Hallazgos en pacientes COVID-19

| Marcador | Hallazgo en pacientes COVID—19 | Referencias |
|-----------------------------------|---------------------------------------|--------------------|
| Plaquetas | | |
| | Sin cambios según severidad | (97,98) |
| | ↓ En casos severos y fallecidos | (67,73,99–101) |
| Ratio Neutrófilo/Linfocito | | |
| | ↑ En casos severos y fallecidos | (102–104) |
| Ratio Plaqueta/Linfocito | | |
| | ↑ En casos severos y fallecidos | (103,105–109) |
| Volumen Plaquetario Medio | | |
| | ↑ En casos severos y fallecidos | (97,110–113) |
| | Sin cambios según severidad | (92,94,103) |

4.4. Hemograma automatizado

El valor clínico de los biomarcadores estudiados en el presente proyecto, incrementa por la facilidad y practicidad de su obtención. Todos se obtienen mediante un hemograma automatizado, una prueba de laboratorio de rutina, de muy bajo costo y prácticamente omnipresente en la práctica hospitalaria. El hemograma automatizado es un instrumento cuya función es analizar muestras de sangre de manera automática. Al ser automatizado, es un proceso rápido y preciso que es altamente accesible y económico (114) . El análisis hematológico se basa en realizar un conteo sanguíneo completo (CBC). A partir de este análisis se detecta y cuantifica el conteo de glóbulos rojos (RBC) glóbulos blancos (WBC) y plaquetas; como también brinde resultados como los niveles de hemoglobina y hematocrito del paciente. Adicionalmente al conteo general de leucocitos, se realiza un conteo diferencial de neutrófilos, linfocitos, monocitos, basófilos y eosinófilos (115).

Generalmente los conteos que brinda el hemograma automatizado se aplican para determinar diferentes patologías relacionadas a la sangre y a la inflamación, ya que el WBC, neutrófilos, linfocitos, ratio neutrófilo–linfocito, ratio plaqueta–linfocito y volumen plaquetario medio son considerados marcadores inflamatorios (114,116)(13,21). Para este proyecto, los análisis hematológicos de pacientes COVID-19 serían de mayor utilidad para obtener los dos ratios propuestos y el VPM, para predecir la severidad y mortalidad del paciente.

4.5. La pandemia de la COVID-19

En diciembre del 2019 en Wuhan, China; se reportaron múltiples casos con síntomas similares a un cuadro de neumonía. Sin conocer el origen, se descartaron posibles enfermedades como influenza, infecciones bacterianas u otro coronavirus. De este grupo de pacientes, algunos desarrollaron el síndrome de distrés respiratorio agudo grave (SDRA). Los científicos lograron aislar al patógeno que ocasiona este cuadro, y al genotipificar reconocieron su gran similitud a los virus: SARS - CoV y MERS - CoV. Dado que compartían la mayoría del genoma con estos virus, lo denominaron SARS-CoV-2 (26).

La distribución del COVID-19 ha sobrepasado las anteriores epidemias ocasionadas por coronavirus, SARS y MERS del 2002 y 2012, respectivamente. Por la misma razón, la OMS, el 11 de marzo del 2020 declaró al COVID-19 como una pandemia. El SARS en el 2002 llegó a 29 países, MERS alcanzó solo 27; en cambio, SARS-CoV-2 se ha distribuido mundialmente, está presente en 224 países. Debido a la facilidad de transmisión que tiene el virus, el número de casos y distribución de casos aumentaron exponencialmente (117).

La transmisibilidad se puede cuantificar en base al número básico de reproducción (R_0) que determina el número esperado de casos nuevos o secundarios a partir del contacto con un caso positivo. Inicialmente, el R_0 estimado del SARS-CoV-2 era 2-3 (41,118). Es decir, 2 a 3 personas se contagian de COVID-19 por caso positivo confirmado. Con la aparición de nuevas variantes del virus, el número reproductivo original ha variado y disminuido, pero se ha determinado que el R_0 de los nuevos linajes es mayor.

Hasta el 21 de noviembre de junio del 2021, había 256 millones de casos totales y 5.1 millones de muertes a nivel global (16). Otro factor importante por reconocer del COVID es la tasa de caso - fatalidad que tiene. Este se define como la proporción de muertes ocasionadas por COVID-19 con respecto al total de casos positivos, y se mide en un periodo específico de tiempo. Esta tasa puede variar entre países, grupos etarios, y grupos de riesgo; sin embargo, al comienzo de la pandemia se determinó que la tasa de caso - mortalidad mundial era de aproximadamente 2.2% (119).

Como se mencionó anteriormente, existen grupos con ciertos factores que los predisponen a un mayor riesgo de desarrollar un cuadro grave frente a la infección por SARS-CoV-2. Durante la primera ola mundial el grupo de mayor riesgo eran aquellos individuos de la tercera edad. Por ejemplo, en un estudio realizado en China e Italia se compararon las tasas de caso - mortalidad y se determinó que la proporción de fallecimientos por casos totales en el grupo de individuos mayores de 70 años era de 11 y 37% respectivamente. En el grupo de mayores de 80 años la tasa bajaba a 20.2 y 14.8%. No obstante, la proporción era mayor que el promedio a nivel mundial (119). Asimismo,

aquellos individuos con comorbilidades como enfermedades cardiovasculares, respiratorias crónicas o autoinmunes, diabetes mellitus, hipertensión y cáncer son más susceptibles a tener un resultado no favorable (119).

4.6. *Epidemiología de COVID-19*

Epidemia en Perú

El 6 de marzo de 2020 se identificó el primer caso de COVID-19 en nuestro país. Se trataba de un joven de 25 años que venía de Europa, específicamente España y Francia, países donde la cantidad de casos crecía exponencialmente. La cantidad de casos y muertes se incrementaron rápidamente. La primera ola de COVID-19 comenzó en mayo del 2020; en junio se reportaron aproximadamente 10 mil nuevos casos y 270 fallecidos diarios en promedio, según el Centro de Control de Enfermedades. En septiembre el número de contagios comenzó a descender, pero durante este periodo alcanzamos los 800 mil casos y 31 mil fallecidos (120).

El crecimiento exponencial de casos ocurrió nuevamente en enero del 2021, dando lugar a la segunda ola en el Perú. Lo diferente de este patrón fue que afectaba más a los individuos jóvenes, mas no a los adultos mayores. Hasta el momento, 30 de noviembre del 2021, se han detectado 2.23 millones de casos positivos y 201 mil fallecimientos por COVID-19. Lamentablemente, Perú es el país con la tasa de mortalidad por COVID-19 más alta del mundo, liderando con una tasa de 9.0% (121). Asimismo, nos encontramos en el primer puesto con el mayor número de muertes por 100 000 individuos de casos confirmados y sanos, la tasa en este caso es de 618.71 muertes por 100 000 personas (122).

4.7. *Precisión diagnóstica*

Diagnosticar una enfermedad o un desenlace depende de la capacidad predictiva que tiene una prueba diagnóstica. Se considera que una prueba diagnóstica es buena cuando cumple con 3 requisitos: validez (sensibilidad y especificidad, que a su vez reflejan el valor predictivo positivo y negativo), reproducibilidad y seguridad (123,124)

4.7.1. Principales indicadores

4.7.1.1 Sensibilidad

La sensibilidad de una prueba diagnóstica se define como la capacidad que tiene el método o modelo para clasificar correctamente a un individuo como enfermo. Este cociente se calcula a partir de la cantidad de personas que tienen un resultado positivo, con respecto a la cantidad total de personas positivas y negativas teniendo la enfermedad (123,124).

4.7.1.2. Especificidad

Es la capacidad del método para discriminar a los pacientes que verdaderamente están sanos. El valor de especificidad se obtiene del número de personas que tienen un resultado negativo en ausencia de la enfermedad, con respecto a la cantidad de individuos que presentan resultados positivos y negativos cuando no tienen la enfermedad. Una buena especificidad se relaciona con la ausencia de falsos positivos (123,124)

4.7.1.3. Valor predictivo positivo y negativo

El valor predictivo positivo describe al porcentaje de individuos que fueron categorizados como positivos y que realmente tienen la enfermedad. De la misma manera, el valor predictivo negativo se refiere a aquellos pacientes que obtuvieron un resultado negativo y efectivamente no tienen la enfermedad. Es decir, estos dos índices nos confirman la cantidad de verdaderos positivos y verdaderos negativos (123).

4.7.2. Puntos de corte

Un punto de corte es un valor utilizado para poder dividir los resultados en categorías. La determinación de estos puntos de corte se puede dar de dos formas: según la distribución de la variable de interés u optimizando la relación del desenlace (125). Se puede optimizar el punto de corte a través de la minimización del valor p o maximizando las combinaciones de los valores de sensibilidad y especificidad. Para determinar el punto de corte, algunos métodos realizan un “trade-off” y priorizan la sensibilidad o especificidad, dependiendo de lo que consideren más importante (126,127). Uno de los

métodos de determinación se denomina el índice de Youden; este índice identifica el conjunto de valores más alto de sensibilidad y especificidad (127,128).

4.7.3. Curva ROC, AUC y Prueba de DeLong

Las curvas ROC son una representación gráfica de la probabilidad de que un individuo, seleccionado aleatoriamente de una población normal o anormal, sea categorizado correctamente dependiendo de la variable a estudiar. El desempeño del modelo se basa en la sensibilidad y especificidad de cada uno de los puntos de corte del mismo. El área bajo la curva (AUC, por sus siglas en inglés) determina qué tan bueno es el modelo o la prueba para poder discriminar entre los pacientes sanos y enfermos. El modelo perfecto se caracteriza por tener mejor capacidad predictiva y discriminante entre enfermos y sanos y tiene valor de AUC igual a 1. Este valor se debe a que el modelo tiene una sensibilidad y especificidad de 100% (127,129). Áreas bajo la curva que se acercan a 0.5 son consideradas como pobres predictores. Para comparar el rendimiento de áreas bajo la curva de 2 o más modelos, se debe realizar la prueba de DeLong (127,130,131). Esta prueba nos brinda un intervalo de confianza de la diferencia entre estos dos modelos. Existen diferentes métodos estadísticos para realizar dicha comparación, sin embargo, la prueba de DeLong es el método con mayor poder y precisión (131,132).

5. Pregunta de Investigación/Problema de Investigación

¿Los biomarcadores ratio neutrófilo/linfocito, ratio plaqueta/linfocito y el volumen plaquetario medio tienen poder predictivo sobre la mortalidad en pacientes infectados con el SARS -CoV-2?

6. Objetivos

6.1. General

Evaluar la capacidad predictiva del ratio neutrófilo/linfocito, del ratio plaqueta/linfocito y del volumen plaquetario medio sobre la mortalidad de pacientes infectados por SARS-CoV-2 en una cohorte de pacientes del Hospital Cayetano Heredia.

6.2. *Específicos*

- Comparar los niveles de NLR, PLR y VPM entre pacientes COVID-19 agrupados según desenlace.
- Determinar la relación entre NLR, PLR y VPM con la mortalidad de pacientes COVID-19.

7. **Métodos**

7.1. *Tipo de estudio y diseño*

Análisis primario de la base de datos del proyecto principal registrado con código SIDISI 202329. Es un estudio de tipo observacional y analítico, con un diseño de cohorte prospectivo. Este trabajo se registró con código SIDISI 204190 el 10 de noviembre del 2020 y se aprobó por el Comité Institucional de Ética en Investigación en Seres Humanos de la Universidad Peruana Cayetano Heredia el día 24 de mayo del 2021.

7.2. *Población y muestra de estudio*

El proyecto “Biomarcadores para la identificación temprana de pacientes con alto riesgo de desarrollar Síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) inducido por el nuevo coronavirus SARS-CoV-2 (SIDISI 202329)” reclutó a pacientes COVID-19 positivos, internados en el Hospital Cayetano Heredia, mediante un muestreo por conveniencia desde octubre del 2020 hasta enero del 2021. Estos pacientes fueron incluidos si tenían un diagnóstico de COVID-19 por prueba serológica o molecular, mayor o igual a 18 años y un consentimiento informado firmado. Pacientes COVID-19 que ingresaban al hospital eran excluidos si eran menores de 18 años, gestantes, tenían alguna enfermedad autoinmune preexistente y/o si al momento de ingresar ya tenían un diagnóstico de SDRA ($200 \text{ mm Hg} < \text{PaO}_2/\text{FIO}_2 \leq 300 \text{ mm Hg}$ y diagnóstico de imágenes con opacidades bilaterales no explicadas por efusiones, colapso pulmonar, lobar o nodular) (2).

