



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE MEDICINA
COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN INMUNOLOGÍA CLÍNICA
INSTITUTO DE INMUNOLOGÍA DR. NICOLÁS E. BIANCO C. UCV

**INFECCIÓN POR SARS-CoV-2 EN PACIENTES PEDIÁTRICOS: PERFIL
INMUNOLÓGICO Y SU CORRELACIÓN CLÍNICA**

Trabajo de Grado que se presenta para optar al título de Magister Scientiarum Inmunología
Clínica

Francis Isamarg Crespo Serrano

Tutor: Alexis Hipolito Garcia Piñero

Caracas, 9 diciembre 2022



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE MEDICINA
COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



VEREDICTO

Quienes suscriben, miembros del jurado designado por el Consejo de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela, para examinar el **Trabajo de Grado** presentado por: **FRANCIS ISAMARG, CRESPO SERRANO** Cédula de identidad N° 19.633.250, bajo el título **"INFECCIÓN POR SARS-CoV-2 EN PACIENTES PEDIÁTRICOS: PERFIL INMUNOLÓGICO Y SU CORRELACIÓN CLÍNICA"**, a fin de cumplir con el requisito legal para optar al grado académico de **MAGÍSTER SCIENTIARUM EN INMUNOLOGÍA CLÍNICA-IDI**, dejan constancia de lo siguiente:

1.- Leído como fue dicho trabajo por cada uno de los miembros del jurado, se fijó el día 09 de Diciembre de 2022 a las 10:00 AM., para que la autora lo defendiera en forma pública, lo que ésta hizo en el Instituto de Inmunología "Dr. Nicolás E. Bianco C." mediante un resumen oral de su contenido, luego de lo cual respondió satisfactoriamente a las preguntas que le fueron formuladas por el jurado, todo ello conforme con lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado.

2.- Finalizada la defensa del trabajo, el jurado decidió **aprobarlo**, por considerar, sin hacerse solidario con las ideas expuestas por la autora, que se ajusta a lo dispuesto y exigido en el Reglamento de Estudios de Postgrado.

Para dar este veredicto, el jurado estimó que el trabajo examinado es de gran utilidad científica ya que representa una investigación en la que se evaluó por primera vez la respuesta inmunitaria contra el SARS-CoV-2 en pacientes pediátricos venezolanos.

3.- El jurado por unanimidad decidió otorgar la calificación de **EXCELENTE** al presente trabajo por considerarlo de excepcional calidad.

En fe de lo cual se levanta la presente ACTA, a los 09 días del mes de diciembre del año 2022, conforme a lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado, actuó como Coordinador del Jurado, Alexis H. García Piñero.



María G. López García
C.I. 10.542.668
Hospital de Niños J.M de los Ríos



Leopoldo Deibis
C.I. 4.305.485
Instituto de Inmunología, Facultad de
Medicina, UCV



Alexis H. García Piñero
C.I. 5.905.505
Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, UCV
Tutor(a)

F.T *09/12/22.

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR
PARA LA ENTREGA DEL TRABAJO ACADÉMICO
EN FORMATO IMPRESO Y FORMATO DIGITAL

Yo, Alexis Garcia portador de la Cédula de identidad
Nº 5.975.505, tutor del trabajo: _____
INFECCION POR SARS-CoV-2 EN PACIENTES PEDIATRICOS: PERFIL INMUNOLOGICO Y SU CORRELACION CLINICA.

_____, realizado por el (los) estudiante (es)
Francis Crespo

Certifico que este trabajo es la versión definitiva. Se incluyó las observaciones y modificaciones indicadas por el jurado evaluador. La versión digital coincide exactamente con la impresa.



Firma del Profesor

En caracas a los 13 días del mes de diciembre de 2022.

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE MEDICINA
COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

AUTORIZACIÓN PARA LA DIFUSIÓN ELECTRONICA DE TRABAJO ESPECIAL DE GRADO, TRABAJO DE GRADO Y TESIS DOCTORAL DE LA FACULTAD DE MEDICINA.
UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA.

Yo, (Nosotros) Francis Crespo
autor(es) del trabajo o tesis, _____

INFECCION POR SARS-CoV-2 EN PACIENTES PEDIATRICOS: PERFIL INMUNOLOGICO Y SU CORRELACION CLINICA.

Presentado para optar: Magister Scientiarum Inmunologia Clinica

Autorizo a la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela, a difundir la versión electrónica de este trabajo, a través de los servicios de Información que ofrece la Institución, sólo con fines de académicos y de investigación, de acuerdo a lo previsto en la Ley sobre Derecho de Autor, Artículo 18, 23 y 42 (Gaceta Oficial Nº 4.638 Extraordinaria, 01-10-1993).

<input checked="" type="checkbox"/>	Si autorizo
<input type="checkbox"/>	Autorizo después de 1 año
<input type="checkbox"/>	No autorizo
<input type="checkbox"/>	Autorizo difundir sólo algunas partes del trabajo
Indique:	



Firma(s) autor (es)

Francis Crespo

C.I. Nº 19.633.250

C.I. Nº _____

e-mail: drafranciscrespo@gmail.com

e-mail: _____

En Caracas, a los 13 días del mes de diciembre, de 2022 20

Nota: En caso de no autorizarse la Escuela o Coordinación de Estudios de Postgrado, publicará: la referencia bibliográfica, tabla de contenido (Índice) y un resumen descriptivo, palabras clave y se indicará que el autor decidió no autorizar el acceso al documento a texto completo.

La cesión de derechos de difusión electrónica, no es cesión de los derechos de autor, porque este es Intransferible.

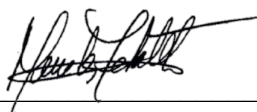
Alexis García

Tutor



Mercedes Zabaleta

Directora del Programa de Maestría en Inmunología Clínica



Leopoldo Deibis

Coordinador del Programa de Maestría en Inmunología Clínica



Soriuska Mayora

Asesor



Douglas Ángulo

Asesor



DEDICATORIA

Inicialmente dedico este trabajo de grado a Dios, por mantener mi convicción intacta, brindarme salud, iluminar mi camino y ser soporte en los momentos de vicisitudes.

A mi madre Aida y a mi tía Ana, por ser mi apoyo incondicional en cada decisión tomada, ser soporte tanto económico como emocional en las adversidades, enseñarme que con sacrificio, constancia y perseverancia todo lo que me proponía podría ser capaz de lograrlo. Motivarme a ser día a día, aquello que tanto anhelaba ser, desde la niñez.

A mi esposo Carlos, por ser el mejor compañero de vida, ser con su amor mi luz en momentos de oscuridad, tolerar mis defectos, enaltecer mis virtudes y motivarme cada día para alcanzar mis metas y ser mejor persona.

A mis compañeros, amigos y colegas del Instituto de Inmunología en especial a la Lic. Wendy Martínez, Sta. Ana Rengel, Sra. Ninoska Ron, Sra. Lucía Padilla, Sr. José Vivas y en paz descansa Sr. José Sotillé, quienes hicieron de cada día en dicho recinto una casa de puertas abiertas, un hogar donde sentirse en familia, ser más que compañeros de trabajo, equipo y amigos de vida.

A mis docentes formadores Dr. Félix Toro, Dr. Alexis García, Dr. Juan De Santics, Dr. Juan Carlos Jiménez, Dra. Mercedes Zabaleta, Dra. Giselle Gil, Msc. Soriuska Mayora, Dra. Inirida Belisario y Dr. Lepoldo Deibis, por ser guías, compartir sus conocimientos en virtud de mi formación profesional, por su paciencia, mística y vocación de servicio.

A mis pacientes quienes fueron libro abierto lleno de aprendizaje, quienes me han ayudado a crecer como persona, a ver la vida y los buenos momentos como un regalo y un don que hay que atesorar de la mejor manera.

Francis

ÍNDICE DE CONTENIDO DE INFORME FINAL

	PÁGINAS
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
MÉTODOS	48
RESULTADOS	54
DISCUSIÓN	59
AGRADECIMIENTO	68
REFERENCIAS	69
ANEXOS	78

INFECCIÓN POR SARS-CoV-2 EN PACIENTES PEDIÁTRICOS: PERFIL INMUNOLÓGICO Y SU CORRELACIÓN CLÍNICA

Francis Crespo Serrano. C.I V-19.633.250. Sexo: femenino. E-mail: drafranciscrespo@gmail.com. Teléfono: 0414-100-9195. Dirección: Instituto de Inmunología UCV-ciudad universitaria, Médico especialista en Pediatría y Puericultuta.

Tutor: Alexis García Piñero. C.I V- 5.975.505. Sexo: masculino. E-mail: alexisgarcia27@gmail.com. Teléfono: 0414-609-4759. Dirección: Instituto de Inmunología UCV-ciudad universitaria. Médico especialista en Pediatría y Puericultura con Maestría en Inmunología clínica. Coordinador de Extensión, Instituto de Inmunología (IDI) UCV.

RESUMEN

El 11 de marzo 2020 por la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró estado de Pandemia por la COVID 19. Varios estudios sugieren que los niños infectados con el coronavirus de tipo 2 causante del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2) significativamente son menos afectados, y cuando desarrollan síntomas, rara vez progresan hasta enfermedad severa, por lo que, se han propuesto diferentes teorías inmunológicas que explican este comportamiento. En Venezuela, para septiembre 2020 se reportó un total de 72.691 casos positivos confirmados, de los cuales 9.658 eran casos activos y de estos 16% correspondían a menores de 19 años, superior a los datos registrados en otras regiones. El presente estudio prospectivo de corte transversal, buscó relacionar el perfil inmunológico con la expresión clínica de pacientes pediátricos con infección por SARS-CoV-2 ingresados en el Hospital de niños J.M. de los Ríos 2021-2022. Mediante la técnica de citometría de flujo y el inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) se determinaron las diferentes subpoblaciones linfocitarias, concentraciones de interferón gamma (IFN γ), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 10 (IL-10). La muestra estuvo conformada por 72 pacientes, con edades comprendidas entre 1 mes y 18 años, con curso leve de enfermedad 52,8 %, los síntomas principales referidos fueron fiebre, tos y diarrea. Se encontró una correlación entre subpoblaciones de linfocitos TCD4+, TCD8+, linfocitos B, NK, NKT, IL-6 e IL-10 de acuerdo al grupo etario, estado nutricional, uso de esteroides y severidad clínica.

Palabras clave: pacientes pediátricos, COVID-19, perfil inmunológico, clínica.

INFECTION BY SARS-COV2 IN PEDIATRIC PATIENTS: IMMUNE PROFILE AND ITS CLINICAL CORRELATION

SUMMARY

On March 11, 2020, the World Health Organization (WHO) declared a pandemic status for COVID 19. Several studies suggest that children infected with the type 2 coronavirus causing severe acute respiratory syndrome (SARS-CoV-2) are significantly less affected, and when they develop symptoms, they rarely progress to severe disease, so different immunological theories have been proposed to explain this behavior. In Venezuela, by September 2020, a total of 72,691 confirmed positive cases were reported, of which 9,658 were active cases and 16% of these corresponded to children under 19 years of age, higher than the data recorded in other regions. The present prospective cross-sectional study sought to relate the immunological profile with the clinical expression of pediatric patients with SARS-CoV-2 infection admitted to the J.M. de los Ríos Children's Hospital 2021-2022. The different lymphocyte subpopulations, interferon gamma (IFN γ), interleukin 6 (IL-6) and interleukin 10 (IL-10) concentrations were determined by flow cytometry and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The sample consisted of 72 patients, aged between 1 month and 18 years, with mild course of disease 52.8%, the main symptoms reported were fever, cough and diarrhea. A correlation was found between subpopulations of TCD4+, TCD8+, B lymphocytes, NK, NKT, IL-10 and IL-6 according to age group, nutritional status, steroid use and clinical severity.

Key words: pediatric patients, COVID-19, immunological profile, clinical.

INTRODUCCIÓN

El brote de la enfermedad COVID-19, surgió en la población de Wuhan China en diciembre 2019 extendiéndose con rapidez a Europa en primera instancia y luego a Latinoamérica, siendo decretado el 11 de marzo 2020 por la Organización Mundial de la Salud (OMS) estado de Pandemia. El término COVID-19 se utiliza para la enfermedad clínica causada por el Síndrome Respiratorio Agudo Severo Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Los coronavirus humanos que circulan comúnmente se pueden aislar en el 4-8 % de todos los niños con infecciones agudas del tracto respiratorio, tienden a ser leves, a menos que el niño este inmunocomprometido; éste nuevo virus SARS-CoV-2 comparte características y respuesta inmune similar a otros coronavirus.⁽¹⁾

Los niños se ven afectados con menor frecuencia por el SARS-CoV-2; en los Centros Chinos para el Control y la Prevención de Enfermedades informaron que, de los 72.314 casos notificados hasta el 11 de febrero de 2020, solo el 2 % se presentaron en individuos menores de 19 años; esto fue corroborado el 20 de marzo por el Centro Coreano para el Control y la Prevención de Enfermedades el cual informó que el 6,3 % de todos los casos de COVID-19 correspondían a niños menores de 19 años; los cuáles tenían una forma leve de la enfermedad. Varias de las explicaciones iniciales que se plantearon con relación a la baja incidencia de la COVID-19 en niños fue que estos, estaban menos expuestos al virus, eran asintomáticos o tenían síntomas leves similares a los de un resfriado común; razón por la cual tenían menos indicaciones para realizar la prueba de reacción de cadena de polimerasa (PCR). De acuerdo a estudios recientes, la población pediátrica cursa con la COVID-19 a menudo asintomática o menos grave que los adultos, pero con igual posibilidad de contagio a través de gotitas respiratorias, principalmente contacto con familiares adultos. La exposición prolongada en altas concentraciones de aerosoles puede facilitar la transmisión, siendo más propensos a desarrollar síntomas gastrointestinales.^(2,3)

En la población pediátrica hay coinfecciones con otros virus como el *Adenovirus*, *Bocavirus*, *Rinovirus*, *Virus Sincitial Respiratorio*, *Influenza* o *Parainfluenza*, parece existir un patrón cíclico con brotes estacionales entre diciembre y mayo o de marzo a noviembre en el hemisferio sur, lo cual podría condicionar una mejor respuesta inmune y síntomas leves ante el SARS-CoV-2. No está claro por qué la COVID-19 en niños se asocia con un curso de

enfermedad menos grave, se desconoce el patrón de expresión tisular del receptor de la enzima convertidora de angiotensina (ECA2) vía de entrada para el virus SARS-CoV-2 a la célula diana o blanco, el cual se encuentra presente en diferentes tejidos como el miocardio, el riñón, las vías respiratorias y a nivel del endotelio vascular. La unión del virus a la ECA2 desencadena un cambio conformacional en la proteína S del coronavirus, permitiendo la degradación proteolítica por las serina-proteasas TMPRSS2, exponiendo una subunidad de la proteína S que permite su fusión a la membrana celular y facilita el ingreso del virus en el interior de la célula huésped. ⁽³⁾

El objetivo principal de SARS-CoV-2 es el tracto respiratorio y las infecciones respiratorias son frecuentes en los primeros años de vida, estas infecciones conllevan a la generación de las subpoblaciones de linfocitos T y B de memoria que prevendrá la reinfección o el desarrollo de la enfermedad severa. Dicha característica inmunológica de los niños, podría basarse en varios factores. En primer lugar, en las primeras fases de la infección, la producción de anticuerpos naturales, en su mayoría de isotipo IgM, generados independientemente de encuentros previos con antígenos, tienen una amplia reactividad y una afinidad variable. En los niños, los linfocitos B1 derivadas del feto contribuyen a dicha producción de anticuerpos naturales en ausencia de estimulación antigénica durante los primeros días de la infección viral, éstos y los linfocitos B de memoria son más abundantes que en el adulto, y son altamente adaptables a nuevos antígenos. Lo cual sugiere, que una respuesta policlonal temprana del linfocito B, con producción de anticuerpos con distintas especificidades, constituye una ventaja que reduce el daño a tejido y favorece la supervivencia del niño para combatir patógenos desconocidos o conocidos, a diferencia del adulto cuya respuesta de anticuerpos naturales dada reducción de los linfocitos B1 y linfocitos B de memoria, limitan la capacidad de adaptarse. En segundo lugar, la etiología viral suele ser la más comúnmente implicada en las infecciones respiratorias del niño, estos virus podrían estar presentes en el tracto respiratorio concomitante con el coronavirus, lo que puede limitar su replicación y la cantidad de copias de ARN viral, contribuyendo a la respuesta inmunitaria innata más eficiente. ^(3,4)

En los últimos meses se han publicado una serie de estudios para establecer susceptibilidad de la población pediátrica a infección por SARS-CoV-2 según su respuesta inmune, planteándose diferentes hipótesis que explicarían los motivos por los que la mayoría de los casos confirmados de la COVID-19 en niños son leves o moderados, siendo muy poco frecuente la evolución a grave; en primer lugar la teoría de menor grado de expresión y función

de la ECA2, lo cual se traduce en un papel protector frente a la lesión pulmonar y en una mayor capacidad regenerativa del epitelio alveolar de los niños contribuyendo a una recuperación precoz. Otra de las teorías es que los niños frente a un estímulo infeccioso presentan mejor respuesta innata que los adultos, la inmunidad innata frente al SARS-CoV-2, al ser un virus ARN de cadena única (ARNss), esta mediada por sensores citosólicos tipo gen inducible del ácido retinoico (RIG1) y endosomales tipo Toll (TLR3) induciendo una respuesta antiviral robusta mediante la producción de interferón de tipo I y posiblemente tipo III en las mucosas, que como primera línea de defensa del organismo podría explicar el menor riesgo que tienen los niños a desarrollar formas graves de la enfermedad, lo cual hace que la inmunidad innata juegue un papel clave en la protección contra el SARS-CoV-2. Por otro lado, se ha establecido la posibilidad de reactividad cruzada con otros coronavirus, responsables hasta del 10 % de las infecciones respiratorias en niños; finalmente una mejor regulación del sistema inmune que no genere una inflamación exagerada, así como, la capacidad regenerativa inmunomediada que podrían tener como resultado el desarrollo de sintomatología leve en los niños.⁽⁴⁾

Todos los factores que han sido investigados para explicar la menor incidencia y gravedad de infección por SARS-CoV-2 en los niños, no descarta la presencia de patologías de base o estado nutricional, factores que pueden aumentar el riesgo de desarrollar complicaciones. Los casos de niños, niñas y adolescentes con diagnóstico positivo para la COVID-19 representaron el 18,55 % del total de casos del nuevo coronavirus confirmados en Venezuela para el 28 de mayo 2020, los primeros casos fueron reportados en el Estado Falcón y Guárico, dichas estadísticas fueron publicadas a través de medios locales no oficiales. Siendo elevado el porcentaje de jóvenes infectados en comparación con otras poblaciones como China o Colombia. De acuerdo a cifras oficiales, para la tercera semana del mes de septiembre de 2020 se reportaron 1.585 casos positivos para SARS-CoV-2 en pacientes menores de 19 años, lo cual constituía el 2.5 % del total de casos confirmados; dicho porcentaje sufrió fluctuaciones, con tendencia al aumento en los subsiguientes meses de la pandemia por la COVID-19. Posterior al surgimiento de variantes y subvariantes del virus ancestral de Wuhan, con una mayor capacidad de contagio y complicaciones en la edad pediátrica; se reportó, según datos oficiales para finales de enero 2021 un total de 126.323 casos positivos, y para enero 2022 la cantidad de 484.021

casos positivos; representando para octubre 2022 los niños menores de 19 años un 18 % del total de casos confirmados.

Entre los hospitales especializados en el Distrito Capital asignados desde el año 2020 para el manejo de pacientes pediátricos con infección por SARS-CoV-2, se destacó el Hospital de niños Dr. José Manuel de los Ríos, ubicado en la parroquia San Bernardino, municipio libertador, el cual constituye un centro de referencia nacional, con una larga historia y trayectoria académica en el establecimiento de la pediatría como especialidad médica en Venezuela; el mismo desempeña un papel asistencial especializado dirigido a la población pediátrica venezolana, reconocido por el manejo de pacientes con patologías crónicas (cardiopatías, nefropatías, enfermedades metabólicas, autoinmunidad); siendo habilitado para la evaluación, diagnóstico, hospitalización, tratamiento y seguimiento de los niños con la COVID-19, según las estrategias para la atención de pacientes establecida por la directiva, comisión de infecciones y los profesionales de salud que allí laboran; manteniendo el manejo de otras enfermedades en la población pediátrica que acude a dicha institución.

Considerando la necesidad de evaluar el comportamiento de la población pediátrica venezolana frente a la COVID-19; así como, la repercusión del estado nutricional o patologías asociadas en la respuesta inmune frente al SARS-CoV-2, se estableció en este estudio evaluar los pacientes ingresados en el área COVID-19 del Hospital de niños J.M de los Ríos, y determinar el perfil inmunológico frente a la infección por SARS-CoV-2.

Planteamiento del problema

El nuevo coronavirus (SARS-CoV-2) ha sido responsable en la región de las Américas de un total de 181.592.278 casos y más de 2.800.000 muertes para noviembre 2022; dichas cifras incluyen tanto adultos como niños y son actualizadas diariamente por la OMS. Los datos sobre las características epidemiológicas, clínicas y perfil inmunológico de los niños infectados son limitados. Se ha demostrado que el SARS-CoV-2 causa enfermedad a través de un mecanismo análogo al SARS-CoV, con daño potencial a órganos vitales como pulmón, corazón, hígado y riñón; la infección plantea un riesgo considerable para los pacientes por la alta prevalencia de neumonía. Con los primeros casos de adultos informados en diciembre de 2019 en Wuhan, China, curiosamente el número total de casos pediátricos sintomáticos era menor que los casos de adultos, lo que sugiere un efecto protector de la edad. Los informes chinos indicaron que los

niños estaban significativamente menos afectados por la COVID-19, y cuando los niños desarrollan síntomas, rara vez presentaban enfermedad severa. Los síntomas comúnmente referidos fueron fiebre (65 %) y tos (45 %). Un tercio de los pacientes con PCR positiva confirmada, permanecieron completamente asintomáticos. Sin embargo, el 6 % de todos los pacientes pediátricos con la COVID-19 desarrollaron una enfermedad grave con mayor prevalencia hasta de un 11 % en los lactantes menores de 1 año.^(5,6)

Los reportes de series de casos en pacientes pediátricos con infección por el SARS-CoV-2, informan cambios radiográficos similares a los presentados por pacientes adultos, hasta en un 50-80 % de los casos, incluso sin progresión a enfermedad grave; siendo las radiopacidades en lóbulos inferiores a predominio periférico, el hallazgo más comúnmente observado.⁽⁶⁾

La experiencia pediátrica en la actualidad con la COVID-19 es relativa, debido a que los patrones de enfermedad son menos claros y justificar un seguimiento estrecho, en lugar de suponer que se trata de una enfermedad leve es mandatorio y cada paciente debe ser individualizado. Estudios recientes, comparan las respuestas inmunitarias de adultos y niños con la COVID-19 detectando diferencias notables a la hora de comprender porque los niños suelen tener una enfermedad más leve. Dos teorías principales podrían estar involucradas y explicar el efecto protector de la edad: diferencias en la inmunidad innata pediátrica en comparación con los adultos, o diferencias en el epitelio de las vías respiratorias y su composición celular que afecta la disponibilidad de sitios de unión viral. La inmunosenescencia constituye una disminución natural de la función inmunológica con el aumento de la edad y es otra posible explicación.⁽⁶⁾

Un estudio publicado por Souza *et al.* en el 2020, reportaron una disminución del recuento de linfocitos en solo el 12,9 % de niños infectados por SARS-CoV-2, a diferencia de los adultos, en los que el 80 % de los casos no graves presentaban linfopenia. Por tanto, la linfopenia puede no ser un indicador confiable de la COVID-19 en niños. Por otro lado, existen un porcentaje de casi un tercio de los niños con la COVID-19 estudiados que también fueron infectados por otros patógenos.⁽⁷⁾

La pandemia por la COVID-19 ha agravado el problema del hambre en muchos países y la Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) advirtió que la crisis puede agregar entre 83 y 132 millones al número de personas desnutridas en el mundo para el año 2020. El Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) publicó en junio del 2020, la necesidad de garantizar el acceso a los servicios e instalaciones de salud en poblaciones pediátricas de Venezuela más vulnerables, dado las limitaciones en regiones como Estado Bolívar, Delta Amacuro, Zulia y Táchira de suministro regular de servicio eléctrico y agua potable, vitales para promover saneamiento e higiene de manos y mitigar la transmisión del virus en regiones fronterizas.⁽⁸⁾

El deterioro de la situación alimentaria, nutricional y de salud en Venezuela se ha profundizado desde el 2014 hasta la actualidad, cuando los indicadores de alimentación, nutrición y salud han mostrado cifras nunca antes vistas, con el surgimiento de fenómenos que expresan situaciones extremas de inseguridad alimentaria en especial en los grupos vulnerables, como lo es la población pediátrica.⁽⁹⁾

Entre los países más vulnerables ante la extensión de la enfermedad COVID-19 en Latinoamérica se encuentra Venezuela, donde los niveles de desnutrición crónica en niños menores de 5 años son elevados, según la Organización de Naciones Unidas (ONU) y la última actualización de la Encuesta Nacional de Condiciones de Vida (ENCOVI) 2019-2020, la cifra de población en situación de inseguridad alimentaria correspondió al 33 % de los hogares, con un aumento del 10 % en comparación con los resultados del 2018. Resulta importante que, dentro de las repercusiones fisiológicas estudiadas por la condición de desnutrición crónica, la repercusión en el metabolismo e inmunidad celular constituye un elemento que impacta directamente en la función del sistema inmunitario del individuo y conlleva a una menor efectividad en la respuesta ante infecciones. De acuerdo con lo anterior, no se había desarrollado un estudio que evaluara la respuesta inmune de la población pediátrica venezolana ante la infección por el SARS-CoV-2, para establecer la evolución clínica de enfermedad; así como la correlación del estado nutricional o patologías crónicas asociadas en dicha respuesta. ^(9, 10)

El presente trabajo se llevó a cabo en el Hospital de Niños Doctor José Manuel de los Ríos, donde se había establecido un área dirigida por la comisión de infecciones con el apoyo

de la directiva y personal de salud que allí labora para la atención, evaluación y hospitalización de casos confirmados y sospechosos de pacientes pediátricos infectados por SARS-CoV-2. Teniendo en cuenta, el control de pacientes con patologías crónicas en dicha institución de referencia nacional, resultó importante evaluar todos los factores que contribuirían a la evolución satisfactoria o no de los pacientes, como lo fueron grupo etario, estado nutricional y la presencia o no de patología crónica. Estableciéndose la siguiente interrogante: ¿Cuál es el perfil inmunológico de infección por el SARS-CoV-2 y su correlación clínica en los pacientes pediátricos ingresados en el Hospital de Niños J.M de los Ríos en los períodos de marzo a mayo 2021 y enero a marzo 2022?