7.3. *Análisis y procesamiento de datos*

Se incluyeron al estudio pacientes COVID - 19 que fueron hospitalizados en el Hospital Cayetano Heredia. Se calcularon los valores del ratio neutrófilo - linfocito (NLR) y el ratio plaqueta - linfocito (PLR). Estos índices se determinaron en base a los valores absolutos de neutrófilos, linfocitos y plaquetas a partir del primer conteo sanguíneo completo al ingresar al hospital, que se obtuvieron del hemograma automatizado. Se clasificó el número de comorbilidades que presentaban los individuos 0, 1, 2, 3, o 4 comorbilidades (Tabla 4). Se realizó una verificación de la distribución normal de todas las variables continuas. Todas las variables continuas, con excepción del conteo absoluto de plaquetas fue transformado para cumplir con el requisito de normalidad.

Con los datos normalizados se crearon dos tablas de resumen, la primera con las características generales de los pacientes del estudio y la segunda con los valores de los resultados del hemograma automatizado y también de los biomarcadores de interés. En la primera tabla las variables continuas fueron expresadas como la media y desviación estándar y las variables categóricas se resumieron con los conteos y porcentajes, Los pacientes fueron divididos en dos grupos: fallecidos por COVID-19 y sobrevivientes. Para el análisis comparativo se aplicaron pruebas de T student unilaterales a las variables continuas y pruebas de chi² a las categóricas, considerando un nivel de significancia del 5%. Este análisis se realizó con el objetivo de identificar si existen diferencias significativas entre estos dos grupos para poder caracterizar a la población en base a los factores incluidos en el estudio. Como este estudio es un análisis de base de datos, se evaluó la potencia estadística para detectar diferencias significativas de las principales variables de interés. Esto se realizó con el programa estadístico de código abierto Open Epi (133).

Para determinar el poder predictivo de los biomarcadores, primero se generaron modelos lineales generalizados que permiten tener un control más detallado sobre el efecto (muerte), tomando en cuenta las variables confusoras edad, sexo y número de comorbilidades. Se incluyeron estas variables confusoras ya que son factores que

podrían alterar la relación entre la variable de interés y su desenlace; éstas tienen una asociación con la variable de interés y al desenlace sin ser una causa inmediata. Luego de realizar una regresión logística con las variables significativas se aplicó el criterio de información de Akaike y la prueba de post estimación de Hosmer y Lemeshow para analizar la bondad de ajuste del modelo. En base a estos modelos, se construyeron curvas ROC. Asimismo, se analizaron las áreas bajo la curva (AUC) con intervalo de confianza de 95%. Dado que la especificidad y sensibilidad depende del punto de corte (Ver sección 4.7.2), se presentan diferentes puntos de corte y su respectiva sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN). Estos valores se hallaron con el paquete `OptimalCutPoints` del lenguaje de programación R (134). Se realizó una comparación de las AUC usando la prueba de Long. El valor de p menor a 0.05 denota significancia estadística. Se utilizó el programa estadístico R Studio Versión 1.3.1073 y el programa STATA versión 16.

Tabla 4. Operacionalización de Variables

| Variable | Tipo de variable | Escala de medición | Definición operacional |
|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| Mortalidad | Cualitativa Dependiente | Nominal | Muerte del paciente COVID-19 positivo (Sí/No) |
| Tiempo hasta el desenlace | Cuantitativa continua, variable independiente | De Razón | Cantidad de días desde el ingreso al hospital hasta el alta o fallecimiento del paciente |
| Tiempo hasta el alta | Cuantitativa continua, variable independiente | De Razón | Cantidad de días desde el ingreso al hospital hasta el alta del paciente |
| Tiempo hasta la muerte | Cuantitativa continua, variable independiente | De Razón | Cantidad de días desde el ingreso al hospital hasta su fallecimiento |
| Ingreso a UCI | Cualitativa, Variable independiente | Nominal | El ingreso del paciente al área de UCI (Sí/No) |
| Sexo | Cualitativa, Variable independiente | Nominal | Sexo del paciente |
| IMC | Continua, Variable independiente | De razón | IMC del paciente (kg/m ²) |
| Cantidad de comorbilidades | Catégorica, Variable independiente | Ordinal | Cantidad de comorbilidades que declara al momento de la hospitalización |
| Eosinófilos | Cuantitativa Variable independiente | De razón | Cantidad absoluta de eosinófilos en sangre (10 ³ /μL) |
| Basófilos | Cuantitativa Variable independiente | De razón | Cantidad absoluta de basófilos en sangre (10 ³ /μL) |
| Volumen Corpuscular Medio | Cuantitativa Variable independiente | De razón | Volumen individual de eritrocitos (fL) |
| Amplitud de Distribución Eritrocitaria (RDW) | Cuantitativa Variable independiente | De razón | Variación del volumen y tamaño de eritrocitos |
| Plaquetas | Cuantitativa Variable independiente | De razón | Cantidad absoluta de plaquetas en sangre (10 ³ /μL) |
| Volumen Plaquetario Medio (VMP) | Cuantitativa Variable independiente | De razón | Volumen promedio de plaquetas (fL) |
| Ratio Neutrófilo/Linfocito (NLR) | Cuantitativa Variable independiente | De razón | Cantidad absoluta de neutrófilos/Cantidad absoluta de linfocitos |
| Ratio Plaqueta/Linfocito (PLR) | Cuantitativa Variable independiente | De razón | Cantidad absoluta de plaquetas/Cantidad absoluta de linfocitos |

8. Resultados

8.1. *Características generales de la población de estudio*

Los resultados de las comparaciones de las características generales y clínicas de los pacientes del estudio se encuentran en la Tabla 6. La edad media de los pacientes es de 54 años con un mínimo de 42 y un máximo de 66 años. El promedio de edad de los pacientes que sobrevivieron a la enfermedad fue de 52 años; en cambio, los pacientes del grupo de fallecidos eran mayores, con una edad media de 61 años. Entre estos grupos se observó una diferencia significativa ($p=0.0018$).

La población muestral está conformada en un 62% por hombres y 38% por mujeres. Se reporta una diferencia significativa en esta variable sexo entre el grupo de fallecidos y sobrevivientes ($p=0.04$) En base a esta cohorte, la tasa de mortalidad por COVID-19 ha sido del 18% (18/100), de esta proporción el 83% fueron hombres (15/18) y 17% mujeres (3/18).

El promedio de IMC de los pacientes COVID-19 es de 30.22, es decir, se pueden clasificar como obesos de clase 1. Al momento de ingreso se determinó la presencia y cantidad de comorbilidades; en promedio el 68% (65/95) de los pacientes presentaron al menos una comorbilidad, y el 18% de estos no sobrevivieron a la enfermedad. Existe una diferencia significativa en la cantidad de comorbilidades entre los dos grupos ($p=0.009$). Entre el grupo de fallecidos las comorbilidades se encuentran listadas en la tabla 5, presentaban hipertensión arterial, diabetes, obesidad, asma, gastritis y colelitiasis. Los no fallecidos padecían de las mismas patologías, e incluso algunos pacientes presentaron hipotiroidismo, fibrosis pulmonar e hipercolesterolemia Se reportó que el 40% (31/78) de los pacientes totales presentaron solo una comorbilidad, 17% (13/78) dos comorbilidades, 11% (9/78) tres y el 1% (1/78) cuatro enfermedades.

Se reportaron los tratamientos médicos que utilizaron los pacientes previo a la hospitalización. El grupo de fallecidos se medicó con antibióticos, dexametasona que es un corticoide, antihelmínticos, anticoagulantes y analgésicos. Los pacientes que

sobrevivieron acudieron al uso de los mismos medicamentos e incluso antimaláricos Durante su internamiento los pacientes recibieron antibióticos, corticoides y oxígeno de alto flujo; así como pronación intermitente. Del total de pacientes, solo el 7% (7/100) fue admitido a UCI luego de su hospitalización, 4 de ellos no sobrevivieron la enfermedad ($p=0.005$). En promedio, los pacientes tuvieron un tiempo hasta el desenlace (fallecimiento o sobrevivencia) de 12.78 ± 10.69 días. El grupo de fallecidos tuvo un promedio de 23.4 ± 12.96 días hospitalizados antes de fallecer. De la misma manera se analizó la cantidad de días hasta que los demás pacientes lograrán el alta hospitalaria; el grupo de sobrevivientes tuvo un promedio de 11.10 ± 9.45 días.

Tabla 5. Comparación de comorbilidades y medicación previa a la hospitalización de fallecidos y no fallecidos.

| Variable | Fallecidos | No Fallecidos |
|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comorbilidades | <ul style="list-style-type: none"> ● Hipertensión Arterial (n=3) ● Diabetes Mellitus II (n=5) ● Obesidad grado I y II (n=4) ● Asma (n=3) ● Colelitiasis (n=1) ● Gastritis(n=1) | <ul style="list-style-type: none"> ● Hipertensión Arterial (n=16) ● Hiperplasia benigna de próstata (n=1) ● Diabetes Mellitus II (n=6) ● Obesidad grado I y II (n=15) ● Hipotiroidismo(n=2) ● Fibrosis Pulmonar (n=1) ● Asma (n=4) ● Hipercolesterolemia (n=1) |
| Automedicación previa a la hospitalización | Antibióticos: <ul style="list-style-type: none"> ● Azitromicina ● Levofloxacino ● Cefalogen | Antibióticos: <ul style="list-style-type: none"> ● Azitromicina ● Amoxicilina ● Megacilina ● Norfloxacino ● Ceftriaxona |
| | Corticoides: <ul style="list-style-type: none"> ● Dexametasona | Corticoides: <ul style="list-style-type: none"> ● Dexametasona ● Prednisona |
| | Antihelmínticos: <ul style="list-style-type: none"> ● Ivermectina | Antihelmínticos: <ul style="list-style-type: none"> ● Ivermectina |
| | Antiplaquetario/anticoagulante: <ul style="list-style-type: none"> ● Enoxaparina ● Aspirina | Antimalárico: <ul style="list-style-type: none"> ● Hidroxicloroquina |
| | Analgésico: <ul style="list-style-type: none"> ● Paracetamol | Broncodilatador: <ul style="list-style-type: none"> ● Salbutamol |
| | | Anticoagulante: <ul style="list-style-type: none"> ● Enoxaparina |

Tabla 6. Análisis Bivariado de las características generales de los pacientes COVID-19 al momento de la hospitalización en HCH.

| Variable | Total (n=100) | Fallecido (n=18) | No Fallecido (n=82) | P |
|-----------------------------------------|---------------|------------------|---------------------|----------------|
| Edad (años) | 54.39 ± 11.81 | 61.67 ± 9.13 | 52.79 ± 11.78 | 0.0018* |
| Sexo (%) | | | | 0.04* |
| Masculino | 62/100 (62%) | 15/18 (83%) | 47/82 (57%) | |
| Femenino | 38/100 (38%) | 3/18 (17%) | 35/82 (43%) | |
| IMC (kg/m²) | 30.22 ± 5.82 | 28.90 ± 4.82 | 30.38 ± 5.96 | 0.3128 |
| Comorbilidades | | | | 0.268 |
| Sí | 65/95(68%) | 12/15(80%) | 53/80(66%) | |
| No | 30/95(32%) | 3/15(20%) | 27/80(34%) | |
| Cantidad de comorbilidades | | | | 0.009** |
| 0 | 24/78 (31%) | 1/10 (10%) | 23/68(34%) | |
| 1 | 31/78 (40%) | 4/10 (40%) | 27/68 (40%) | |
| 2 | 13/78 (17%) | 4/10 (40%) | 9/68 (13%) | |
| 3 | 9/78 (11%) | 0/10 (0%) | 9/68(13%) | |
| 4 | 1/78(1%) | 1/10(10%) | 0/68(0%) | |
| Tiempo hasta el desenlace (días) | 12.78 ± 10.69 | 23.4 ± 12.96 | 11.10 ± 9.45 | 0.003* |
| Tiempo hasta la muerte (días) | 23.4 ± 12.96 | 23.4 ± 12.96 | | |
| Tiempo hasta el alta (días) | 11.10 ± 9.45 | | 11.10 ± 9.45 | |
| Ingreso a UCI | | | | 0.005** |
| Sí | 7/100 (7%) | 4/18 (22%) | 3/82 (4%) | |
| No | 93/100 (93%) | 14/18 (78%) | 79/82 (96%) | |

VARIABLES CONTINUAS SON PRESENTADAS CON LA MEDIA (± DS), VARIABLES CATEGÓRICAS SON EXPRESADAS CON LAS FRECUENCIAS (%).

PARA ALGUNAS VARIABLES (COMORBILIDADES Y CANTIDAD DE COMORBILIDADES) NO CONTÁBAMOS CON LOS DATOS COMPLETOS, POR ESTE MOTIVO LOS DENOMINADORES NO SON IGUAL A 18 Y 82 RESPECTIVAMENTE.

* valor p <0.05 utilizando prueba T-test unilaterial (Variables continuas)

**valor p <0.05 utilizando prueba Chi2 (Variables categóricas)

8.2. Análisis comparativo de NLR, PLR y VPM según desenlace

Se estudiaron todas las variables de las líneas celulares y ratios mediante la prueba de t – student unilateral para cada variable en la que se detectó diferencia significativa, considerando un nivel de significación del 5%, lo cual se presenta en la tabla 7. Se reportaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en el conteo absoluto de linfocitos, eosinófilos, neutrófilos, plaquetas, la amplitud de distribución eritrocitaria y de los tres biomarcadores, el ratio neutrófilo/linfocito ($p < 0.05$).

El promedio de linfocitos de los fallecidos por COVID-19 es menor que la concentración promedio de linfocitos en el grupo de sobrevivientes ($p = 0.0003$). Se reporta lo contrario para la concentración promedio de neutrófilos. El valor medio de neutrófilos es mayor en los pacientes que fallecieron que los sobrevivientes ($p < 0.00001$). Por lo tanto, el ratio Neutrófilo/Linfocito también difiere entre los grupos del estudio, presentando un valor promedio mayor de 16.97 ± 6.54 en los fallecidos y solo 7.78 ± 7.37 en los sobrevivientes ($p < 0.0001$). El nivel promedio de eosinófilos fue significativamente menor en el grupo de fallecidos que en los que sobrevivieron ($p = 0.038$).

Asimismo, la variable descriptiva de la amplitud de distribución eritrocitaria sigue el patrón, su promedio es mayor en el grupo fallecido (14.34 ± 1.98) versus los sobrevivientes (13.58 ± 0.61) ($p = 0.004$). A diferencia de las variables anteriores, el promedio de plaquetas sufre una reducción significativa ($p = 0.003$), con un valor medio menor en el grupo con el desenlace no favorable que en los que sobrevivieron la infección. Se obtuvo una potencia estadística con un intervalo de 95% para las diferencias entre neutrófilos es de 99.54%, linfocitos 99.9%, plaquetas 93.48%. De las variables compuestas, NLR 99.95%, PLR 26.4% y VPM 26.05%.

Tabla 7. Análisis bivariado de líneas celulares y variables hematológicas de los pacientes COVID-19 al momento de la hospitalización.

| Variable | Total (n=100) | Fallecido (n=18) | No Fallecido (n=82) | P |
|----------------------------------------|-----------------|------------------|---------------------|--------------------|
| Linfocitos ($10^3/\mu\text{L}$) | 1.25 ± 0.57 | 0.86 ± 0.31 | 1.35 ± 0.58 | 0.0003* |
| Monocitos ($10^3/\mu\text{L}$) | 0.45 ± 0.21 | 0.44 ± 0.28 | 0.45 ± 0.20 | 0.242 |
| Neutrófilos ($10^3/\mu\text{L}$) | 9.02 ± 4.20 | 13.64 ± 5.05 | 7.97 ± 3.23 | <0.0001* |
| Eosinófilos ($10^3/\mu\text{L}$) | 0.14 ± 0.28 | 0.11 ± 0.05 | 0.14 ± 0.31 | 0.038* |
| Basófilos ($10^3/\mu\text{L}$) | 0.03 ± 0.02 | 0.03 ± 0.01 | 0.03 ± 0.02 | 0.434 |
| Eritrocitos ($10^6/\mu\text{L}$) | 4.56 ± 0.56 | 4.68 ± 0.55 | 4.53 ± 0.56 | 0.132 |
| Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$) | 340.80 ± 105.16 | 278.04 ± 77.55 | 353.41 ± 106.03 | 0.003* |
| Hemoglobina (g/dL) | 14.14 ± 1.82 | 14.38 ± 2.09 | 14.09 ± 1.77 | 0.203 |
| Hematocrito (%) | 40.90 ± 4.95 | 42.00 ± 5.84 | 40.67 ± 4.77 | 0.091 |
| Volumen Corpuscular Medio (fL) | 89.66 ± 3.87 | 89.53 ± 5.65 | 89.69 ± 3.43 | 0.485 |
| Amplitud de Distribución Eritrocitaria | 13.72 ± 1.03 | 14.34 ± 1.98 | 13.58 ± 0.61 | 0.004* |
| Ratio Neutrófilo/Linfocito | 9.54 ± 8.05 | 16.97 ± 6.54 | 7.78 ± 7.37 | <0.0001* |
| Ratio Plaqueta/Linfocito | 321.30 ± 165.11 | 360.35 ± 156.04 | 307.63 ± 160.83 | 0.053 |
| Volumen Plaquetario Medio (fL) | 8.55 ± 0.89 | 8.83 ± 0.95 | 8.51 ± 0.85 | 0.07 |

VARIABLES CONTINUAS SON PRESENTADAS CON LA MEDIA (± DS), VARIABLES CATEGÓRICAS SON EXPRESADAS CON FRECUENCIAS (%).

* valor p <0.05 utilizando prueba T-test (Variables continuas)

8.3. Análisis de regresión de NLR, PLR y VPM sobre la tasa de mortalidad por COVID-19

En la tabla 8 se reportan los resultados del análisis de regresión multivariado en términos de Odds Ratio de los biomarcadores NLR, PLR y VPM sobre la mortalidad por COVID-19. De la regresión logística realizada a las tres variables, solamente el ratio neutrófilo/linfocito resultó ser estadísticamente significativo ($p=0.01$) y se puede considerar como un factor de riesgo para la muerte por esta enfermedad ($OR=1.27$). Utilizando la variable estadísticamente significativa, NLR, se presenta el criterio de información de Akaike (AIC) y la prueba de post estimación Hosmer y Lemeshow para analizar la bondad de ajuste del modelo planteado (Tabla 9). Utilizando el AIC se determinó que el modelo que mejor se ajusta a los datos obtenidos es el NLR ajustado por las tres variables confusoras, ya que obtuvo el valor más bajo de los tres modelos ($AIC=37.5$). Se complementó el criterio AIC con la prueba de bondad de ajuste Hosmer y Lemeshow. Tanto el modelo crudo, como el modelo ajustado por sexo, edad y ajustado por sexo, edad y número de comorbilidades obtuvieron resultados no significativos ($p=0.1325$, $p=0.8108$ y 0.7504 respectivamente), es decir, los datos observados coinciden con los valores esperados. Por lo tanto, los modelos con el biomarcador NLR tienen una buena bondad de ajuste para los datos.

Tabla 8. Análisis de regresión de marcadores NLR, PLR y VPM sobre mortalidad por COVID 19

| Variables | Odds Ratio | Valor-p | [IC 95%] | |
|----------------------------|------------|---------|----------|----------|
| | | | Inferior | Superior |
| Ratio Neutrófilo/Linfocito | 1.27 | 0.01 | 1.06 | 1.52 |
| Ratio Plaqueta/Linfocito | 1.00 | 0.29 | 0.99 | 1.01 |
| Volumen Plaquetario Medio | 1.71 | 0.24 | 0.70 | 4.20 |

*Modelo ajustado por sexo, edad y número de comorbilidades

Tabla 9. Criterio de Información de Akaike (AIC) y Análisis de Post Estimación Hosmer y Lemeshow

| Modelo | OR | IC 95% | Valor p |
|---------------------------------------------------------------|-----------|---------------|----------------|
| NLR Crudo | 1.139 | [1.06-1.23] | <0.0001 |
| <i>AIC</i> | 81.63 | | |
| <i>Bondad de Ajuste Hosmer y Lemeshow</i> | 12.44 | | |
| <i>Valor p</i> | 0.1325 | | |
| NLR ajustado por sexo y edad | 1.12 | [1.04-1.21] | 0.003 |
| <i>AIC</i> | 78.01 | | |
| <i>Bondad de Ajuste Hosmer y Lemeshow</i> | 4.49 | | |
| <i>Valor p</i> | 0.8108 | | |
| NLR ajustado por sexo, edad y número de comorbilidades | 1.27 | [1.06-1.52] | 0.01 |
| <i>AIC</i> | 37.5 | | |
| <i>Bondad de Ajuste Hosmer y Lemeshow</i> | 5.07 | | |
| <i>Valor p</i> | 0.7504 | | |

8.4. Poder predictivo de los biomarcadores sobre la tasa de mortalidad

En este estudio se utilizaron tres biomarcadores: ratio neutrófilo/linfocito, ratio plaqueta/linfocito y el volumen plaquetario medio para predecir la mortalidad por COVID-19. Sin embargo, solo la variable Ratio Neutrófilo/Linfocito mostró tener una asociación. Para determinar el poder predictivo de esta variable se presentaron curvas ROC que se observan en la figura 2, 3 y 4. En la figura 1 se reportan las curvas de los modelos crudos de todas las variables hematológicas simples que fueron incluidas en el estudio. En la figura 2 se muestran las curvas ROC del modelo crudo de NLR, PLR y VPM. A partir del análisis se puede reportar que el AUC de NLR es de 0.897, PLR y VPM obtienen un valor de 0.63 y 0.61, respectivamente. En la figura 3 se presenta la curva

ROC de la variable NLR, pero ajustada por las covariables sexo y edad. La AUC de NLR fue 0.88. En la figura 4 figura el modelo ajustado por las mismas covariables, pero incluyendo la cantidad de comorbilidades que presentaban los pacientes. De este modelo, el AUC de NLR resultó ser 0.94 con una sensibilidad y especificidad de 100% y 76.82% respectivamente (Tabla 10).

Se aplicó la prueba de DeLong para comparar el rendimiento de las curvas ROC crudas generadas. Se realizó la comparación con el AUC de cada biomarcador crudo. A partir del resultado de la prueba se pudo determinar que existe una diferencia significativa entre el rendimiento de la curva de NLR cuando se compara con PLR y VPM (NLR vs. PLR $p=0.00004$; NLR vs. VPM $p=0.00001$). Sin embargo, el rendimiento de las curvas PLR y VPM no difieren entre ellas (VPM vs. PLR $p=0.7792$)

En la tabla 11 se muestra la comparación entre la cantidad de fallecidos y sobrevivientes que presentaron niveles mayor o igual a 8.91 y menor a 8.91. De la prueba de chi cuadrado resultó una diferencia significativa entre la proporción de pacientes que presentaban niveles mayores y menores al punto de corte ($\text{Chi}^2= 37.37$, $p<0.0001$). El 100% (18/18) de los fallecidos presentaron un valor de NLR mayor o igual a este punto de corte, el 23% (19/82) de los sobrevivientes también presentar un valor de este tipo. En cambio, el 77% de los sobrevivientes obtuvieron un valor menor a 8.91 al momento del ingreso al hospital. Estos resultados coinciden con los valores de la sensibilidad y especificidad hallados (100% y 77% respectivamente).