Justificación e importancia

Es imperativa la necesidad urgente de entender por qué el curso del coronavirus que comenzó a fines de 2019 (COVID-19) continúa afectando diferente a grupos de individuos durante la evolución global de la pandemia. Un mayor conocimiento de la enfermedad causada por el SARS-CoV-2, permitió priorizar los limitados recursos de salud disponibles y generar estrategias según riesgos y vulnerabilidad.⁽¹¹⁾

La gran mayoría de los niños con la COVID-19 tuvieron una evolución clínica favorable, sus manifestaciones clínicas y respuesta inmune difieren ampliamente de los casos en pacientes adultos. A pesar del pronóstico favorable, es importante que el papel del niño en la cadena de transmisión se establezca y considerar con precaución aquellos con patologías asociadas que puedan desarrollar enfermedad grave; ante síntomas generales los profesionales de la salud deben sospechar de infección por el SARS-CoV-2 en el paciente pediátrico. Debido a esto, resulta importante desarrollar un estudio de investigación donde se demuestre el comportamiento inmunológico de los pacientes pediátricos infectados por el SARS-CoV-2, a fin de establecer patrones de características clínicas para el abordaje individualizado según las necesidades de grupo etario; así como la repercusión de patologías asociadas o estado nutricional en la evolución de la enfermedad.⁽⁷⁾

La relevancia de los genes HLA, implicados en la respuesta inmune y las demostradas variaciones características de diferentes poblaciones, guarda relación con las diferencias en la morbimortalidad existente por la COVID-19 según etnias. En base a ello, hasta el 25 de

septiembre de 2020, un total de 8.968.835 millones de casos de la COVID-19 habían sido registrados en América Latina y el Caribe, siendo Brasil el país más afectado por esta pandemia en la región, con más de 4.600.000 millones de casos confirmados, seguido por Colombia, con alrededor de 790 mil infectados y México. Según datos de la American Academy of Pediatrics y la Children's Hospital Association, hasta el 30 de julio 2020 más de 338.980 niños habían dado positivo al SARS-CoV-2 en Estados Unidos. La mayor cantidad de casos pediátricos de la COVID-19 se reportaron en California, Florida, Arizona y Tennessee. Se registraron por lo menos 5.000 casos en la mitad de todos los estados del país. Y si bien, casi todos los niños que adquirieron una infección por el SARS-CoV-2 estaban asintomáticos o tenían síntomas leves, un análisis que realizaron en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) con 576 niños de 14 estados que estuvieron hospitalizados por la COVID-19 descubrió que uno de cada tres pacientes pediátricos había ingresado a la unidad de cuidados intensivos (ICU), una proporción similar a la de los adultos. Los síntomas más comunes que se observaron en los niños hospitalizados fueron fiebre y escalofríos, seguidos de síntomas gastrointestinales que incluyeron náuseas o vómitos y dolor abdominal o diarrea. El informe del CDC también concluyó que, a semejanza de las tendencias en los adultos, hubo más hospitalizaciones en el grupo de niños afrodescendientes y de niños hispanos que en niños blancos. En comparación con los niños blancos, la probabilidad de ser hospitalizados por la COVID-19 fue cerca de ocho veces mayor en el caso de los niños hispanos y cerca de cinco veces mayor en el caso de los niños afrodescendientes.⁽¹²⁾

Según datos oficiales publicados por el Ministerio del Poder Popular para la Salud para la fecha del 8 de abril de 2021 nuestro país reportaba un total de 170.189 mil casos positivos confirmados y 1.705 fallecidos, de los cuales 14.461 eran casos activos y de éstos el 11 % corresponde a población menor a 19 años, a diferencia de países europeos o asiáticos donde la prevalencia en población pediátrica se reporta con porcentajes menores al 10 % de los casos confirmados.⁽¹³⁾

Finalmente, evaluar la respuesta inmune de la población pediátrica venezolana es de gran importancia para estimar susceptibilidad a evolución grave o diferencias en relación a otros países en los patrones inmunológicos frente a infección por el SARS-CoV-2. Corroborar las teorías planteadas por estudios publicados sobre la progresión de la enfermedad y el papel de la

respuesta inmune; establecer diferencias del perfil inmunológico en niños en comparación con los adultos lo cual, brinda una oportunidad clave para el desarrollo de nuevas terapias, la investigación y el desarrollo de vacunas y el ajuste de medidas de salud pública de acuerdo a la necesidad de atención.

Antecedentes

Se sabe que la respuesta inmune al SARS-CoV-2 involucra a todos los componentes del sistema inmunitario que juntos parecen ser responsables de la eliminación viral y la recuperación a la infección. No obstante, estas respuestas inmunitarias están implicadas en la progresión de la enfermedad a un proceso más severo.⁽¹⁴⁾

Controlar la respuesta inflamatoria producida por el SARS-CoV-2 es crucial, la respuesta inmune frente a éste en niños y adolescentes versus adultos puede servir como explicación para la evasión de una forma grave de la enfermedad en los primeros. Si bien, las respuestas inmunitarias adaptativas son esenciales para la eliminación del virus, las células inmunitarias innatas, como los macrófagos, pueden contribuir, en algunos casos, a la progresión de la enfermedad. A pesar de que los mecanismos precisos de interacción entre el sistema inmunológico y el SARS-CoV-2 aún se encuentran en estudio, se sugiere que la respuesta inmune innata juega un papel vital en los síntomas clínicos y gravedad de la COVID-19, dicha suposición está en acuerdo con los estudios previos sobre el SARS-CoV, el pariente más cercano al SARS-CoV-2, que infecta predominantemente las vías respiratorias y las células epiteliales alveolares, células endoteliales vasculares y macrófagos.^(15,16)

Actualmente, solo hay información limitada referente al estado inmunológico innato de los pacientes infectados con el SARS-CoV-2. En un estudio publicado en el 2006 por Baas *et al.* concluyeron que el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) estaba asociado con la inducción de citocinas inflamatorias, incluidas IL-1, IL-6, IL-8, CXCL-10 y TNF α , muchas de las cuales se expresan altamente en los pulmones de pacientes con infección por el SARS-CoV.⁽¹⁷⁾

Una revisión publicada en mayo de 2020 por Zhang *et al.* informó, que estudios en pacientes adultos con infección por el SARS-CoV-2 donde se analizaron subconjuntos de

linfocitos y citocinas, concluyeron que todos los pacientes con la COVID-19 grave presentaron linfopenia, con reducción significativa de linfocitos T CD8+ y linfocitos NK, en relación con los pacientes con enfermedad leve; además los niveles séricos de IL-6 en el grupo de pacientes con enfermedad grave fue significativamente mayor que en el grupo leve. También se observó, un aumento significativo de la expresión del receptor activador de linfocitos NK grupo 2 miembro D (NKG2D) presente en linfocitos T CD8+ y linfocitos NK en pacientes con la COVID-19 grave; esta regulación al alza del receptor NKG2D se asoció con el agotamiento de los linfocitos T citotóxicos y linfocitos NK en la etapa inicial de la infección por el SARS-CoV-2, y, por tanto, con progresión hacia enfermedad grave. ⁽¹⁸⁾

En septiembre de 2020 Chu *et al.*, compararon la replicación, tropismo celular y perfil de activación inmunitaria de la infección por el SARS-CoV y el SARS-CoV-2 en tejidos pulmonares humanos in vitro y demostraron que ambos virus pueden infectar igualmente a los neumocitos de tipo I, II y macrófagos alveolares, aunque el SARS-CoV-2 tuvo una mejor capacidad de replicarse en tejidos pulmonares. Curiosamente, a pesar de la replicación viral más eficiente observada en el SARS-CoV-2, éste no logró inducir la producción significativa de los interferones tipo I, II ó III. Además, mientras que la infección por SARS-CoV incrementó la expresión de 11 de 13 (84,62 %) citocinas / quimiocinas proinflamatorias; la infección por SARS-CoV-2 solo reguló al alza 5 de estos 13 (38,46 %) mediadores inflamatorios clave a pesar de replicarse de manera más eficiente. Por lo que se concluyó que el bajo grado de activación de la inmunidad innata podría explicar la evolución leve de la enfermedad o incluso la ausencia de síntomas en muchos pacientes infectados por el SARS-CoV-2, que pudieran incrementar la transmisión del virus sin darse cuenta. ⁽¹⁹⁾

En un estudio realizado en marzo de 2020 por Peng Zhou *et al.* se investigaron 99 casos en Wuhan y se observó el aumento de neutrófilos totales (38 %), la reducción de linfocitos totales (35 %), el aumento de IL-6 en suero (52 %) y aumento de proteína C reactiva (84 %). Otro estudio también realizado en Wuhan, por Fan Wu *et al.*, reveló que, en 41 pacientes de los estudiados, aumentaron los neutrófilos totales y disminuyeron los linfocitos totales en los pacientes de la UCI frente a la atención fuera de la UCI siendo estadísticamente significativos. El aumento de neutrófilos y la disminución de linfocitos también se correlacionaron con la gravedad de la enfermedad y riesgo de fallecimiento. Los pacientes que ameritaron ingreso en

UCI presentaron niveles plasmáticos más altos de citocinas y quimiocinas, tales como: interferón gamma-proteína inducible 10 (IFN- γ / IP-10/CXCL10), proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1), proteínas inflamatorias de macrófagos (MIP-1 α) y factor de necrosis tumoral alpha (TNF α); concluyendo la influencia del estado inflamatorio persistente en la progresión y severidad de la enfermedad. ^(20,21)

La respuesta inmunitaria innata eficaz contra la infección viral depende en gran medida de las respuestas de interferón IFN tipo I y su cascada que culmina en el control de la replicación viral e inducción de una respuesta inmune adaptativa eficaz. En un estudio realizado en febrero de 2016 por Channappanava *et al.* usando un modelo de ratones con infección por SARS-CoV demostró que la replicación viral acelerada estaba acompañada de una señalización retardada de IFN-I y una actividad desregulada de este, así como del acúmulo de monocitos-macrófagos inflamatorios como causa principal del daño al tejido pulmonar. Por lo tanto, la producción excesiva de IFN tipo I es la principal causa de inflamación a nivel del tracto respiratorio y tiene un impacto negativo en el resultado de la infección, debido a que compromete el control viral temprano, lo que conlleva a la migración de neutrófilos y monocitos-macrófagos con producción excesiva de citocinas proinflamatorias. Basado en los datos acumulados para infección por coronavirus anteriormente mencionados, la respuesta inmune innata juega un papel crucial en las respuestas protectoras o perjudiciales y puede abrir una ventana para la intervención inmunológica. ⁽²²⁾

Partiendo de la premisa que la inmunidad innata juega un papel clave, se pueden proponer varias intervenciones; uso de IFN tipo I y antagonistas de algunas citocinas proinflamatorias. Un estudio publicado en octubre de 2013 por Falzarano *et al.* donde se utilizó el IFN de tipo I para el tratamiento en un modelo animal de infección por SARS-CoV o MERS-CoV, determinó que el momento de administración es crucial para producir una respuesta protectora, ya que reduce la replicación del virus, modula la respuesta del huésped y mejora el resultado clínico. El SARS-CoV-2 induce una respuesta de IFN tipo I tardía; lo cual ocasiona pérdida del control de la replicación viral en una fase temprana de la infección, hasta 48 horas después de la infección, condicionando la aparición de edema pulmonar, hipoxia severa y la acumulación de células inflamatorias en el tejido pulmonar; se ha observado progresión a fibrosis de fase tardía del SDRA, respuestas de inflamación sistémica y falla orgánica múltiple.