Tabla 10. Puntos de corte, Sensibilidad y Especificidad de marcadores estudiados

| Método | Biomarcador | Punto de Corte | Sensibilidad | Especificidad | VPP | VPN |
|----------------------------------|--------------------|-----------------------|---------------------|----------------------|------------|------------|
| <i>Minimizando Especificidad</i> | <i>NLR</i> | 12.6720 | 0.722 | 0.865 | 0.5416 | 0.934 |
| | <i>PLR</i> | 492.92 | 0.222 | 0.8658 | 0.2666 | 0.835 |
| | <i>VPM</i> | 9.3220 | 0.222 | 0.8536 | 0.2500 | 0.833 |
| <i>Maximizando Sensibilidad</i> | <i>NLR</i> | 8.9160 | 1.0 | 0.7682 | 0.486 | 1.0 |
| | <i>PLR</i> | 162.1710 | 1.0 | 0.1219 | 0.200 | 1.0 |
| | <i>VPM</i> | 7.9030 | 1.0 | 0.207 | 0.216 | 1.0 |
| <i>Índice de Youden</i> | <i>NLR</i> | 8.9160 | 1.0 | 0.7682 | 0.485 | 1.0 |
| | <i>PLR</i> | 308.1640 | 0.6111 | 0.6461 | 0.275 | 0.88 |
| | <i>VPM</i> | 8.57 | 0.6666 | 0.6097 | 0.2727 | 0.892 |

Los valores fueron hallados con el paquete *OptimalCutpoints* del lenguaje de programación R.

VPP: Valor predictivo positivo

VPN: Valor predictivo negativo

Tabla 11. Comparación de desenlace según nivel de NLR

| NLR | Fallecidos (n=18) | Sobrevivientes (n=82) | |
|---------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------|
| NLR ≥ 8.91 | 18/18 (100%) (Promedio =16.97 ±6.54) | 19/82 (23%) (Promedio= 17.280 ± 10.38) | χ^2 : 37.37 $p < 0.00001$ |
| NLR <8.91 | 0/18 (0%) | 63/82 (77%) (Promedio= 4.92 ± 1.93) | |

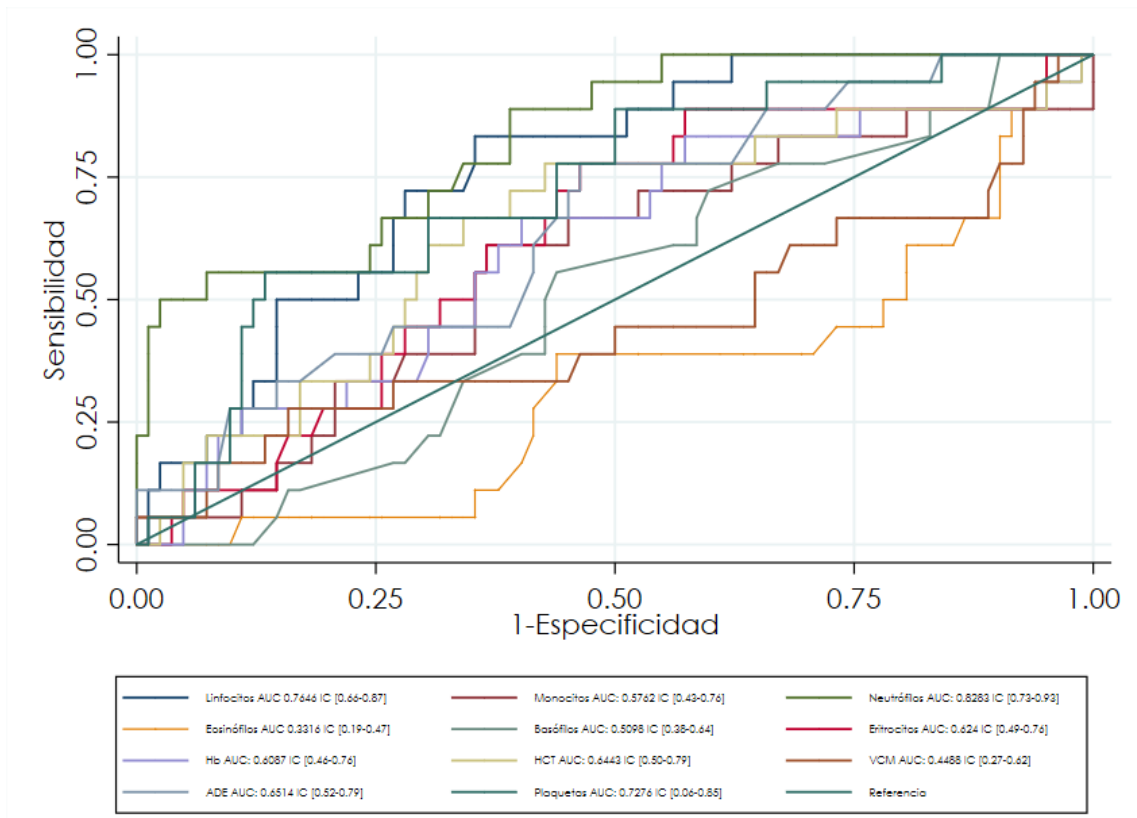


Figura 1. Modelo bivariado. Curvas ROC de variables hematológicas sobre mortalidad
 HB: Hemoglobina. HCT: Hematocrito. VCM: Volumen corpuscular medio. ADE: Amplitud de distribución eritrocitaria.
 Fallecidos (n=18); Sobrevivientes (n=82)

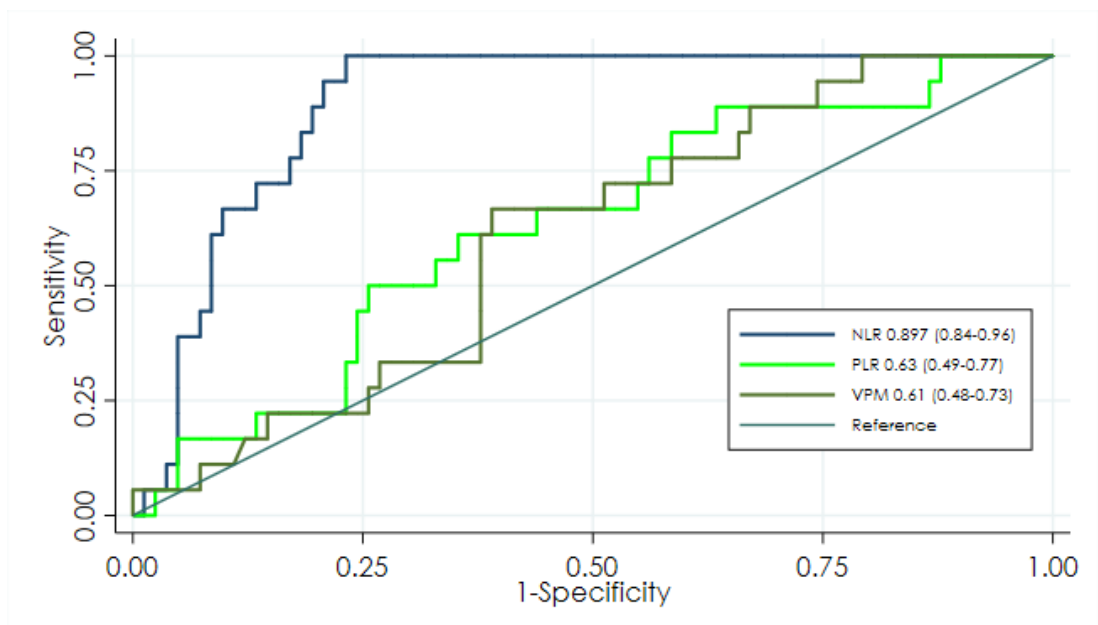


Figura 2. Modelo Bivariado. Curvas ROC NLR, PLR y VPM crudo sobre mortalidad
 NLR. Ratio Neutrófilo – Linfocito; PLR. Ratio Plaqueta – Linfocito; VPM. Volumen Plaquetario Medio.
 Prueba de Delong: NLR vs. PLR p=0.00004; NLR vs. VPM p=0.000001; VPM vs. PLR p=0.7792
 Fallecidos (n=18); Sobrevivientes (n=82)

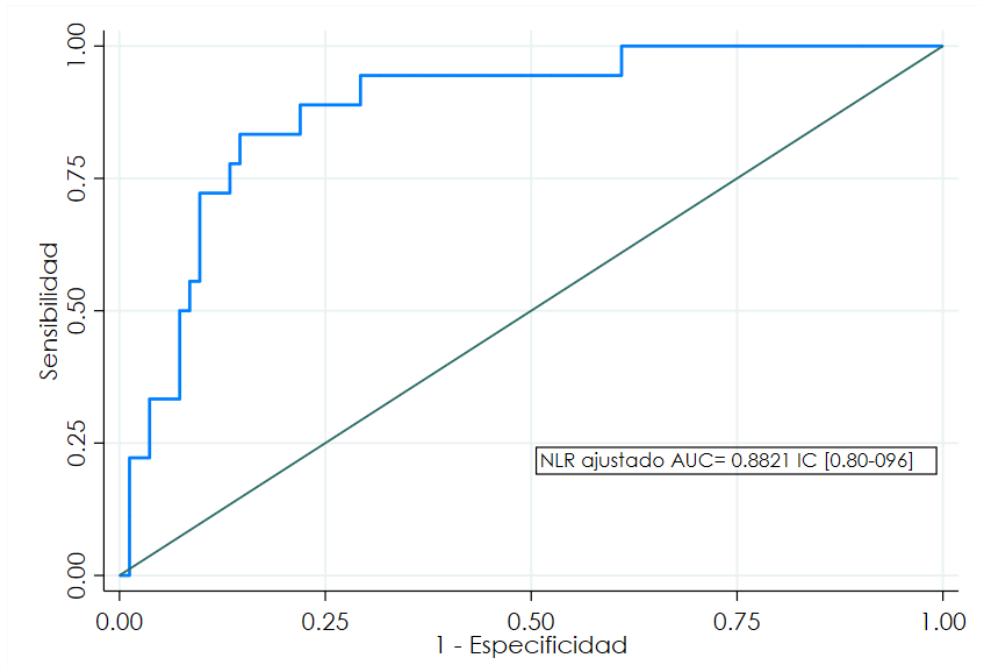


Figura 3. Modelo Multivariado. Curva ROC de modelo NLR ajustado por sexo y edad sobre mortalidad

NLR. Ratio Neutrófilo - Linfocito.
Fallecidos (n=18); Sobrevivientes (n=82)

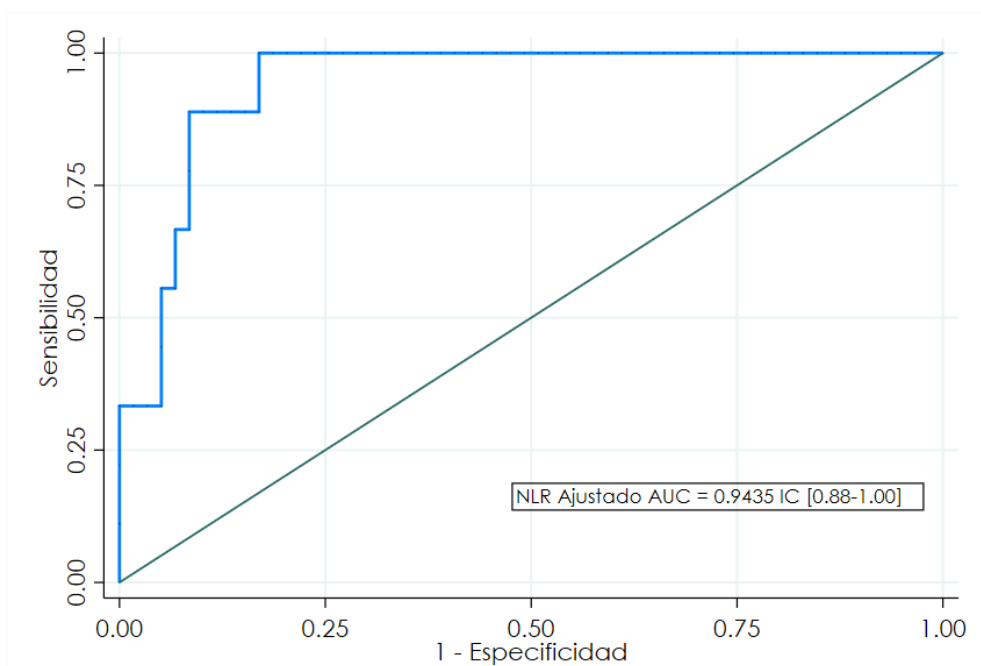


Figura 4. Modelo Multivariado. Curva ROC de modelo NLR ajustado por sexo, edad y número de comorbilidades sobre mortalidad

NLR. Ratio Neutrófilo – Linfocito.
Fallecidos (n=18); Sobrevivientes (n=82)

9. Discusión

Este estudio tuvo por objetivo comparar los niveles de determinados biomarcadores inmunológicos e inflamatorios entre los dos grupos de la cohorte (fallecidos y sobrevivientes). Los pacientes que fallecieron presentaron concentraciones más altas de neutrófilos y NLR al momento de su ingreso al hospital, en comparación a los que sí superaron el COVID-19. Estos resultados son consistentes con publicaciones recientes, ya que reportan el desarrollo de neutrofilia en casos severos y terminales de COVID-19 (55,118). El aumento de NLR también coincide con lo que se desarrolla en otras enfermedades agudas y crónicas (cáncer, hepatitis, diabetes, sepsis y neumonía viral) (56,79). De acuerdo con lo publicado con respecto a las concentraciones periféricas de linfocitos en pacientes COVID-19, en esta cohorte también se ha observado que en promedio los individuos presentaron linfopenia pero el grupo fallecido presentó un promedio aún más bajo de linfocitos.

De la misma manera, se analizaron las diferencias entre los biomarcadores NLR, PLR y VPM entre los dos grupos y se observó un cambio solo en los valores de NLR entre los fallecidos y sobrevivientes, mas no las otras dos variables. Se presentó un aumento en NLR, esto se debe al aumento de neutrófilos y disminución de linfocitos, como se mencionó anteriormente; la neutrofilia es indicador de que el cuerpo está produciendo una respuesta inflamatoria e inmune innata de gran magnitud y la linfopenia, que el sistema inmune adaptativo está suprimido y no está respondiendo adecuadamente (119). Los niveles de NLR en este estudio (16.97 ± 6.54) han mostrado ser más altos que los reportados en otras publicaciones ya que los individuos severos presentaban valores variando entre 3 y 9.38; sin embargo, existen investigaciones que obtuvieron resultados similares a los nuestros (77,86). En un estudio chino los pacientes críticos tuvieron un valor de NLR de 16.06, de la misma manera otro grupo de investigadores chinos obtuvieron valores de 18.7 en el grupo de no sobrevivientes (77,86). El promedio elevado de NLR en el grupo de fallecidos se puede explicar por la severidad con la que los pacientes ingresan al hospital. Según Zahorec, quien categorizó los niveles de NLR según la intensidad de la reacción inmune-inflamatoria, niveles por encima de 11 hasta 17, reflejan un estado de inflamación severa y estrés fisiológico. Las enfermedades que

generalmente desarrollan niveles de NLR de esta magnitud son choque séptico, bacteriemia y el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (77).

La finalidad de este proyecto fue determinar si los biomarcadores NLR, PLR y VPM tienen poder predictivo sobre la mortalidad por COVID-19. Para ello se evaluó la asociación de cada biomarcador con la variable mortalidad y de las tres variables de interés, solo el ratio neutrófilo – linfocito resultó tener una asociación estadísticamente significativa ($p=0.003$). A partir de este resultado se formaron las curvas ROC, tomando en cuenta los modelos crudos de NLR, PLR, VPM y mortalidad, como también los modelos ajustados de NLR. Se plantearon dos modelos ajustados, el primero incluyendo a los cofactores sexo y edad, y el segundo tomando en cuenta sexo, edad, y el número de comorbilidades. En los tres modelos de las curvas ROC, el biomarcador NLR obtuvo el valor más alto de AUC (AUC1= 0.8977, AUC2=0.8821 y AUC3=0.9435).

Se puede observar que los valores de sensibilidad y especificidad varían dependiendo del valor de punto de corte que se use para la discriminación. Como se ha reseñado en el marco teórico, hay muchos métodos para determinar este valor y esto depende de nuestro objetivo principal. Dado que nuestro estudio busca identificar tempranamente a aquel individuo con mayor riesgo de morir por COVID-19, es ideal maximizar la sensibilidad, pues el objetivo es identificar adecuadamente a los que están en mayor riesgo de morir. Vemos también, que nuestro marcador NLR tiene el mismo punto de corte cuando el método usado es el índice de Youden que cuando es el de máxima sensibilidad. Esto porque el índice de Youden da el valor que optimiza la capacidad discriminadora del biomarcador, dando igual peso o valor a la sensibilidad y a la especificidad (135). El que NLR tenga el mismo punto de corte con Youden que con el método de sensibilidad maximizada es un refuerzo para su idoneidad como marcador discriminador de muerte en pacientes COVID.

Otro hallazgo de nuestro estudio fue la mayor proporción de hombres en el grupo de fallecidos en comparación con las mujeres. Otros estudios han encontrado patrones similares al de nuestro, con respecto al riesgo que tiene el sexo masculino para tener

mayor prevalencia a contagiarse por COVID-19 (136). Esta mayor predisposición puede deberse a causas genéticas, inmunológicas e incluso por el estilo de vida. Genéticamente, el individuo masculino expresa en mayor cantidad el receptor ACE2 - necesario para la unión e invasión del virus SARS-CoV-2 a nuestras células - en comparación a la mujer, haciéndolo más susceptible al contagio. Esto también se presenta entre diferentes etnicidades (136). De la misma manera, un estudio estadounidense, con más de 300 mil adultos, determinó que el sexo masculino es un factor predictor para la hospitalización y muerte por esta enfermedad. Ellos postulan el posible rol protector de las hormonas sexuales femeninas (estrógenos) sobre la respuesta inmune (137). El estudio anterior respalda esta teoría, ya que menciona que, durante la edad reproductiva de la mujer, la mujer es más resistente a contraer infecciones. Asimismo, un estudio en ratones demostró que los estrógenos bloqueaban el desarrollo de la infección por SARS-Cov-2 en ratones hembra (136).

En nuestra investigación también se reportó una diferencia significativa entre la edad de los individuos que no sobrevivieron al virus. Aquellos individuos mayores a 61 años tenían mayor tendencia a morir. Este resultado es consistente con otras publicaciones que asocian la severidad y muerte por esta infección con la edad. Se ha demostrado que la edad por encima de 60 años tiene un riesgo más alto de morir por COVID-19 que la población joven. La predisposición de este grupo etario a no poder superar la enfermedad se debe a un sistema inmune, respiratorio y cardiaco debilitado (138,139).

Otro factor importante es la presencia de comorbilidades, específicamente la cantidad de comorbilidades que tenía cada paciente al momento del ingreso al hospital Cayetano Heredia. Es de gran importancia resaltar que pacientes que ingresaron al hospital con enfermedades autoinmunes fueron excluidos de la cohorte, ya que podrían interferir y actuar como un factor confusor en el estudio. Las comorbilidades que más se presentaron entre los pacientes fueron: obesidad, diabetes mellitus II, hipertensión arterial y asma. Los pacientes que fallecieron padecían de: hipertensión arterial, diabetes mellitus II, obesidad grado I, II y III, y asma. La mayor parte de los individuos

(40% y 17%) presentaron 1 o 2 comorbilidades respectivamente. De ellos, solo 4 pacientes con 1 comorbilidad (40%) y 4 con 2 comorbilidades (40%) fallecieron.

La variación que ocurre sobre el conteo plaquetario durante la infección por SARS-CoV-2 aún se encuentra en discusión, ya que algunos estudios reportan que no existe una diferencia significativa según la severidad de la infección; en cambio otros concluyen lo contrario (63,67,95,98,100,101). Según los resultados de nuestro estudio, el conteo plaquetario disminuye y se desarrolla una condición llamada trombocitopenia. Ésta se caracteriza por la hiperactividad de las plaquetas y luego el consumo y reducción de ellas. Esto concuerda con múltiples estudios publicados recientemente, donde demuestran que la mayor parte de los pacientes COVID-19 con cuadros clínicos severos desarrollan esta condición plaquetaria (140,141). En este estudio la amplitud de distribución eritrocitaria (ADE) mostró un aumento significativo en el grupo de fallecidos ($p=0.008$). A pesar de su significancia estadística, no se utilizó como variable confusora ya que no se conoce exactamente si su incremento se debe al proceso inflamatorio ocasionado por el COVID-19 o si el paciente ya tenía una variación preexistente ya sea por anemia, disfunción tiroidea, malnutrición, deficiencia vitamínica o por la edad del paciente (142,143).

Otro hallazgo interesante es la terapia recibida previo a la hospitalización. La mayoría de pacientes usaron corticoides como dexametasona y prednisona para tratar la infección e inflamación causada por el SARS-CoV-2. Este tipo de medicamento tiene un efecto anti-inflamatorio, de manera que suprime genes inflamatorios como citoquinas, quimioquinas, enzimas, receptores y proteínas (144). Sin embargo, la aplicación de corticoides en la enfermedad COVID-19 aún sigue en estudio. Recientes investigaciones reportan que el uso podría tener riesgos como el desarrollo de una infección secundaria o la prolongación de la replicación viral y esto dependería del tiempo en el que se dé el medicamento (145). Otras investigaciones determinan que el uso de corticoides muestra un desenlace positivo ante un cuadro severo de COVID-19, ya que se debe enfrentar la condición de hiper-inflamación que generalmente se presenta en la tormenta de citoquinas (146).

Entre los tres biomarcadores aplicados en este estudio, que representan el estado inflamatorio del organismo, el que mejor resultados dio fue el biomarcador NLR. Esto se debe a que refleja la relación entre la respuesta inmune innata y la adaptativa. En nuestro estudio los niveles de NLR aumentaron y esto se genera por una incorrecta homeostasis entre estas dos respuestas: se genera la hiperactivación del sistema innato y supresión del adaptativo (147). Este desbalance se puede explicar porque los neutrófilos tienen la función de secretar citoquinas; estas moléculas como consecuencia reclutan a más neutrófilos al sitio de inflamación, que en el caso del COVID-19 sería principalmente a nivel pulmonar, es decir hay un aumento en la cantidad de neutrófilos (147). Sin embargo, la sobreexpresión de citoquinas en este tejido puede generar mayor inflamación y daño agudo en los pulmones, por lo tanto, desencadena un cuadro clínico severo (3,147). La supresión de la respuesta adaptativa por los linfocitos se debe a que algunos virus tienen mecanismos especializados para inactivar la función y/o replicación de estas células de defensa. Por ello, con una concentración reducida de linfocitos la eliminación del patógeno se ve afectada y esto lleva a una infección más grave, por una falta de respuesta (147). Asimismo, se postula que la hiperactivación de neutrófilos y supresión de linfocitos podría provocar una tormenta de citoquinas, que empeoraría el cuadro clínico(3).

El ratio neutrófilo – linfocito es un biomarcador que ya ha sido estudiado extensamente y se ha determinado como factor predictor para varias enfermedades e infecciones; de este estudio se reporta que el NLR es un factor predictor para la muerte por COVID-19. Asimismo, se debe aprovechar la utilidad de este biomarcador, por su fácil accesibilidad, rápida obtención mediante el hemograma automatizado y bajo costo. Otra fortaleza es que -hasta donde sabemos- este estudio ha sido el primero en estudiar el factor predictor de los tres biomarcadores, NLR, PLR y VPM sobre una población peruana y asociarlos con la mortalidad, y no solo a la severidad de la enfermedad. Cabe mencionar que recientemente se han publicado dos estudios que asocia solamente el índice linfocitario (NLR) y el riesgo de muerte en una población de Huancayo (González Álvarez, 2021) y la otra de Puno (Álvarez Jove, 2021), mas no los marcadores inflamatorios PLR y VPM (148,149). Los hallazgos de la edad, sexo y punto de corte del valor de NLR de

nuestro estudio coinciden con los resultados de las tesis publicadas. Gonzáles Álvarez (2021) reporta una edad promedio de los pacientes fallecidos de 59 años y Álvarez Jove (2021) menciona una edad de 61 años, muy similares a nuestro promedio. Estos estudios también presentan una mayor proporción de hombres fallecidos por la enfermedad de COVID-19 en su cohorte (148,149). Por último, el estudio de Gonzáles Álvarez determina un punto de corte de NLR de 8.1 y este valor se asemeja al que se calculó para nuestro estudio que fue de 8.91, sin embargo el de Álvarez Jove muestra un punto de corte de 3.38 para este índice (148,149).