De acuerdo con la progresión del SDRA, los blancos principales de la infección por el SARS-CoV-2 son las células ciliadas del epitelio de las vías respiratorias y los neumocitos alveolares de tipo II. (23, 24)

La transición entre la respuesta inmunitaria innata y adaptativa es fundamental para el progreso clínico de la infección por el SARS-CoV-2. Es en este momento crucial cuando los eventos regulatorios inmunes, aún poco entendidos, conducirán al desarrollo de una respuesta inmune protectora o una respuesta inflamatoria agravada. La respuesta protectora es linfocito T dependiente, con linfocito T CD4+ cooperando con los linfocitos B, favoreciendo la producción de anticuerpos neutralizantes específicos y la activación de linfocitos T CD8+ capaces de eliminar las células infectadas. (24)

Las moléculas de la superficie celular CD3 +, CD4 +, CD8 + CD16 +, CD19 + y CD56+ marcan y diferencian características morfológicas de subpoblaciones linfocitarias; el linfocito T-helper o cooperador (CD3 +CD4 +), linfocitos T citotóxicos (CD3 + CD8 +), linfocitos B (CD19 +/- CD20 +) y linfocitos NK (CD16 +CD56 +). Estas células están involucradas en la inmunidad celular y humoral frente a la infección viral. Por tanto, es importante aclarar las características de los subconjuntos de linfocitos en la COVID-19, que podrían proporcionar nuevos conocimientos para explorar el mecanismo inmunológico frente a la infección por el SARS-CoV-2.

Chuan Qin *et al.* realizaron un estudio en el 2020, que incluyó 452 pacientes con infección por el SARS-CoV-2, donde observaron incremento de TNF- α , IL-2R, IL-6, IL-8 y IL-10 en pacientes con enfermedad grave comparados con los no grave, sugiriendo el rol de estas citocinas en el desarrollo de la respuesta hiperinflamatoria de la COVID-19. En los casos de pacientes con enfermedad grave, encontraron contaje de linfocitos más bajos, contaje de leucocitos más altos y mayor relación neutrófilos/linfocitos, así como menores porcentajes de monocitos, eosinófilos y basófilos, en relación con pacientes que presentaron enfermedad leve. En ambos grupos de pacientes con la COVID-19, los linfocitos T CD4+ estaban por debajo de los niveles normales y un nivel más bajo de linfocitos T reguladores (Treg) se observó en el grupo de enfermedad grave. Con base a estos datos, concluyeron que la COVID-19 podría afectar a los linfocitos, especialmente los linfocitos T. (25)

En noviembre 2020 Mayora *et al.* realizaron un estudio en Venezuela, donde evaluaron las subpoblaciones linfocitarias como marcador pronóstico de la COVID-19, incluyó 18 pacientes con enfermedad moderada y severa, reportando linfopenia en ambos grupos con disminución significativa de linfocitos T, entre los cuales destacaron los linfocitos T de memoria y linfocitos T CD25+ (marcador de activación). Concluyendo que la disminución de linfocitos T y la expresión del marcador de activación CD25+ se relacionan con la infección por el SARS-CoV-2 y que el CD45RO+ constituye un marcador de severidad en la población adulta. ⁽²⁶⁾

Los linfocitos T (LT), linfocitos B (LB) y las asesinas naturales (NK) tienen un papel importante en mantener el sistema inmune. En la infección por el SARS-CoV-2, los estudios demuestran que hay una marcada linfopenia. En un caso clínico publicado en abril de 2020 por Zhe Xuen *et al.* se estudió un paciente masculino que murió por infección grave por el SARS-CoV-2, para investigar características patológicas de la COVID-19, en sangre se encontró una linfopenia de LT CD4+ y CD8+; sin embargo, ambas poblaciones presentaban un estatus hiperactivado con altas proporciones de CD4+ HLA-DR+ (3,5 %) y CD8+ CD38+ (39,4 %). Además, se encontraron proporciones elevadas de LT proinflamatorios CD4+ CCR6+ y LT CD8+ con altas cantidades de gránulos citotóxicos. Estas poblaciones linfocitarias podrían explicar parcialmente el daño grave ocasionado al sistema respiratorio y al endotelio vascular. ⁽²⁷⁾

Un estudio publicado en el 2020 por Wang *et al.* se observó disminución de linfocitos T CD4 +, linfocitos T CD8 +, linfocitos B y linfocitos NK en los pacientes con la COVID-19. La linfopenia puede deberse a la adhesión del virus o indirectamente por respuestas inmunitarias de mediadores inflamatorios. Además, la migración de linfocitos circulantes hacia los tejidos pulmonares inflamados también puede provocar linfopenia. Entre los pacientes con la COVID-19, los casos graves tenían un nivel más bajo de linfocitos totales, linfocitos T CD4 +, linfocitos T CD8 + y linfocitos B que los casos leves, que fue similar a la alteración descrita en el SARS-CoV. Concluyendo que los linfocitos y sus subconjuntos, especialmente linfocitos T CD8 + podrían ser un predictor potencial de la gravedad de la enfermedad y la eficacia clínica en la COVID-19. En el mismo estudio, también se observó que, en pacientes tratados con antivirales o inmunomoduladores, los linfocitos T CD8+ y linfocitos B se incrementaron, probablemente por el uso de corticoides y su efecto antiinflamatorio. ⁽²⁸⁾

En los niños, las formas graves de la enfermedad o las complicaciones asociadas con el SARS-CoV-2 como el síndrome inflamatorio multisistémico (MIS-C) parece estar relacionada con la desregulación inmune. En septiembre de 2020 García-Salido *et al.* realizan un estudio en España donde se evaluaron tres niños con infección grave por el SARS-CoV-2 hospitalizados en UCIP y mediante la técnica de citometría de flujo, se realizó medición de la expresión de tres moléculas que forman parte de la respuesta celular innata a la infección: CD64, CD18 y CD11a. El CD64 es un receptor de alta afinidad de tipo I para la fracción Fc de la inmunoglobulina G, localizada en la superficie de monocitos, macrófagos, células dendríticas y neutrófilos. El aumento de la densidad de CD64 en la superficie celular está directamente relacionado con la intensidad de estimulación recibida por citocinas inflamatorias. Además, CD18, también conocido como integrina $\beta 2$, participa en la adhesión y señalización de leucocitos. CD11a se asocia con CD18 para formar el antígeno 1 asociado a la función de los linfocitos, o LFA-1. Expresada en leucocitos, esta integrina de linfocitos T juega un papel central en las interacciones leucocitario-célula y en la estimulación de linfocitos. Concluyendo que hubo una mayor expresión de estas tres moléculas en comparación con hallazgos reportados de estudios en otras infecciones respiratorias evaluadas en niños; lo cual sugiere, que la alteración de las células efectoras de la respuesta innata en el paciente pediátrico, induce una respuesta inmune desregulada que puede resultar en inflamación y enfermedad grave, por lo que el uso de terapias inmunomoduladoras en un contexto infeccioso debe basarse en un análisis de riesgo-beneficio. ⁽²⁹⁾

La razón por la que los pacientes pediátricos con la COVID-19 tienen síntomas leves en comparación con los adultos, sigue siendo difícil de explicar, estudios sugieren que la correlación entre la gravedad de la COVID-19 y la carga viral es importante, y que los niños pueden tener menor carga viral. Por otro lado, la enfermedad leve en los niños puede estar relacionada con inmunidad entrenada. Inmunidad entrenada, como nuevo modelo inmune, se refiere al uso de ciertas vacunas como Bacille Calmette-Guerin (BCG) para entrenar la inmunidad innata con el propósito de generar memoria inmunitaria. Se ha demostrado que el BCG proporciona protección inespecífica a los ratones contra la infección por virus de la influenza probablemente por la inducción de la inmunidad entrenada. ^(30,31)

Marco teórico

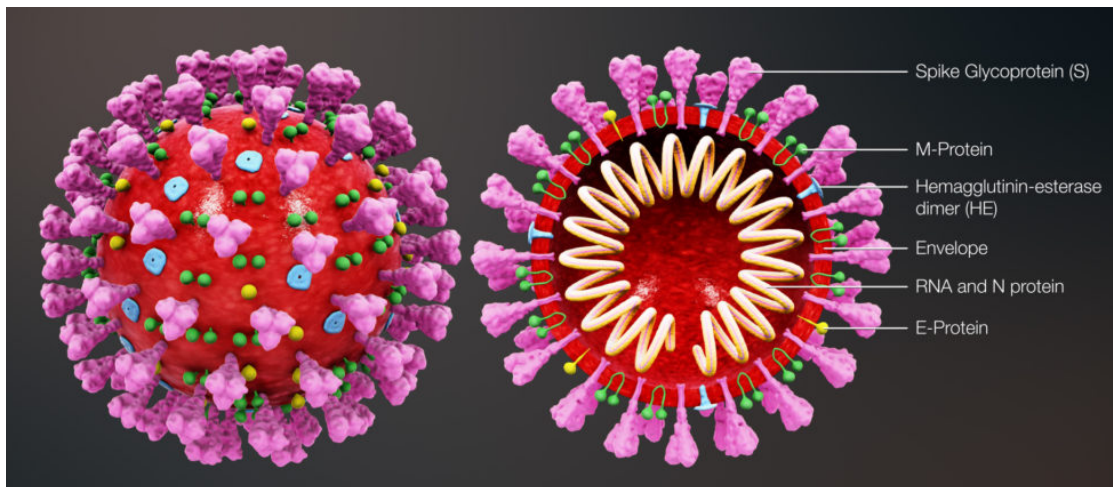
Estructura, clasificación y replicación

Los coronavirus son miembros de la subfamilia Orthocoronavirinae dentro de la familia Coronaviridae (orden Nidovirales). Esta subfamilia comprende cuatro géneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus* de acuerdo a su estructura genética. Los *alfacoronavirus* y *betacoronavirus* infectan solo a mamíferos y normalmente son responsables de infecciones respiratorias en humanos y gastroenteritis en animales. Estructuralmente los coronavirus son virus esféricos de 100-160 nm de diámetro, con envuelta de bicapa lipídica y que contienen ARN monocatenario (ARNss) de polaridad positiva de entre 26 y 32 kilobases de longitud.⁽³²⁾

El SARS-CoV-2 es un virus de ARN perteneciente a la familia de coronavirus, que recibe este nombre por la apariencia característica de las proteínas de su cubierta. Su genoma contiene 29.891 nucleótidos que codifican para 9.860 aminoácidos. El SARS-CoV-2 es un ARN monocatenario de sentido positivo (ARN ss + monocatenario, molécula de ARN lineal) virus perteneciente al grupo grande de coronavirus, aproximadamente el 89 % idéntico al CoVZXC21 similar al SARS de murciélago y el 82 % al SARS-CoV humano. El virión de SARS-CoV-2, su forma infectiva, consiste en una membrana con glicoproteínas dentro de la que se empaqueta el material hereditario compactado con proteínas. En la superficie destaca la presencia de la proteína S, denominada así por formar la espícula, estructura en forma de aguja que tiene un papel relevante en la infección.^(33, 34)

El genoma del virus SARS-CoV-2 codifica 4 proteínas estructurales: la proteína S (proteína de la espiga), la proteína E (envoltura), la proteína M (membrana) y la proteína N (nucleocapside). Figura 1. La proteína N está en el interior del virión asociada al ARN viral, y las otras tres proteínas están asociadas a la envoltura viral. La proteína S forma estructuras que sobresalen de la envoltura del virus y contienen el dominio de unión al receptor de las células que infecta y, por lo tanto, es la proteína determinante del tropismo del virus. Además, es la proteína que tiene la actividad de fusión de la membrana viral con la célula diana y de esta manera permite liberar el genoma viral en el interior de la célula que va a infectar.⁽³⁵⁾

Figura 1. Estructura del SARS-CoV-2



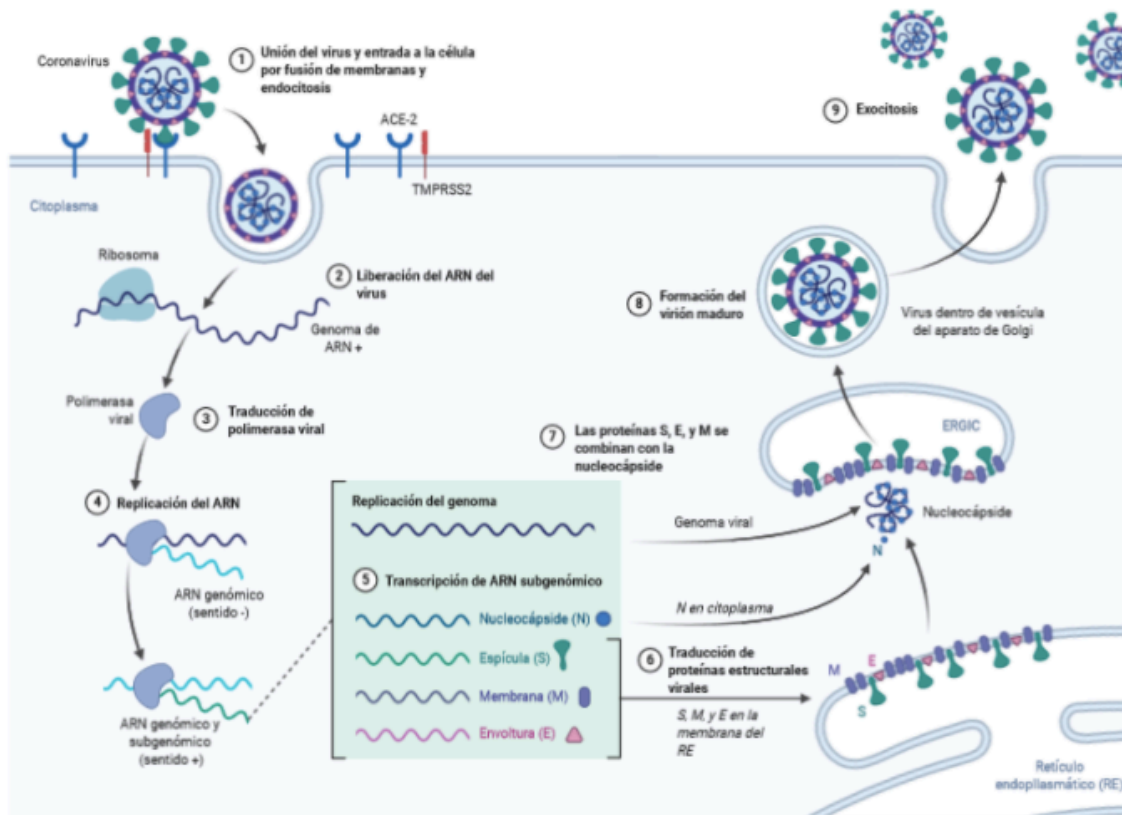
Fuente: Liu Y *et al.* 2020 ⁽³²⁾

El mecanismo de actuación del virus dentro de nuestras células, aunque no está 100% identificado molecularmente, sigue el patrón habitual de virus con envoltura. Figura 2:

- **Adsorción:** El virus se une a la célula hospedadora e introduce su material genético. Cada virus es muy específico y únicamente infectan a un determinado tipo de células. En el caso del SARS-CoV-2 se une a la proteína ECA-2, que está presente en diversos tejidos del cuerpo humano, particularmente en la vía respiratoria superior, considerada la principal vía de entrada a nuestro organismo.
- **Penetración:** La membrana de estos virus es de la misma naturaleza que la membrana celular, por lo que puede ocurrir una fusión de membranas, y entra sólo la cápside o puede entrar por endocitosis, y la envoltura del virus se fusiona con el lisosoma.
- **Decapsidación:** El material genético queda libre en el citoplasma a través de diferentes enzimas que degradan las proteínas víricas.
- **Síntesis y replicación:** En el SARS-CoV-2, al ser un virus ARN, esta fase ocurre en el citoplasma. El virus utiliza la maquinaria celular para su replicación (creación de copias) del ARN y para la síntesis de las 4 proteínas estructurales.
- **Ensamblamiento:** En este momento, la célula está llena de copias de ARN del virus y de proteínas virales presentes en el citoplasma. Por diferentes mecanismos, estas proteínas se van uniendo dejando una copia del virus.
- **Liberación:** A través de mecanismos de exocitosis, lo que les facilita rodearse de membrana. Es decir, la membrana de los virus viene de la membrana celular de la célula que han infectado

previamente a la exocitosis, el virus ha incorporado sus proteínas a la membrana celular en la zona dónde se va a producir esta exocitosis.^(36, 37)

Figura 2. Mecanismo de infección del coronavirus SARS-CoV-2.



Fuente: Cascella M, *et al.* 2020. ⁽³⁷⁾

Etiología

Los coronavirus (CoV) se han convertido en los principales patógenos de los brotes emergentes de enfermedades respiratorias. Son una gran familia de virus de ARN monocatenario (ARNss +) que pueden aislarse en diferentes especies animales. Por razones que aún no se han explicado, estos virus pueden atravesar las barreras de las especies y causar, en los seres humanos, enfermedades que van desde el resfriado común hasta enfermedades más graves como el SARS y MERS. La dinámica del SARS-CoV-2 se desconoce actualmente, pero se especula que también tiene un origen animal. La caracterización genómica ha demostrado que probablemente los murciélagos y los roedores son las fuentes de genes de alfaCoV y

betaCoV. Por el contrario, las especies de aves parecen representar las fuentes de genes de deltaCoV y gammaCoV.^(37,38)

Los miembros de esta gran familia de virus pueden causar enfermedades respiratorias, entéricas, hepáticas y neurológicas en diferentes especies animales, incluidos camellos, ganado, gatos y murciélagos. Hasta la fecha, se han identificado siete CoV humanos (CoVH). Algunos de los CoVH se identificaron a mediados de la década de 1960, mientras que otros solo se detectaron en el nuevo milenio.⁽³⁵⁾

En general, las estimaciones sugieren que el 2 % de la población son portadores sanos de un CoV y que estos virus son responsables de alrededor del 5 % al 10 % de las infecciones respiratorias agudas.

- Los CoV humanos comunes: CoVH-OC43 y CoVH-HKU1 (betaCoV del linaje A); CoVH-229E y CoVH-NL63 (alphaCoVs), pueden causar infecciones respiratorias superiores autolimitadas en individuos inmunocompetentes.

- En sujetos inmunodeprimidos y adultos mayores, pueden ocurrir infecciones del tracto respiratorio inferior. Otros CoV humanos: SARS-CoV, SARS-CoV-2 y MERS-CoV (betaCoV del linaje B y C, respectivamente), pueden provocar epidemias de gravedad clínica variable con manifestaciones respiratorias y extra respiratorias. Con respecto al SARS-CoV, MERS-CoV, las tasas de mortalidad son de hasta el 10 % y el 35 %, respectivamente.⁽³⁵⁾

Por lo tanto, el SARS-CoV-2 pertenece a la categoría de betaCoV. Tiene forma redonda o elíptica y a menudo pleomórfica, con un diámetro de aproximadamente 60 a 140 nm. Como otros CoV, es sensible a los rayos ultravioleta y al calor. En este sentido, aunque la alta temperatura disminuye la replicación de cualquier especie de virus. Actualmente, la temperatura de inactivación del SARS-CoV-2 está bien aclarada; este virus puede inactivarse a partir de los 56°C y resistir el frío incluso por debajo de 0°C. Además, estos virus pueden inactivarse eficazmente mediante disolventes lipídicos, incluidos éter (75 %), etanol, desinfectante que contiene cloro, ácido peroxiacético y cloroformo, excepto la clorhexidina.⁽³⁷⁾

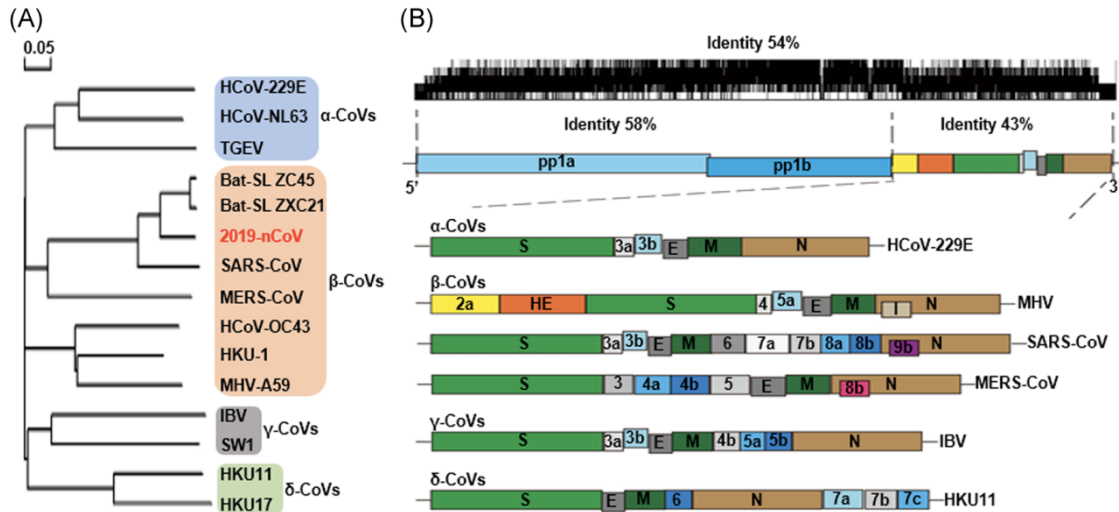
Genoma

El genoma de los CoV es un monocatenario ARN de sentido positivo (ARNss +) (~ 30 kb) con estructura de capa 5' y cola 3'- poli-A. El ARN genómico se utiliza como plantilla para traducir la poliproteína 1a/1ab (pp1a/pp1ab), que codifica proteínas no estructurales (nsps) para formar el complejo de replicación-transcripción (CRT) en vesículas de doble membrana (DMV). Posteriormente, un anidado conjunto de ARN subgenómicos (ARNsg) son sintetizados por CRT de una manera de transcripción discontinua. Estos ARN mensajeros subgenómicos (ARNm) poseen secuencias comunes 5' líder y 3' terminales. Terminación de la transcripción y posterior adquisición de un ARN líder ocurre en las secuencias reguladoras de la transcripción, ubicadas entre los marcos de lectura (ORF). Estos ARNsg de hebra negativa sirven como plantillas para la producción de ARNm subgenómicos. El genoma y los subgenomas de un CoV típico contienen al menos seis ORF. Los primeros ORF (ORF1a/b), aproximadamente dos tercios de toda la longitud del genoma, codifica 16 nsps (nsp1-16), excepto en los Gammacoronavirus que carece nsp1. Hay un desplazamiento de marco de -1 entre ORF1a y ORF1b, lo que conlleva a producción de dos polipéptidos: pp1a y pp1ab. Estos polipéptidos son procesados por proteasas similar a quimotripsina codificada viralmente (3CLpro) o proteasa principal (Mpro) y una o dos proteasas similares a la papaína en 16 nsps.^(33, 38)

La alineación de la secuencia del genoma de CoV muestra un 58 % de identidad en la región de codificación nsp y el 43 % de identidad en la codificación de proteínas estructurales entre diferentes regiones de CoV, con 54 % a nivel del genoma completo, lo que sugiere que las nsps están más conservados y las proteínas estructurales son más diversas y necesitan adaptarse a nuevos hospedadores. Dado que las tasas de mutación en la replicación de los virus de ARN son mucho más altas que el de los virus de ADN, los genomas de los virus de ARN generalmente menos poseen una longitud aproximada de 10 kb. Sin embargo, el genoma de CoV es mucho más grande, con aproximadamente 30 kb de longitud, uno de los virus de ARN más grandes conocidos. El mantenimiento de un genoma tan grande de CoV puede estar relacionado con la característica especial del CoV CRT, que contiene varias enzimas como la exoribonucleasa 3'-5' de nsp14. La exoribonucleasa 3'-5' es exclusiva de los CoV entre todos los virus de ARN, probablemente proporcionando una función de corrección de pruebas del CRT. Un análisis de secuencia muestra que el SARS-CoV-2 posee una estructura típica del genoma de CoV y pertenece al grupo de betacoronavirus que incluye Bat-Tipo SARS (SL)-ZC45, Bat-SL ZXC21,

SARS-CoV y MERS-CoV. Establecido en el árbol filogenético de CoV, el SARS-CoV-2 está más estrechamente relacionado con bat-SL-CoV ZC45 y bat-SL-CoV ZXC21 y más lejanamente relacionados con SARS-CoV. ^(38, 39) Figura 3.

Figura 3. La estructura genómica y el árbol filogenético de los coronavirus.



Fuente: Chen Y *et al*, 2020.⁽³⁸⁾

Origen

En términos genéticos, se ha demostrado que el genoma del nuevo CoVH, aislado de un paciente con neumonía atípica después de visitar Wuhan, tenía una identidad de nucleótidos del 89 % con el SARS de murciélago-CoVZXC21 y el 82 % con el del SARS-CoV. Por esta razón, el nuevo virus se denominó SARS-CoV-2. Aunque los orígenes del SARS-CoV-2 no se comprenden del todo, los análisis genómicos sugieren que el SARS-CoV-2 probablemente evolucionó a partir de una cepa que se encuentra en los murciélagos. La comparación genómica entre la secuencia del SARS-CoV-2 humano y los coronavirus de animales conocidos reveló, de hecho, una homología del 96 % entre el SARS-CoV-2 y el betaCoV RaTG13 de los murciélagos (*Rhinolophus affinis*). Sin embargo, se desconoce el potencial huésped mamífero amplificador, intermedio entre murciélagos y humanos. Dado que la mutación en la cepa original podría haber desencadenado directamente la virulencia hacia los humanos, no es seguro que exista este intermediario.⁽⁴⁰⁾

Funciones de proteínas no estructurales y proteínas estructurales en la replicación viral

La mayoría de los nsp de nsp1-16 se han informado por sus roles en la replicación de los CoVs. Sin embargo, las funciones de algunas de las nsps son desconocidas. Las funciones conocidas de los 16 nsps, se resumen en Tabla 1.