Nuestro estudio también presenta limitaciones, la principal es el pequeño tamaño muestral. La cantidad de pacientes incluidos en el estudio no es suficiente para hacer conclusiones definitivas sobre la totalidad de la población peruana. Esto se ratifica con la potencia estadística, si bien nuestro estudio no encontró diferencias significativas en PLR y VPM, la potencia estadística del tamaño muestral usado es baja (~ 25%), cuando la del marcador NLR es superior al 95%. Esto significa que la no diferencia vista en este estudio puede deberse a que la muestra no fue suficiente para estos dos biomarcadores. Por esta razón se recomienda a futuros investigadores realizar una réplica de este estudio a una mayor escala sobre la población peruana. De la misma manera, se puede considerar que la falta de computarización de las historias clínicas y desorganización del sistema de salud público dificultó la búsqueda y llenado de todos los datos de los pacientes, finalmente afectando el análisis estadístico.

Por tanto, de llegar un paciente COVID para atención hospitalaria con un NLR de 8.9160, podría clasificarlo como paciente de alto riesgo. Este tamizaje temprano permitirá una atención especializada para evitar desenlaces adversos. Este resultado coincide con múltiples estudios que determinan el valor pronóstico de NLR sobre severidad y mortalidad debido a la COVID-19, en los que varía entre 6 y 9 (77,150,151).

La pandemia de COVID-19 que surgió en Wuhan – China en los últimos meses del año 2019, actualmente se ha esparcido por todo el mundo provocando millones de casos con cuadros clínicos severos que requieren de hospitalización y finalmente terminan en

muerte. El SARS-CoV-2 es un virus que tiene alta transmisibilidad entre individuos por su mecanismo sencillo de contagio, a través de gotículas que se esparcen al hablar, estornudar y toser (11). A pesar de la implementación de medidas de contención estrictas desde el primer día que se declaró el Estado de Emergencia, el Perú se ubicó dentro de los 20 países con más contagios por COVID-19 en el mundo durante múltiples meses del año 2020 y 2021. De la misma manera, el Perú fue el país con mayor tasa de caso positivo – fatalidad y actualmente se encuentra en segundo lugar, con una tasa de 9.0% (122). En nuestro país, el COVID-19 ha ocasionado aproximadamente 2.234 millones de casos, los cuales 201 144 terminaron en fallecimientos (30 de noviembre del 2021) y esto se debe a que el sistema de salud del país no ha sido el óptimo para afrontar una enfermedad de esta magnitud (122). La identificación y la implementación de un marcador de mortalidad, que sea asequible en términos económicos y de implementación, sería una gran herramienta para el tratamiento de pacientes COVID-19, el ratio neutrófilo/linfocito, se perfila para serlo.

10. Conclusiones

- El ratio neutrófilo/linfocito se perfila como potencial predictor de mortalidad de pacientes COVID-19. Sin embargo, el ratio plaqueta/linfocito y el volumen plaquetario medio no muestran buen desempeño predictivo.
- Existe una diferencia significativa en las concentraciones de NLR entre el grupo de fallecidos y sobrevivientes; presentando un aumento en los niveles de NLR en los pacientes COVID-19 fallecidos.
- Niveles elevados del ratio neutrófilo/linfocito en el ingreso hospitalario están asociados a mortalidad por SARS-CoV-2.

11. Financiamiento

El estudio principal SIDISI #202329 fue financiado por “Proyectos de Investigación en COVID-19: INS 2020-I” el cual fue aprobado con Resolución Jefatural N°112-2020-J-OPE/INS de fecha de 08 de Mayo de 2020.

12. Referencias

1. da Costa VG, Moreli ML, Saivish MV. The emergence of SARS, MERS and novel SARS-2 coronaviruses in the 21st century. Vol. 165, Archives of Virology. Springer; 2020. p. 1517–26.
2. Zheng J. SARS-coV-2: An emerging coronavirus that causes a global threat. Int J Biol Sci. 2020;16(10):1678–85.
3. García LF. Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19. Front Immunol. 2020 Jun 16;0:1441.
4. Astuti I, Ysrafil. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev. 2020 Jul 1;14(4):407–12.
5. Duan L, Zheng Q, Zhang H, Niu Y, Lou Y, Wang H. The SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein Biosynthesis, Structure, Function, and Antigenicity: Implications for the Design of Spike-Based Vaccine Immunogens. Front Immunol. 2020 Oct 7;11.
6. Huang Y, Yang C, Xu X, Xu W, Liu S. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. Acta Pharmacol Sin 2020 419. 2020 Aug 3;41(9):1141–9.
7. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. Virol J. 2019 May 27;16(1).
8. Gómez CE, Perdiguero B, Esteban M. Emerging SARS-CoV-2 Variants and Impact in Global Vaccination Programs against SARS-CoV-2/COVID-19. Vaccines. 2021 Mar 1;9(3):1–13.
9. Banerjee A, Mossman K, Grandvaux N. Molecular Determinants of SARS-CoV-2 Variants. Trends Microbiol. 2021 Oct 1;29(10):871.
10. Brüssow H. COVID-19: emergence and mutational diversification of SARS-CoV-2. Microb Biotechnol. 2021 May 1;14(3):756.
11. Graham MS, Sudre CH, May A, Antonelli M, Murray B, Varsavsky T, et al. Changes in symptomatology, reinfection, and transmissibility associated with the SARS-CoV-2 variant B.1.1.7: an ecological study. Lancet Public Heal. 2021 May 1;6(5):e335–45.

12. Ozder A. A novel indicator predicts 2019 novel coronavirus infection in subjects with diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2020 Aug 1;166:108294.
13. Hossain MK, Hassanzadeganroudsari M, Apostolopoulos V. The emergence of new strains of SARS-CoV-2. What does it mean for COVID-19 vaccines? *Expert Rev Vaccines.* 2021;1.
14. Edara V-V, Lai L, Sahoo MK, Floyd K, Sibai M, Solis D, et al. Infection and vaccine-induced neutralizing antibody responses to the SARS-CoV-2 B.1.617.1 variant. *bioRxiv.* 2021 May 10;2021.05.09.443299.
15. Alai S, Gujar N, Joshi M, Gautam M, Gairola S. Pan-India novel coronavirus SARS-CoV-2 genomics and global diversity analysis in spike protein. *Heliyon.* 2021 Mar 1;7(3).
16. World Health Organization. Weekly epidemiological update on COVID-19 - 23 November 2021 [Internet]. 2021 Nov [cited 2021 Nov 25]. Available from: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---23-november-2021>
17. John Hopkins University of Medicine. COVID-19 Map - Johns Hopkins Coronavirus Resource Center [Internet]. 2021 [cited 2021 Nov 30]. Available from: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
18. Wang L, Wang Y, Ye D, Liu Q. Review of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) based on current evidence. *Int J Antimicrob Agents.* 2020 Jun 1;55(6):105948.
19. Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends Immunol.* 2020 Dec 1;41(12):1100.
20. Zaki N, Mohamed EA. The estimations of the COVID-19 incubation period: A scoping reviews of the literature. *J Infect Public Health.* 2021 May 1;14(5):638.
21. Krishnan A, Hamilton JP, Alqahtani SA, Woreta TA. COVID-19: An overview and a clinical update. *World J Clin Cases.* 2021 Jan 6;9(1):8.
22. Son K-B, Lee T, Hwang S. Disease severity classification and COVID-19 outcomes, Republic of Korea. *Bull World Health Organ.* 2021 Jan 1;99(1):62.
23. Yuki K, Fujiogi M, Koutsogiannaki S. COVID-19 pathophysiology: A review. Vol. 215, *Clinical Immunology.* Academic Press Inc.; 2020. p. 108427.

24. Díaz-Castrillón F, Toro-Montoya AI. Artículo de revisión SARS-CoV-2/COVID-19: el virus, la enfermedad y la pandemia SARS-CoV-2/COVID-19: The virus, the disease and the pandemic.
25. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun.* 2020 May 1;109:102433.
26. Ganesh B, Rajakumar T, Malathi M, Manikandan N, Nagaraj J, Santhakumar A, et al. Epidemiology and pathobiology of SARS-CoV-2 (COVID-19) in comparison with SARS, MERS: An updated overview of current knowledge and future perspectives. *Clin Epidemiol Glob Heal.* 2021 Apr 1;10:100694.
27. Matthay MA, Zemans RL, Zimmerman GA, Arabi YM, Beitler JR, Mercat A, et al. Acute respiratory distress syndrome. *Nat Rev Dis Prim.* 2018;5(1).
28. Boechat JL, Chora I, Morais A, Delgado L. The immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 immunopathology – Current perspectives. *Pulmonology.* 2021;
29. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Innate Immunity. In: *Molecular Biology of the Cell* [Internet]. 4th ed. Garland Science; 2002 [cited 2021 Jul 23]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26846/>
30. Kasuga Y, Zhu B, Jang KJ, Yoo JS. Innate immune sensing of coronavirus and viral evasion strategies. *Exp Mol Med* 2021 535. 2021 May 6;53(5):723–36.
31. Taefehshokr N, Taefehshokr S, Hemmat N, Heit B. Covid-19: Perspectives on Innate Immune Evasion. *Front Immunol.* 2020 Sep 30;11:2549.
32. Charles A Janeway J, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. The complement system and innate immunity. In: *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease.* 5th ed. Garland Science; 2001.
33. Padilla CML de, Niewold TB. The Type I Interferons: Basic Concepts and Clinical Relevance in Immune-mediated Inflammatory Diseases. *Gene.* 2016 Jan 15;576(1-2):14.
34. Lin F, Young HA. Interferons: Success in anti-viral immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014 Aug 1;25(4):369.
35. Shah VK, Firmal P, Alam A, Ganguly D, Chattopadhyay S. Overview of Immune Response During SARS-CoV-2 Infection: Lessons From the Past. *Front Immunol.* 2020 Aug 7;11:1949.

36. Rabaan A, Al-Ahmed S, Muhammad Ja, Khan A, Sule A, Tirupathi R, et al. Role of Inflammatory Cytokines in COVID-19 Patients: A Review on Molecular Mechanisms, Immune Functions, Immunopathology and Immunomodulatory Drugs to Counter Cytokine Storm. *Vaccines*. 2021 May 1;9(5).
37. Wang J, Yang X, Li Y, Huang J, Jiang J, Su N. Specific cytokines in the inflammatory cytokine storm of patients with COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome and extrapulmonary multiple-organ dysfunction. *Virology* 2021 181. 2021 Jun 4;18(1):1–12.
38. Kim JS, Lee JY, Yang JW, Lee KH, Effenberger M, Szpirt W, et al. Immunopathogenesis and treatment of cytokine storm in COVID-19. *Theranostics*. 2020;11(1):316–29.
39. Yonas E, Alwi I, Pranata R, Huang I, Lim MA, Yamin M, et al. Elevated interleukin levels are associated with higher severity and mortality in COVID 19 – A systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Diabetes Metab Syndr*. 2020 Nov 1;14(6):2219.
40. Liu Y, Sun W, Guo Y, Chen L, Zhang L, Zhao S, et al. Association between platelet parameters and mortality in coronavirus disease 2019: Retrospective cohort study. *Platelets*. 2020 May 18;31(4):490–6.
41. Costela-Ruiz VJ, Illescas-Montes R, Puerta-Puerta JM, Ruiz C, Melguizo-Rodríguez L. SARS-CoV-2 infection: The role of cytokines in COVID-19 disease. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2020 Aug 1;54:62.
42. Seth S, Batra J, Srinivasan S. COVID-19: Targeting Proteases in Viral Invasion and Host Immune Response. *Front Mol Biosci*. 2020 Oct 9;7.
43. Olbei M, Hautefort I, Modos D, Treveil A, Poletti M, Gul L, et al. SARS-CoV-2 Causes a Different Cytokine Response Compared to Other Cytokine Storm-Causing Respiratory Viruses in Severely Ill Patients. *Front Immunol*. 2021 Mar 1;0:381.
44. Leisman DE, Deutschman CS, Legrand M. Facing COVID-19 in the ICU: vascular dysfunction, thrombosis, and dysregulated inflammation. *Intensive Care Med* 2020 466. 2020 Apr 28;46(6):1105–8.
45. Cavalcante-Silva LHA, Carvalho DCM, Lima É de A, Galvão JGFM, da Silva JS d. F, Sales-Neto JM de, et al. Neutrophils and COVID-19: The road so far. *Int Immunopharmacol*. 2021 Jan 1;90:107233.