Tabla 1. Las 16 proteínas no estructurales de los coronavirus y sus funciones

nsp	Función
nsp1	Degradación de ARNm celular, inhibiendo señalización IFN.
nsp2	Desconocida.
nsp3	PLP, polipéptidos que escinden y bloquean en el hospedador respuesta inmune innata, promoviendo expresión de citoquinas.
nsp4	Formación de vesícula de doble membrana.
nsp5	Polipéptidos que se escinden e inhiben señalización IFN.
nsp6	Restringir la expansión del autofagosoma, formación de vesícula de doble membrana.
nsp7	Cofactor con nsp8 y nsp12.
nsp8	Cofactor con nsp7 y nsp12.
nsp9	Dimerización y unión de ARN.
nsp10	Proteína de andamio para nsp14 y nsp16.
nsp11	Desconocida.
nsp12	Dependiente del cebador.
nsp13	ARN helicasa, 5' trifosfatasa.
nsp14	Exoribonucleasa.
nsp15	Endoribonucleasa, evasión de sensores de RNAs.
nsp16	2' - O - MTasa; evitando el reconocimiento de MDA5, regulando negativamente la inmunidad innata

Fuente: Neuman BW et al. 2013. ⁽⁴¹⁾

Cuatro proteínas estructurales son esenciales para el ensamblaje del virión e infección de CoV. Los homotrímeros de las proteínas S forman los picos en la superficie viral y son responsables de la unión al huésped. La proteína M tiene tres dominios transmembrana y da

forma a los viriones, promueve la curvatura de la membrana y se une a la nucleocápside. La proteína E juega un papel en el ensamblaje del virus y liberación, y participa en la patogénesis viral.^(41, 42)

Transmisión

El modo primario de infección es la transmisión de persona a persona a través del contacto cercano, que ocurre mediante la generación de aerosoles (microgotas) emitidas por individuos infectados a través de tos o estornudos. La enfermedad por el SARS-CoV-2 tiene un período de incubación asintomático probable de entre 2 y 14 días durante el cual se podría transmitir el virus. La rápida propagación de SARS-CoV-2 se ha producido con un índice de reproducción o R_0 básico de 2,2-2,6; esto significa que en promedio cada individuo tiene el potencial de transmitir la infección a otras 2 o 3 personas. Sin embargo, esta R_0 se ha incrementado con la aparición de nuevas variantes y subvariantes.^(43, 44)

Los países han implementado intervenciones más proactivas como el cierre de las escuelas y las reglas de quedarse en casa, que han mitigado la epidemia en muchas regiones. Una de las estrategias más eficaces para frenar una epidemia es reducir interacciones personales a través del distanciamiento social y la prohibición de grandes reuniones. Estudio realizado por Xinhua Yu y colaboradores (2020), basado en simulaciones han demostrado que reducir el número de contactos entre los jóvenes, por sí solo no afecta la magnitud de la epidemia significativamente en términos de hospitalizaciones y muertes debido a la COVID-19. Por otro lado, reducir el número de contactos solo entre las personas mayores no solo mitiga el impacto de la epidemia entre ellos, pero también cambia el curso de la epidemia entre jóvenes, a pesar de que siguen siendo muy activos. Las personas mayores a menudo tienen un sistema inmunológico más débil (inmunosenescencia) y múltiples condiciones crónicas subyacentes, si están infectados con el virus, es más probable que desarrollen formas severas de la enfermedad porque no pueden eliminar al virus efectivamente. Por lo tanto, durante una pandemia como la COVID-19, los adultos mayores son las personas que tienen más probabilidades de ser hospitalizadas y morir a causa de las complicaciones de la infección.⁽⁴⁴⁾

Inmunopatogenia

La respuesta inmune a diferentes invasiones patológicas en el cuerpo humano está mediada por dos brazos; inmunidad innata y adquirida. La inmunidad innata es el primer brazo de la respuesta inmune a las infecciones virales. La respuesta antiviral se desencadena al detectar los diferentes antígenos virales por los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) de las células infectadas. Tal respuesta, es crucial ya que actúa para suprimir la replicación viral y diseminarse a otras células. También es requerido para programar respuestas inmunes adaptativas funcionales y, por lo tanto, coordina toda la respuesta inmunitaria del huésped a la infección. La respuesta inmune innata a los virus se compone de tres clases principales de PRR, denominadas RIG-I (receptores similares al gen inducible de ácido retinoico), Receptores similares al RIG-I (RLR), los receptores tipo toll (TLR) y los receptores tipo Nod (dominio de oligomerización de nucleótidos) (NLRs). Estos receptores detectan moléculas específicas dentro del virus denominado PAMP (patrones moleculares asociados a patógeno) y luego envían señales a través de varios mensajeros para activar factores de transcripción que impulsan la expresión de genes antivirales y varias citocinas, como los interferones de tipo I y III y la IL-1 β . La producción de estas citocinas es esencial para la activación de toda la respuesta inmune contra la infección viral; los interferones de tipo I inducen la expresión de moléculas coestimuladoras como CD80, CD86 y CD40 que conducen a la maduración de las células dendríticas (DC), así como presentación de antígeno en MHC clase I y la presentación cruzada de antígenos virales.^(45, 46)

Los receptores tipo Toll (TLR) se expresan en varias células inmunitarias, incluyendo macrófagos, células dendríticas (DC), linfocitos B, tipos específicos de linfocitos T, e incluso en células no inmunes como fibroblastos y células epiteliales. Hasta la fecha, se han identificado trece miembros de la familia TLR. Los TLR pertenecen a las glucoproteínas integrales de membrana de tipo I, que comprenden un dominio extracelular (LRR), una sola hélice transmembrana y un dominio de señalización citoplasmático homólogo al del receptor de interleucina 1 (IL-1R), llamado dominio del receptor Toll-interleucina 1 (TIR).⁽⁴⁷⁾

Los virus por su parte poseen varias proteínas que facilitan su entrada a la célula huésped, siendo una de las más importantes las vioporinas que son capaces de alterar la permeabilidad celular permitiendo la creación de canales iónicos virales que están involucrados en varios estadios de la infección y juegan un papel importante en la replicación de su genoma y

ensamblaje de viriones. Múltiples proteínas se les ha asignado actividad de viroporina en los CoV, con estudios que incluyen virus animales también como el SARS CoV y otros CoV humanos. Las primeras proteínas que han demostrado actividad de formación de canales de visualización fueron las proteínas E de envoltura de membrana de SARS-CoV y la proteína E del virus de la hepatitis murina.^(45, 46)

Inmunidad innata frente a SARS-CoV-2

La activación de la vía del IFN limita la replicación viral e induce la posterior respuesta inmune adaptativa. Como se indicó, el SARS-CoV y el SARS-CoV-2 parecen compartir como receptor la ACE2. Este receptor propuesto para SARS-CoV-2 se expresa principalmente en las células alveolares tipo 2 del pulmón. Los receptores ACE2 también se encuentran en monocitos, macrófagos o células endoteliales habiéndose descrito también neurotropismo por SARS-CoV-2. Los macrófagos, tras verse infectados, realizan presentación de antígenos a los linfocitos T. Este proceso, en el que se añade la presencia de PAMP derivados de virus, conduce a la activación y diferenciación del linfocito T, incluida la producción de citocinas asociadas con los diferentes subconjuntos de linfocitos T. En el caso de SARS-CoV y MERS-CoV, destaca su capacidad para suprimir la respuesta a la infección viral. Ambos coronavirus implementan múltiples estrategias para interferir con la señalización que conduce a la producción de IFN. Dichas estrategias de amortiguación se encuentran estrechamente asociadas a la gravedad de la enfermedad. En los casos graves o letales de infección por SARS-CoV o MERS-CoV, se observó una mayor migración de neutrófilos y monocitos-macrófagos al territorio pulmonar. En ambos casos, mediaban el daño respiratorio. Se especuló que en la infección por SARS-CoV o MERS-CoV, el retraso en la respuesta IFN tipo I comprometía el control de la replicación viral. En la infección por SARS-CoV-2, se esperaría un escenario similar con un grado variable de interferencia inmune. La transmisión del virus desde individuos asintomáticos podría estar motivada por una respuesta retardada de la inmunidad innata.^(48, 49)

Papel de linfocitos T en la inflamación por coronavirus

En la respuesta inmune a coronavirus, como se ha dicho, el papel de los linfocitos T es predominante. Este aspecto se hizo evidente en el estudio de la patogenia por MERS-CoV. En el caso de este virus los linfocitos TCD4⁺ eran más susceptibles a la infección y su daño

condicionaba una peor evolución. Dicha susceptibilidad se observó también en el caso de SARS-CoV. En este caso la depleción de linfocitos T CD4⁺ se traducía en un menor reclutamiento de linfocitos en el tejido pulmonar, lo que condicionaba una importante neumonitis intersticial con un menor aclaramiento del virus. A consecuencia de esta desregulación, los linfocitos T CD4⁺ presentes generaban un aumento de citocinas que se traducían en un acúmulo de monocitos y neutrófilos que activaban a su vez otras cascadas inflamatorias mediante la síntesis de citocinas (IL-1, IL-6, IL-8, IL-21, TNF- y MCP-1).⁽²³⁾

Las infecciones por coronavirus (SARS, MERS y SARS-CoV-2) han mostrado niveles elevados de IL-18 e IL-1 β a nivel sérico y tisular lo cual habla de activación del inflammasoma, así como la codificación de dos tipos de viroporinas: proteína E y proteína 3a que son requeridas para la replicación y virulencia del SARS-CoV y que son probablemente las responsables de la activación del inflammasoma. Esto ha sido evidenciado especialmente en macrófagos en los que hay un aumento de iones de K y especies reactivas de oxígeno mitocondrial. En modelos animales de la infección por SARS-CoV que han sido utilizados como ejemplo para explicar la patología del nuevo coronavirus (SARS-CoV-2) se ha detectado afectación de células epiteliales de la vía aérea y alveolar, dendríticas y macrófagos entre otros, evidenciándose en las células dendríticas, que la infección induce baja expresión de niveles de citoquinas antivirales como INF- $\alpha\beta$, mayor expresión citoquinas inflamatorias como TNF e IL-6 y baja expresión de quimiocinas inflamatorias como CCL3, CCL5, CCL2 Y CXCL10. De igual forma, los macrófagos muestran niveles elevados de interferón pero de aparición tardía al igual que muy baja expresión de HLA-DR que activa a los linfocitos, lo que junto a las células alveolares, que expresan grandes cantidades de quimiocinas CCL3, CCL5, CCL2 Y CXCL10, contribuyen a desregular la respuesta innata en la infección por SARS-CoV-2.^(48, 49)

En pacientes con infección severa se encontraron altos niveles de INF- γ , IL-1, IL-6, IL-12 y TGF- β , así como quimiocinas (CCL2, CXCL10, CXCL9 e IL-8) en comparación con pacientes con infecciones no complicadas. Estudios realizados en las epidemias de SARS y MERS mostraron que hay varios factores por los cuales progresa la enfermedad hacia una respuesta inflamatoria exacerbada, tales como:

- Rápida replicación viral: pareciera haber una alta correlación entre altos títulos de la carga viral y la severidad de la enfermedad.

- Infección a nivel alveolar y/o epitelio de vía aérea: los modelos animales muestran que hay una diferencia entre los virus respiratorios que solo afectan la vía aérea pero no el epitelio alveolar (neumocitos tipo I y II) ya que el coronavirus humano parece afectar a ambos tipos de células, en etapas tempranas solo el epitelio superior, pero en ratones gravemente enfermos estaban afectados ambos epitelios.
- Respuesta tardía del INF: el coronavirus humano codifica múltiples proteínas que antagonizan la acción del interferón, por lo cual se retrasa o incluso se evade la respuesta innata que puede llevar a la apoptosis de los linfocitos T resultando en una desregulación de la respuesta inflamatoria.
- Acumulación de macrófagos y neutrófilos: tanto estudios animales como humanos demostraron que la acumulación de células inflamatorias como macrófagos y neutrófilos en tejido pulmonar las cuales son la fuente predominante de una gran cantidad de citoquinas y quimiocinas están asociadas con casos graves de la infección.^(49, 50)

Inmunidad adaptativa

Por otro lado, la respuesta inmune adquirida mediada por linfocitos T y B principalmente, es deficiente dado que los factores que llevan a su desencadenamiento (como la expresión del HLA-DR) se encuentran bajos y los factores que inducen la apoptosis de los mismos como IL-6 y TNF- α están considerablemente altos. De hecho, se han evidenciado en pacientes infectados niveles bajos de linfocitos TCD4+ (cooperadores), TCD8+ (citotóxicos), CD16+ CD56+ (Natural Killers) y CD19+ (linfocitos B) en comparación con individuos sanos, lo cual habla de baja expresión de la respuesta adquirida y en consecuencia niveles bajos de inmunoglobulinas a nivel plasmático, especialmente de IgG en comparación con IgA e IgM. Sin embargo, la respuesta inmune adaptativa también juega un papel crucial en la infección por SARS-CoV-2; los mediadores proinflamatorios activan la respuesta inmune tipo Th1 mediada por linfocitos T CD4 + y linfocitos TCD8 + y Th2 mediada por células plasmáticas derivadas de linfocitos B que promueven la efectiva producción de anticuerpos neutralizantes contra el virus. Los adultos infectados por SARS-CoV-2, especialmente aquellos con una enfermedad grave, generalmente presentan un recuento disminuido de linfocitos y linfocitopenia.^(48, 49)

Mecanismos de evasión inmunitaria

Los coronavirus están particularmente adaptados para evadir la detección inmune. Durante las distintas epidemias de MERS-CoV y SARS-CoV este hecho fue muy estudiado. La interferencia en el reconocimiento de interferón, las señales de comunicación intercelular (*crosstalk*) y la señalización intracelular suponen los 3 modos fundamentales para lograr evadir la respuesta inmunitaria. Desde la perspectiva leucocitaria, los coronavirus infectan de forma primaria a los macrófagos. Estos presentan los antígenos a los linfocitos T, lo que provoca su activación y la producción de citocinas asociadas a los diferentes subtipos de estos (destacando el tipo Th17). Posteriormente estas citocinas amplificarán la respuesta inmune. Como se ha indicado, la producción de IFN tipo I es de gran importancia con intención de optimizar la liberación de proteínas antivirales, promover la fagocitosis por macrófagos y facilitar la protección de células no infectadas. Las proteínas accesorias de los coronavirus pueden interferir en la señalización de la vía de los receptores tipo toll durante la replicación para evitar así la activación. Dicha interferencia deriva en 2 hechos: por un lado, se facilita la persistencia viral y por otro lado, se genera un efecto negativo en los linfocitos NK o en los macrófagos y se altera la activación de los linfocitos T CD8+. La respuesta innata se ve desregulada. Ambos fenómenos en conjunto se pueden acompañar de una producción inadecuada de citocinas condicionando un contexto proinflamatorio. De este modo, la síntesis de IL-1, IL-6, IL-8, IL-21, TNF- α y MCP-1 provoca el reclutamiento de linfocitos y leucocitos en el lugar de infección, lo que potenciaría inicialmente el daño en el tejido respiratorio.⁽⁴⁹⁾

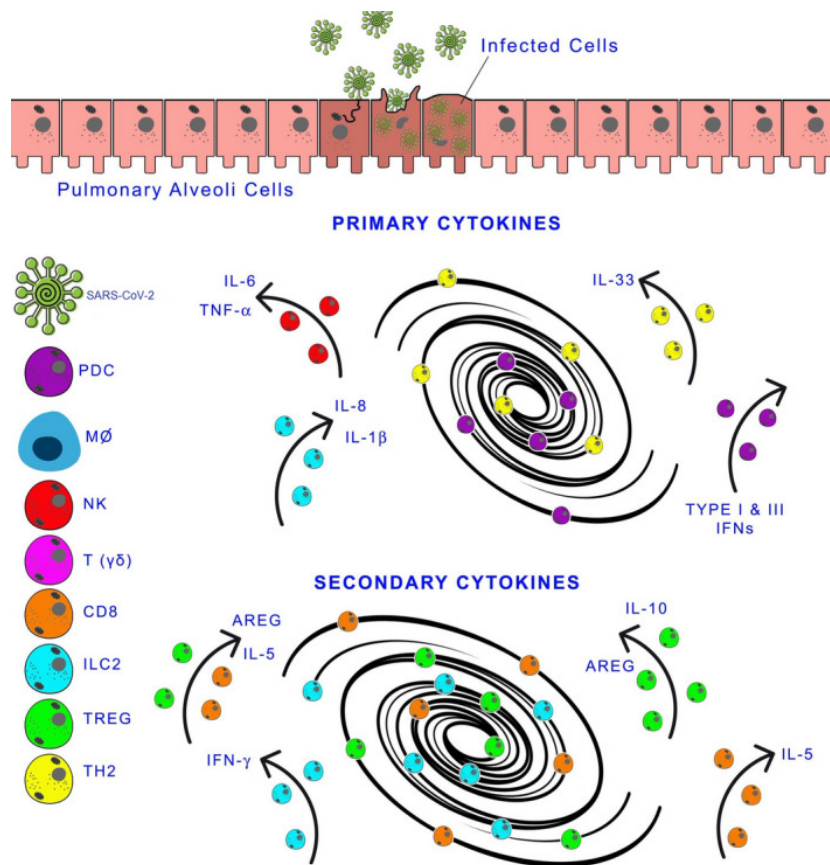
Esta enorme cantidad de moléculas inflamatorias conocida como tormenta de citoquinas (10) trae varias consecuencias, entre ellas (Figura 4 y Figura 5):

- Apoptosis epitelial y endotelial con extravasación vascular propiciada por el INF- $\alpha\beta$, INF- γ y TNF- α , lo cual compromete la microcirculación pulmonar resultando en edema y luego hipoxia.
- Respuesta de linfocitos T defectuosa causada por la apoptosis inducida por TNF- α que origina una respuesta inflamatoria descontrolada.
- Acumulación de macrófagos alternativamente activados y homeostasis tisular alterada: en pacientes con enfermedad severa se evidenció daño alveolar difuso con fibrosis de los espacios intersticiales y alveolares con hiperplasia de neumocitos, así como infiltración perivascular de macrófagos, neutrófilos y fibroblastos alternativamente activados con depósitos de fibrina y consecuente colapso alveolar, todo esto como consecuencia de alteraciones en las señalizaciones

intracelulares en células mieloides por las citoquinas inflamatorias. En consecuencia, se altera el balance entre coagulación y fibrinólisis y se propicia un daño pulmonar agudo.

- Síndrome de dificultad respiratoria aguda es el causante primario de la muerte en pacientes con infección por coronavirus humano, propiciado por varias citoquinas inflamatorias como IL-6, IL-8, IL-1 β , y otros mediadores como especies de reactivas de oxígeno, quimiocinas así como por la proliferación epitelial con la consecuente remodelación tisular que lleva a fibrosis.^(47, 48, 49) Los factores protectores y factores patogénicos de la infección por el SARS-CoV-2, según interacción virus-huesped, se resumen en la Figura 6.⁽⁵¹⁾

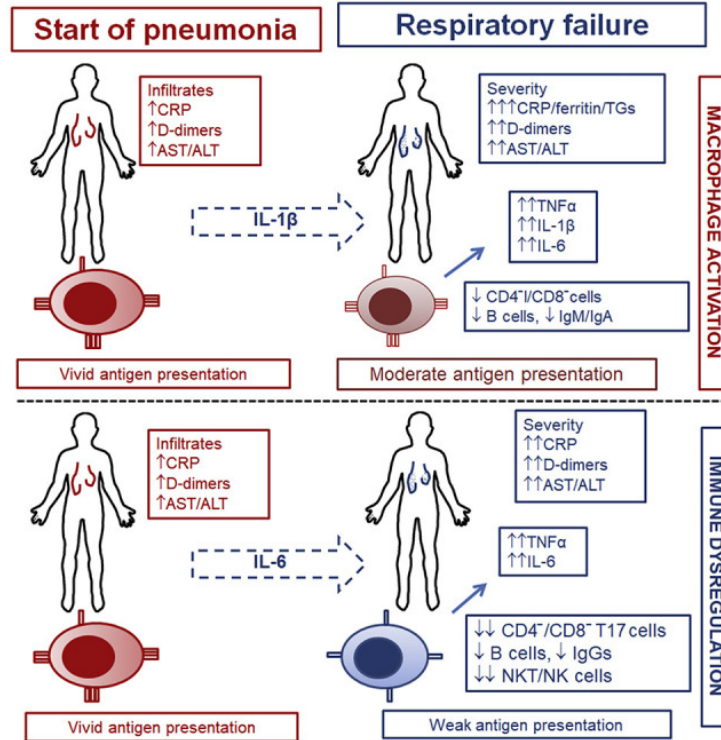
Figura 4. Tormenta de citoquinas.



PDC: células dendríticas plasmocitoides, M Φ : macrófagos, NK: linfocitos NK, T($\gamma\delta$): linfocitos T gamma/delta, CD8+: linfocitos T citotóxicos, ILC2: células linfoides innatas tipo 2, TREG: linfocitos T reguladores, TH2: linfocitos T cooperadores tipo 2.

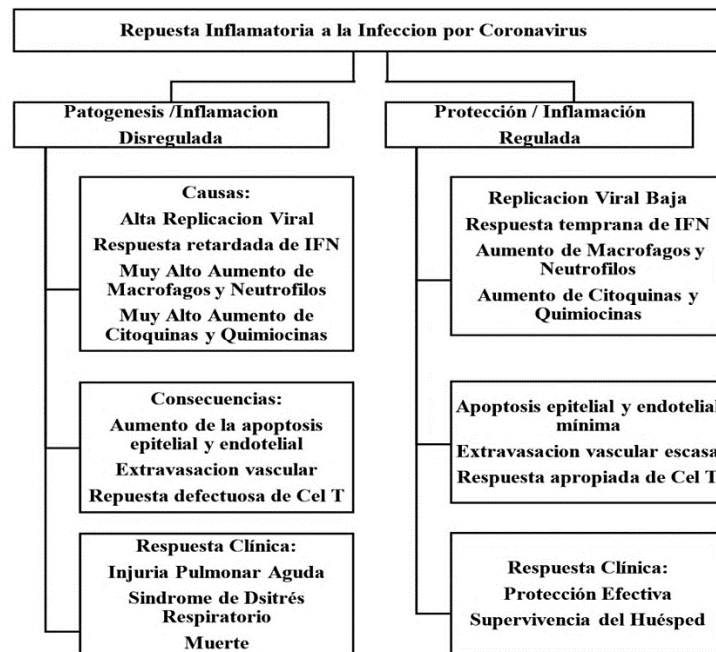
Fuente: De Sanctis *et al.* 2021.⁽⁴⁹⁾

Figura 5. Consecuencias de la tormenta de citoquinas.



Fuente: Giamarellos-Bourboulis EJ *et al.* 2020. ⁽⁵⁰⁾

Figura 6. Factores protectores vs. patogénicos en infección por Coronavirus humanos.



Fuente: Archivos venezolanos de Puericultura y pediatría sobre manifestaciones sistémicas de la COVID-19. 2020.⁽⁵¹⁾

Signos y síntomas

Los síntomas reportados por personas con la COVID-19 varían desde aquellos que presentan síntomas leves hasta quienes se enferman gravemente. Éstos pueden aparecer de 2 a 14 días después de la exposición al virus. Las personas con estos síntomas podrían tener la COVID-19, según publicaciones del CDC (Centro de control y prevención de enfermedades de Atlanta Estados Unidos), los principales signos y síntomas son:

- Fiebre o escalofríos.
- Tos.
- Dificultad para respirar.
- Fatiga.
- Dolores musculares y corporales.
- Dolor de cabeza.
- Pérdida reciente del olfato o el gusto.
- Dolor de garganta.
- Congestión o rinorrea.
- Náuseas o vómitos.
- Diarrea.

Los signos y síntomas de presentación de la COVID-19 son variables. La mayoría de los pacientes presentan fiebre (83-99 %), tos (59-82 %), cansancio (44-70 %), anorexia (40-84 %), disnea (31-40 %) y mialgias (11-35 %). También se han descrito otros síntomas inespecíficos como dolor de garganta, congestión nasal, cefalea, diarrea, náuseas y vómitos. Asimismo, se ha descrito anosmia antes de los síntomas respiratorios.

Los adultos mayores y los pacientes inmunodeprimidos en particular, pueden presentar síntomas atípicos. La fiebre y la tos pueden no ser tan frecuentes en los niños como en los adultos.⁽⁵⁰⁾

Entre los factores de riesgo para enfermedad grave se describen: edad superior a 60 años, enfermedades crónicas, tales como: diabetes, hipertensión, cardiopatías, neumopatías crónicas, enfermedades cerebrovasculares, nefropatías crónicas, inmunodepresión, cáncer y tabaquismo.^(50, 52)

Tabla 2. Probabilidad de infección por SARS-CoV-2 y definición de casos:

Contacto	Una persona que haya estado expuesta a alguna de las siguientes situaciones desde 2 días antes hasta 14 días después del inicio de los síntomas en un caso probable o confirmado: (1) contacto personal con un caso probable o confirmado a menos de 1 m de distancia y durante más de 15 minutos; (2) contacto físico directo con un caso probable o confirmado; (3) atención directa a un paciente con COVID-19 probable o confirmada sin utilizar equipo de protección personal adecuado; 0 (4) situaciones de otro tipo en función de la evaluación local del riesgo (en los casos asintomáticos confirmados, el periodo de contacto irá desde 2 días antes hasta 14 días después de la fecha en la que se tomó la muestra que llevó a la confirmación).
Caso sospechoso	(A) Un paciente que presente un cuadro respiratorio agudo (fiebre acompañada de al menos un signo o síntoma respiratorio como tos, o disnea) Y haya viajado o residido en los 14 días anteriores al inicio de los síntomas en una zona en la que exista transmisión comunitaria de la COVID-19; 0 (B) Un paciente que presente cualquier cuadro respiratorio agudo Y haya estado en contacto con un caso confirmado o probable de COVID-19 en los 14 días anteriores al inicio de los síntomas; 0 (C) Un paciente que presente un cuadro respiratorio agudo de carácter grave (fiebre acompañada de al menos un signo o síntoma respiratorio como tos o disnea Y necesidad de hospitalización) Y para el que no exista un diagnóstico alternativo que explique completamente el cuadro clínico.
Caso confirmado	Una persona con infección por el virus de la COVID-19 confirmada mediante pruebas analíticas, independientemente de los signos y síntomas clínicos.