46. Dennison D, Al Khabori M, Al Mamari S, Aurelio A, Al Hinai H, Al Maamari K, et al. Circulating activated neutrophils in COVID-19: An independent predictor for mechanical ventilation and death. *Int J Infect Dis.* 2021 Mar 23;106:155–9.
47. Borges L, Pithon-Curi TC, Curi R, Hatanaka E. COVID-19 and Neutrophils: The Relationship between Hyperinflammation and Neutrophil Extracellular Traps. *Mediators Inflamm.* 2020;2020.
48. Children’s Hospitals and Clinics of Minnesota. Hematology - Complete Blood Count Reference Values [Internet]. [cited 2021 Jul 26]. Available from: <http://www.childrensmn.org/services/cancer-and-blood-disorders>
49. Valores Normales de Referencia Hemograma [Internet]. Hospital del Niño . Panamá; [cited 2021 Jul 26]. Available from: <https://hn.sld.pa/wp-content/uploads/2017/11/Valores-Normales-Hematologia.pdf>
50. Reusch N, De Domenico E, Bonaguro L, Schulte-Schrepping J, Baßler K, Schultze JL, et al. Neutrophils in COVID-19. *Front Immunol.* 2021 Mar 25;0:952.
51. Chua RL, Lukassen S, Trump S, Hennig BP, Wendisch D, Pott F, et al. COVID-19 severity correlates with airway epithelium–immune cell interactions identified by single-cell analysis. *Nat Biotechnol* 2020 388. 2020 Jun 26;38(8):970–9.
52. Kong M, Zhang H, Cao X, Mao X, Lu Z. Higher level of neutrophil-to-lymphocyte is associated with severe COVID-19. *Epidemiol Infect.* 2020;148.
53. Khourssaji M, Chapelle V, Evenepoel A, Belkhir L, Yombi JC, Dievoet M-A van, et al. A biological profile for diagnosis and outcome of COVID-19 patients. *Clin Chem Lab Med.* 2020 Dec 1;58(12):2141–50.
54. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Lymphocytes and the Cellular Basis of Adaptive Immunity. In: *Molecular Biology of the Cell.* 4th ed. Garland Science; 2002.
55. LeBien TW, Tedder TF. B lymphocytes: how they develop and function. *Blood.* 2008 Sep 1;112(5):1570.
56. Zhao Q, Meng M, Kumar R, Wu Y, Huang J, Deng Y, et al. Lymphopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A systemic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis.* 2020 Jul 1;96:131.
57. Reina J. The SARS-CoV-2, a new pandemic zoonosis that threatens the world.

Vol. 21, Vacunas. Ediciones Doyma, S.L.; 2020. p. 17–22.

58. Wagner J, DuPont A, Larson S, Cash B, Farooq A. Absolute lymphocyte count is a prognostic marker in Covid-19: A retrospective cohort review. *Int J Lab Hematol*. 2020 Dec 1;42(6):761–5.
59. Koupenova M, Freedman JE. Platelets and COVID-19: Inflammation, Hyperactivation and Additional Questions. *Circ Res*. 2020;127(11):1419.
60. Hottz ED, Bozza FA, Bozza PT. Platelets in Immune Response to Virus and Immunopathology of Viral Infections. *Front Med*. 2018 Apr 1;0(APR):121.
61. Portier I, Campbell RA. Role of Platelets in Detection and Regulation of Infection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2021 Jul 26];41(1):70–8. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/ATVBAHA.120.314645>
62. Korniluk A, Koper-Lenkiewicz OM, Kamińska J, Kemonia H, Dymicka-Piekarska V. Mean Platelet Volume (MPV): New Perspectives for an Old Marker in the Course and Prognosis of Inflammatory Conditions. *Mediators Inflamm*. 2019;2019.
63. Wool GD, Miller JL. The Impact of COVID-19 Disease on Platelets and Coagulation. *Pathobiology*. 2021 Jan 1;88(1):1.
64. Izak M, Bussel JB. Management of thrombocytopenia. *F1000Prime Rep*. 2014 Jun 2;6.
65. Gauer R, Braun MM. Thrombocytopenia. *Am Fam Physician*. 2012 Mar 15;85(6):612–22.
66. Zhang S, Liu Y, Wang X, Yang L, Li H, Wang Y, et al. SARS-CoV-2 binds platelet ACE2 to enhance thrombosis in COVID-19. *J Hematol Oncol*. 2020 Sep 4;13(1).
67. Xu P, Zhou Q, Xu J. Mechanism of thrombocytopenia in COVID-19 patients. *Ann Hematol*. 2020 Jun 1;99(6):1205.
68. Assinger A. Platelets and Infection – An Emerging Role of Platelets in Viral Infection. *Front Immunol*. 2014;5(DEC).
69. Mei H, Luo L, Hu Y. Thrombocytopenia and thrombosis in hospitalized patients with COVID-19. *J Hematol Oncol* 2020 131. 2020 Dec 1;13(1):1–3.

70. Lee KH, Hui KP, Tan WC. Thrombocytopenia in sepsis: a predictor of mortality in the intensive care unit. *Singapore Med J.* 1993 Jun;34(3):245–245.
71. Mirsaeidi M, Peyrani P, Aliberti S, Filardo G, Bordon J, Blasi F, et al. Thrombocytopenia and thrombocytosis at time of hospitalization predict mortality in patients with community-acquired pneumonia. *Chest.* 2010 Feb 1;137(2):416–20.
72. Kiran Bhakhri B, Nandwani S, Singh N, Rai R, Kumar Singh D. Early hematological parameters as predictors for outcomes in children with dengue in northern India: A retrospective analysis. *J Brazilian Soc Trop Med [Internet].* 2021 [cited 2021 Jul 19];54(05192020):1–7. Available from: www.scielo.br/rsbmt/www.rsmt.org.br
73. Battinelli EM. COVID-19 concerns aggregate around platelets. *Blood.* 2020 Sep 10;136(11):1221.
74. Song M, Graubard BI, Rabkin CS, Engels EA. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and mortality in the United States general population. *Sci Reports* 2021 111. 2021 Jan 11;11(1):1–9.
75. Faria SS, Fernandes PC, Silva MJB, Lima VC, Fontes W, Freitas R, et al. The neutrophil-to-lymphocyte ratio: A narrative review. Vol. 10, *ecancermedicalscience. Cancer Intelligence*; 2016.
76. Liu J, Liu Y, Xiang P, Pu L, Xiong H, Li C, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts critical illness patients with 2019 coronavirus disease in the early stage. *J Transl Med.* 2020 May 20;18(1):206.
77. Zahorec R. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, past, present, and future perspectives. *Bratislava Med J.* 2021;122(7):474–88.
78. Wu L, Zou S, Wang C, Tan X, Yu M. Neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratio in Chinese Han population from Chaoshan region in South China. *BMC Cardiovasc Disord.* 2019 May 27;19(1):125.
79. Forget P, Khalifa C, Defour J-P, Latinne D, Pel M-C Van, Kock M De. What is the normal value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio? *BMC Res Notes.* 2017 Jan 3;10(1):1–4.
80. Yang AP, Liu J ping, Tao W qiang, Li H ming. The diagnostic and predictive role of NLR, d-NLR and PLR in COVID-19 patients. *Int Immunopharmacol.* 2020 Jul 1;84:106504.

81. Comer SP, Cullivan S, Szklanna PB, Weiss L, Cullen S, Kelliher S, et al. COVID-19 induces a hyperactive phenotype in circulating platelets. *medRxiv*. 2020 Aug 5;2–24.
82. Shen Y, Huang X, Zhang W. Platelet-to-lymphocyte ratio as a prognostic predictor of mortality for sepsis: interaction effect with disease severity—a retrospective study. *BMJ Open*. 2019 Jan 1;9(1):e022896.
83. Ni A. Reference Values of Neutrophil-Lymphocyte Ratio, Platelet-Lymphocyte Ratio and Mean Platelet Volume in Healthy Adults in North Central Nigeria. 2016;
84. Qu R, Ling Y, Zhang Y, Wei L, Chen X, Li X, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio is associated with prognosis in patients with coronavirus disease-19. *J Med Virol*. 2020 Sep 1;92(9):1533–41.
85. Ye G, Chen Q, Chen X, Liu Y, Yin T, Meng Q, et al. The prognostic role of platelet-to-lymphocyte ratio in patients with acute heart failure: A cohort study. *Sci Reports* 2019 91. 2019 Jul 23;9(1):1–8.
86. Simadibrata DM, Calvin J, Wijaya AD, Ibrahim NAA. Neutrophil-to-lymphocyte ratio on admission to predict the severity and mortality of COVID-19 patients: A meta-analysis. *Am J Emerg Med*. 2021 Apr 1;42:60.
87. Ince N, Güçlü E, Sungur MA, Karabay O. Evaluation of neutrophil to lymphocyte ratio, platelet to lymphocyte ratio, and lymphocyte to monocyte ratio in patients with cellulitis. *Rev Assoc Med Bras*. 2020 Sep 1;66(8):1077–81.
88. Gasparyan AY, Ayzazyan L, Mukanova U, Yessirkepov M, Kitas GD. The platelet-to-lymphocyte ratio as an inflammatory marker in rheumatic diseases. *Annals of Laboratory Medicine*. 2019;39(4):345–57.
89. Vabret N, Britton GJ, Gruber C, Hegde S, Kim J, Kuksin M, et al. Immunology of COVID-19: Current State of the Science. *CellPress*. 2020 May 16;910–42.
90. Eslamijouybari M, Heydari K, Maleki I, Moosazadeh M, Hedayatzadeh-Omran A, Vahedi L, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-to-Lymphocyte Ratios in COVID-19 Patients and Control Group and Relationship with Disease Prognosis. *Casp J Intern Med*. 2020;11(Suppl 1):531.
91. Raungkaewmanee S, Tangjitgamol S, Manusirivithaya S, Srijaipracharoen S, Thavaramara T. Platelet to lymphocyte ratio as a prognostic factor for epithelial ovarian cancer. *J Gynecol Oncol*. 2012;23(4):265.

92. Gowda SB, Gosavi S, Rao AA, Shastry S, Raj SC, Menon S, et al. Prognosis of COVID-19: Red Cell Distribution Width, Platelet Distribution Width, and C-Reactive Protein. *Cureus*. 2021 Feb 2;13(2).
93. Gunluoglu G, Yazar EE, Veske NS, Seyhan EC, Altin S. Mean platelet volume as an inflammation marker in active pulmonary tuberculosis. *Multidiscip Respir Med*. 2014 Dec 28;9(1):11.
94. Ozenen GG, Bal ZS, Umit Z, Bilen NM, Arslan SY, Yurtseven A, et al. Demographic, clinical, and laboratory features of COVID-19 in children: The role of mean platelet volume in predicting hospitalization and severity. *J Med Virol*. 2021 May 1;93(5):3227–37.
95. Güçlü E, Kocayığit H, Okan HD, Erkorkmaz U, Yürümez Y, Yaylacı S, et al. Effect of COVID-19 on platelet count and its indices. *Rev Assoc Med Bras*. 2020 Sep 1;66(8):1122–7.
96. Sanz AM, Martinez DM, Valencia A, Flórez L, Tovar D, Parra-Lara LG, et al. Could Mean Platelet Volume Predict Platelet Count Recovery in Dengue Virus Infection? *Open Forum Infect Dis*. 2019 Oct 23;6(Supplement_2):S791–S791.
97. Güçlü E, Kocayığit H, Okan HD, Erkorkmaz U, Yürümez Y, Yaylacı S, et al. Effect of COVID-19 on platelet count and its indices. *Rev Assoc Med Bras*. 2020 Sep 11;66(8):1122–7.
98. Yatim N, Boussier J, Chocron R, Hadjadj J, Philippe A, Gendron N, et al. Platelet activation in critically ill COVID-19 patients. *Ann Intensive Care* 2021 111. 2021 Jul 17;11(1):1–12.
99. Wool GD, Miller JL. The Impact of COVID-19 Disease on Platelets and Coagulation. *Pathobiology*. 2021 Jan 1;88(1):15–27.
100. Welder D, Jeon-Slaughter H, Ashraf B, Choi S-H, Chen W, Ibrahim I, et al. Immature platelets as a biomarker for disease severity and mortality in COVID-19 patients. *Br J Haematol*. 2021 Aug 1;194(3):530–6.
101. Jiang S-Q, Huang Q-F, Xie W-M, Lv C, Quan X-Q. The association between severe COVID-19 and low platelet count: evidence from 31 observational studies involving 7613 participants. *Br J Haematol*. 2020 Jul 1;190(1):e29–33.
102. Li X, Liu C, Mao Z, Xiao M, Wang L, Qi S, et al. Predictive values of neutrophil-to-lymphocyte ratio on disease severity and mortality in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care* 2020 241. 2020 Nov 16;24(1):1–

- 10.
103. Fois AG, Paliogiannis P, Scano V, Cau S, Babudieri S, Perra R, et al. The Systemic Inflammation Index on Admission Predicts In-Hospital Mortality in COVID-19 Patients. *Molecules*. 2020 Dec 4;25(23).
104. Chan AS, Rout A. Use of Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-to-Lymphocyte Ratios in COVID-19. *J Clin Med Res*. 2020;12(7):448–53.
105. Sarkar S, Kannan S, Khanna P, Singh AK. Role of platelet-to-lymphocyte count ratio (PLR), as a prognostic indicator in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol*. 2021;
106. Jimeno S, Ventura P, Castellano J, García-Adasme S, Miranda M, Touza Pa, et al. Prognostic implications of neutrophil-lymphocyte ratio in COVID-19. *Eur J Clin Invest*. 2021 Jan 1;51(1).
107. Rokni M, Ahmadikia K, Asghari S, Mashaei S, Hassanali F. Comparison of clinical, para-clinical and laboratory findings in survived and deceased patients with COVID-19: diagnostic role of inflammatory indications in determining the severity of illness. *BMC Infect Dis* 2020 201. 2020 Nov 23;20(1):1–11.
108. Wang R, He M, Yin W, Liao X, Wang B, Jin X, et al. The Prognostic Nutritional Index is associated with mortality of COVID-19 patients in Wuhan, China. *J Clin Lab Anal*. 2020 Oct 1;34(10).
109. Del Carpio-ORantes L, García-Méndez S, Hernández-Hernández S. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio and systemic immune-inflammation index in patients with COVID-19-associated pneumonia . *Gaceta Médica de México*. 2020. p. 527–31.
110. Ozder A. A novel indicator predicts 2019 novel coronavirus infection in subjects with diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2020 Aug 1;166:108294.
111. Daniels S, Wei H, Denning DW. Platelet size as a predictor for severity and mortality in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *medRxiv*. 2021 Jul 19;2021.07.15.21260576.
112. S.M Al-Nimer M, Merza T, Yasin K, Mohammed H. Blood Cells Indices are Determinants of the COVID-19 Outcome: A Cross-Sectional Study from Kurdis Region - Iraq. *Electron J Gen Med*. 2021;15(5).

113. Lanini S, Montaldo C, Ippolito G, Nicastrì E, Vairo F, Agrati C, et al. COVID-19 disease-Temporal analyses of complete blood count parameters over course of illness, and relationship to patient demographics and management outcomes in survivors and non-survivors: A longitudinal descriptive cohort study. *PLoS One*. 2020 Dec 1;15(12).
114. Bas FY, Tola EN, Sak S, Cankaya BA. The role of complete blood inflammation markers in the prediction of spontaneous abortion. *Pakistan J Med Sci*. 2018;34(6):1381–5.
115. Wahed A, Dasgupta A. Benign White Blood Cell and Platelet Disorders. In: *Hematology and Coagulation*. Elsevier; 2015. p. 81–92.
116. Tekin YK, Tekin G. Mean platelet volume-to-platelet count ratio, mean platelet volume-to-lymphocyte ratio, and red blood cell distribution width-platelet count ratio as markers of inflammation in patients with ascending thoracic aortic aneurysm. *Brazilian J Cardiovasc Surg*. 2020;35(2):175–80.
117. World Health Organization. Weekly epidemiological update on COVID-19 - 19 October 2021. 2021 Oct.
118. Park M, Cook AR, Lim JT, Sun Y, Dickens BL. A Systematic Review of COVID-19 Epidemiology Based on Current Evidence. *J Clin Med*. 2020 Mar 31;9(4):967.
119. Chowdhury SD, Oommen AM. Epidemiology of COVID-19. *J Dig Endosc*. 2020 Mar;11(1):3.
120. Ministerio de la Salud. Covid 19 en el Perú - Ministerio del Salud [Internet]. Sala Situacional COVID-19 - Perú. 2021 [cited 2021 May 7]. Available from: https://covid19.minsa.gob.pe/sala_situacional.asp
121. Mortality Analyses - Johns Hopkins Coronavirus Resource Center [Internet]. Mortality Analyses. 2021 [cited 2021 May 7]. Available from: <https://coronavirus.jhu.edu/data/mortality>
122. John Hopkins University of Medicine. Mortality Analyses - Johns Hopkins Coronavirus Resource Center [Internet]. [cited 2021 Nov 30]. Available from: <https://coronavirus.jhu.edu/data/mortality>
123. Parikh R, Mathai A, Parikh S, Sekhar GC, Thomas R. Understanding and using sensitivity, specificity and predictive values. *Indian J Ophthalmol*. 2008;56(1):45–50.

124. Trevethan R. Sensitivity, Specificity, and Predictive Values: Foundations, Plabilities, and Pitfalls in Research and Practice. *Front Public Heal Epidemiol.* 2017;
125. Budczies J, Kaluschen F, Sinn B, Györffy B, Schmitt W, Darb-Esfahani S, et al. Cutoff Finder: A Comprehensive and Straightforward Web Application Enabling Rapid Biomarker Cutoff Optimization. *PLoS ONE*. 2012;7(12).
126. Habibzadeh F, Habibzadeh P, Yadollahie M. On determining the most appropriate test cut-off value: the case of tests with continuous results. *Biochem Medica.* 2016;26(3):297–307.
127. Cerda J, Cifuentes L. Uso de curvas ROC en investigación clínica. Aspectos teórico-prácticos. *Rev Chil infectología.* 2012;29(2):138–41.
128. Fluss R, Faraggi D, Reiser B. Estimation of the Youden Index and its associated cutoff point. *Biometrical J.* 2005;47(4):458–78.
129. DeLong E, DeLong D, Clarke-Pearson D. Comparing the Areas under Two or More Correlated Receiver Operating Characteristic Curves: A Nonparametric Approach. *Biometrics.* 44AD;3(837–845).
130. Begg C, Gonen M, Seshan V. Testing the Incremental Predictive Accuracy of New Markers. *Clin trials.* 2013;10(5).
131. Youngstrom E. A Primer on Receiver Operating Characteristic Analysis and Diagnostic Efficiency Statistics for Pediatric Psychology: We Are Ready to ROC. *J Pediatr Psychol.* 2014;39(2):201–21.
132. Demler O, Pencina M, D’Agostino R. Misuse of DeLong test to compare AUCs for nested models. *Stat Med.* 2012;31(23):2577–87.
133. Dean A, Sullivan K, Soe M. OpenEpi Source Epidemiological Statistics for Public Version [Internet]. Available from: www.OpenEpi.com
134. López-Ratón M, Rodríguez-Álvarez M. Package “OptimalCutpoints.” 2021.
135. Ruopp M, Perkins N, Whitcomb B, Schisterman E. Youden Index and Optimal Cut-Point Estimated from Observations Affected by a Lower Limit of Detection. *Biom J.* 2008;50(3):419–30.
136. Bwire GM. Coronavirus: Why Men are More Vulnerable to Covid-19 Than

Women? *Sn Compr Clin Med.* 2020 Jul;2(7):1.

137. Nguyen NT, Chinn J, Ferrante M De, Kirby KA, Hohmann SF, Amin A. Male gender is a predictor of higher mortality in hospitalized adults with COVID-19. *PLoS One.* 2021 Jul 1;16(7):e0254066.
138. Millar JA, Dao HDN, Stefopoulos ME, Estevam CG, Fagan-Garcia K, Taft DH, et al. Risk factors for increased COVID-19 case-fatality in the United States: A county-level analysis during the first wave. Tu W-J, editor. *PLoS One.* 2021 Oct 14;16(10):e0258308.
139. Ho FK, Petermann-Rocha F, Gray SR, Jani BD, Katikireddi SV, Niedzwiedz CL, et al. Is older age associated with COVID-19 mortality in the absence of other risk factors? General population cohort study of 470,034 participants. *PLoS One.* 2020 Nov 1;15(11).
140. Zong X, Gu Y, Yu H, Li Z, Wang Y. Thrombocytopenia Is Associated with COVID-19 Severity and Outcome: An Updated Meta-Analysis of 5637 Patients with Multiple Outcomes. *Lab Med.* 2021;52(1):10–5.
141. Bhattacharjee S, Banerjee M. Immune Thrombocytopenia Secondary to COVID-19: a Systematic Review. *Sn Compr Clin Med.* 2020 Nov;2(11):1.
142. Owoicho O, Tapela K, Olwal C, Djomkam A, Nganyewo N, Quaye O. Red blood cell distribution width as a prognostic biomarker for viral infections: prospects and challenges. *Futur Med.* 2021;16(1).
143. Zinellu A, Mangoni A. Red Blood Cell Distribution Width, Disease Severity, and Mortality in Hospitalized Patients with SARS-CoV-2 Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Med.* 2021;10(2):286.
144. Barnes P. How corticosteroids control inflammation: Quintiles Prize Lecture 2005. *Br J Pharmacol.* 2006;148(3):245–54.
145. Tang X, Feng Y, Ni J, Zhang J, Liu L, Hu K, et al. Early Use of Corticosteroid May Prolong SARS-CoV-2 Shedding in Non-Intensive Care Unit Patients with COVID-19 Pneumonia: A Multicenter, Single-Blind, Randomized Control Trial. *Respiration.* 2021;100:116–26.
146. Hoon J, Hyun M, Sohn Y, Cho Y, Baek Y, Ho J, et al. Effects of early corticosteroid use in patients with severe coronavirus disease 2019. *BMC Infect Dis.* 2021;21(506).

147. Newton AH, Cardani A, Braciale TJ. The host immune response in respiratory virus infection: balancing virus clearance and immunopathology. *Semin Immunopathol.* 2016 Jul 1;38(4):471.
148. Gonzales Alvarez A. Índice Linfocitario asociado a mortalidad por COVID-19 en pacientes del Hospital Regional Docente Clínico - Quirúrgico "Daniel Alcides Carrión" Huancayo, 2020. Universidad Nacional del Centro del Perú; 2021.
149. Álvarez Jove LN. Valor Predictivo del Índice neutrófilos/ linfocitos y riesgo de mortalidad en pacientes COVID-19 del Hospital III ESSALUD Puno 2020. 2021.
150. Citu C, Gorun F, Motoc A, Sas I, Gorun O, Burlea B. The Predictive Role of NLR, d-NLR, MLR, and SIRI in COVID-19 Mortality. *Diagnostics.* 2021;12(122):1–10.
151. López-Escobar A, Maduruga R, Castellano J, Ruiz de Aguilar S, Velázquez S, Bucar M, et al. Hemogram as marker of in-hospital mortality in COVID-10. *J Investig Med.* 2021;1–8.