Fuente: <https://www.who.int/publications-detail/multisystem-inflammatory-syndrome-in-children-and-adolescents-with-covid-19>.⁽⁵²⁾

Complicaciones

Clasificación de la severidad de la COVID-19 según OMS⁽⁵²⁾:

- Enfermedad leve: Paciente sintomático (que se ajusta a la definición de caso de la COVID-19 pero no presenta neumonía vírica ni hipoxia).

- Enfermedad moderada (Neumonía):

- Adolescente o adulto: con signos clínicos de neumonía (fiebre, tos, disnea, taquipnea) pero sin signos de neumonía grave, en particular saturación de oxígeno (SpO₂) ≥ 90 % en aire ambiente.

- Niño: con signos clínicos de neumonía no grave (tos o dificultad para respirar más taquipnea o tiraje costal) y sin signos de neumonía grave.

Taquipnea (en inspiraciones/min): < 2 meses: ≥ 60; 2–11 meses: ≥ 50; 1–5 años: ≥ 40.

Aunque el diagnóstico se puede establecer por la clínica, la radiología torácica (radiografía, tomografía axial computarizada (TAC) y ecografía pulmonar) puede ayudar al diagnóstico e identificar o descartar complicaciones pulmonares.

- Enfermedad grave (Neumonía grave):

- Adolescente o adulto: con signos clínicos de neumonía (fiebre, tos, disnea, taquipnea) más alguno de los siguientes: frecuencia respiratoria >30 inspiraciones/min, dificultad respiratoria grave o SpO₂ < 90 % con aire ambiente.

- Niños: signos clínicos de neumonía (tos o dificultad para respirar) más alguno de los siguientes:

Cianosis central o $SpO_2 < 90\%$; grave dificultad para respirar (por ejemplo, taquipnea, gemidos, tiraje costal muy intenso); signos generales de peligro: incapaz de mamar o beber, aletargado, inconsciente o con convulsiones.

Taquipnea (en inspiraciones/min): < 2 meses: ≥ 60 ; 2–11 meses: ≥ 50

- Enfermedad crítica (SDRA) Síndrome de dificultad respiratoria aguda:

- Inicio: en la semana siguiente a una lesión clínica conocida (neumonía) o aparición de nuevos síntomas respiratorios o empeoramiento de los existentes.

- Radiología torácica (radiografía, TAC o ecografía pulmonar): opacidades bilaterales que no se explican totalmente por sobrecarga de volumen, colapso lobar o pulmonar ni nódulos.

- Origen de los infiltrados pulmonares: insuficiencia respiratoria que no se explica totalmente por insuficiencia cardíaca o sobrecarga de líquidos. Si no hay factores de riesgo es necesaria una evaluación objetiva (por ejemplo, ecocardiografía) para descartar una causa hidrostática de los infiltrados o edema.

- Oxigenación deficiente en adultos, relación PaO_2/FiO_2 :

• SDRA leve: $200 \text{ mmHg} < \text{presión parcial de oxígeno (PaO}_2) / \text{Fracción inspirada de oxígeno (FiO}_2) \leq 300 \text{ mmHg}$ con presión positiva al final de la espiración (PEEP) o presión positiva continua de las vías aéreas (CPAP) $\geq 5 \text{ cm H}_2\text{O}$.

• SDRA moderado: $100 \text{ mmHg} < PaO_2/FiO_2 \leq 200 \text{ mmHg}$ (con PEEP $\geq 5 \text{ cm H}_2\text{O}$).

• SDRA grave: $PaO_2/FiO_2 \leq 100 \text{ mmHg}$ (con PEEP $\geq 5 \text{ cm H}_2\text{O}$).

- Oxigenación deficiente en niños: Anótese el ISO (índice de saturación de oxígeno) y el IO (índice de oxigenación). A ser posible, se utilizará el IO. Si no se dispone de la PaO_2 , se reducirá gradualmente la FiO_2 para mantener la $SpO_2 \leq 97\%$ a fin de calcular el ISO o la razón SpO_2/FiO_2 .

- Ventilación binivel (ventilación no invasiva o CPAP) $\geq 5 \text{ cm H}_2\text{O}$ con mascarilla facial: $PaO_2/FiO_2 \leq 300 \text{ mm Hg}$ o $SpO_2/FiO_2 \leq 264$.

• SDRA leve (con ventilación invasiva): $4 \leq IO < 8$ o $5 \leq ISO < 7,5$.

• SDRA moderado (con ventilación invasiva): $8 \leq IO < 16$ o $7,5 \leq ISO < 12,3$.

• SDRA grave (con ventilación invasiva): $IO \geq 16$ o $ISO \geq 12,3$.

- Enfermedad crítica (Septicemia):

Adultos: Disfunción orgánica aguda y potencialmente mortal causada por desregulación de la respuesta del huésped a una infección demostrada. Signos de disfunción orgánica: Alteración del estado mental, disnea o taquipnea, Saturación de oxígeno baja, oliguria, taquicardia, pulso débil, extremidades frías o hipotensión arterial.

Niños: Infección presunta o demostrada y > o igual a 2 criterios de respuesta inflamatoria sistémica, uno de los cuales debe coincidir con anomalías de la temperatura y del número de leucocitos.

- Enfermedad crítica (Choque séptico):

Adultos: Lactato sérico >2 mmol/l e hipotensión persistente, que pese a reposición de volemia requiera de uso de vasopresores para mantener una Presión arterial media > 65mmHg.

Niños: Hipotensión o 2 o 3 de los siguientes: Alteración del estado mental, Bradicardia o taquicardia, llenado capilar > 2 segundos, pulso débil, taquipnea, piel fría, hipertermia o hipotermia, oliguria y lactato elevado.

En la experiencia con los niños, se definen cinco posibles situaciones clínicas:

- Paciente asintomático.
- Infección respiratoria de vías altas o enfermedad leve.
- Pacientes con afectación pulmonar moderada.
- Pacientes con afectación pulmonar grave.
- Pacientes críticos.

Pudiendo integrar las últimas dos situaciones en la forma severa de presentación clínica.

La clínica digestiva aparece con menos frecuencia, pero no se descarta del todo, dado que ya se ha comprobado la eliminación del virus por las heces durante varios días tras la desaparición de los síntomas. También cabe destacar la existencia de manifestaciones cutáneas, que van desde la erupción generalizada hasta lesiones en extremidades similares a perniosis. Los pacientes con infección de vías respiratorias altas, requieren solo tratamiento sintomático: como antipiréticos (paracetamol o ibuprofeno), en caso de afectación de las vías respiratorias inferiores, se beneficiarían con el uso de broncodilatadores en inhalador, y en caso de clínica digestiva sueros de rehidratación. En los casos publicados en China, se ha comunicado la presencia de afectación pulmonar incluso en pacientes asintomáticos, sin que fuese necesario tratamiento antiviral ni antibiótico, al comprobarse resolución espontánea. Los pacientes con

evolución desfavorable en esta primera fase pueden tener persistencia de la fiebre más allá del quinto día, auscultación cardiopulmonar alterada, desaturación de oxígeno <92 %, taquipnea y afectación del estado general que precisan un manejo hospitalario.^(54, 55)

A partir de mayo 2020, se comenzaron a reportar en Europa y Norteamérica pacientes pediátricos que presentaron un cuadro inflamatorio multisistémico de características similares a la enfermedad de Kawasaki y al síndrome de choque tóxico; una vez descartadas estas patologías, asociadas inicialmente por la clínica, posterior a pruebas realizadas en el laboratorio se confirmó que este síndrome estaba relacionado con la COVID-19. Los niños comenzaron a ser tratados con antiinflamatorios, incluidos corticoides e inmunoglobulinas por vía parenteral con una eficaz respuesta terapéutica. Por lo cual, la OMS se vio en la necesidad de establecer la definición del caso de síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico (MIS-C, por sus siglas en inglés) según características clínicas y paraclínicas, considerándose éste como una afección grave relacionada con la COVID-19. Definido como: niños y adolescentes de 0 a 19 años con fiebre de tres días o más, acompañada de dos de los siguientes criterios: a) erupción cutánea o conjuntivitis no purulenta bilateral o signos de inflamación mucocutánea (boca, manos o pies); b) hipotensión o choque; c) características de disfunción miocárdica, pericarditis, valvulitis o anomalías coronarias (incluidos signos ecocardiográficos o valores elevados de troponina/péptido natriurético (NT-proBNP); d) pruebas de coagulopatía (a partir del PT, el PTT o de valores elevados de dímeros D); e) problemas gastrointestinales agudos (diarrea, vómitos o dolor abdominal) f) Valores elevados de marcadores de inflamación (Velocidad de sedimentación globular (VSG, proteína C reactiva o procalcitonina). g) Ninguna otra causa microbiana evidente de inflamación, incluida la septicemia bacteriana y los síndromes de choque tóxico por estafilococos o estreptococos. h) Pruebas de COVID-19 (pruebas antigénicas o serologías positivas) o posible contacto con un enfermo con la COVID-19.^(53, 54)

Evolución de la infección por SARS-CoV-2 (COVID-19)

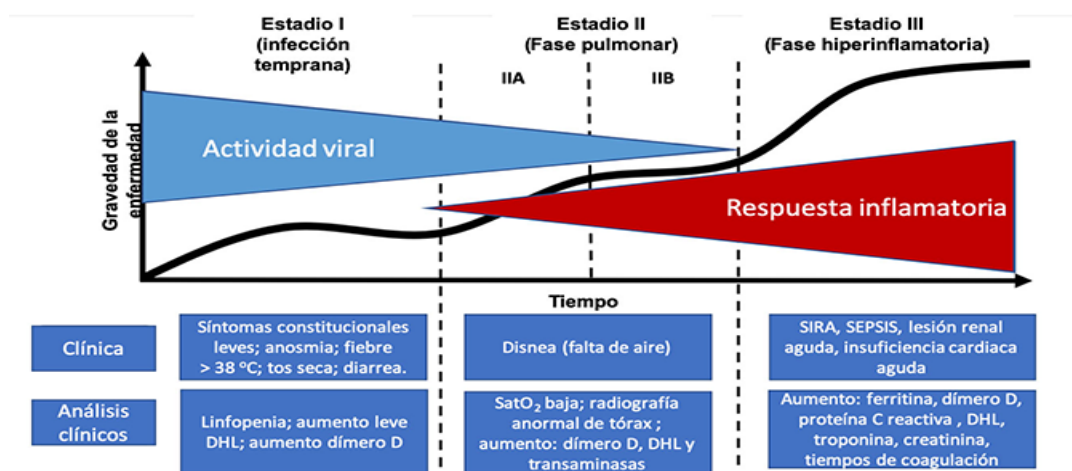
La enfermedad se desarrolla en tres fases (Figura 7):

- Primera fase de inicio de la infección y replicación viral. Abarca los primeros 7 días del proceso. La PCR nasofaríngea se va haciendo positiva, pero aún no se ha producido la respuesta humoral (anticuerpos). La clínica en el niño puede ser variada, predominando los síntomas como fiebre y tos, seguida de la clínica gastrointestinal.

- Segunda fase o de afectación pulmonar. Aparece en la segunda semana de la enfermedad. La PCR es positiva en muestras obtenidas de las vías respiratorias altas o en heces y empieza la respuesta de anticuerpos IgM/ IgG. En las pruebas de imagen los pacientes pueden presentar infiltrados pulmonares unilaterales o bilaterales nodulares no siempre visibles en la radiografía, pero sí en las TAC de tórax.
- Tercera fase o hiperinflamatoria. Aparece a partir del día 10-15, siendo el estadio de mayor gravedad. Es más frecuente que se desarrolle en el adulto mayor de más de 65 años, y con enfermedades de base que empeoran el cuadro. Se produce una reacción inflamatoria grave en el tejido pulmonar tras la activación de la cascada de citoquinas, provocando distrés respiratorio grave, y puede ser causa de mortalidad hasta en un 50 % de los pacientes.^(57, 58)

Figura 7. Fases de evolución COVID-19.

Fases de la COVID-19



Fuente: https://www.aepap.org/sites/default/files/documento/archivosvadjuntos/ttos_potenciales_covid_19.⁽⁵⁸⁾

Diagnóstico

El diagnóstico de cualquier enfermedad depende de la historia y del conjunto de síntomas y signos que presente el paciente, valorando la situación epidemiológica y otros muchos datos interpretados por el profesional de salud. No hay una sola prueba diagnóstica, sino que incluye varias posibilidades. A partir de aquí, se considera y valora la práctica de determinadas exploraciones complementarias y pruebas de laboratorio.^(56, 59)

En enfermedades infecciosas es muy importante disponer de pruebas que identifiquen de forma rápida de qué microorganismo se trata, dado que permite tomar decisiones respecto al manejo y tratamiento más adecuados.

La técnica de PCR se utiliza para identificar el SARS-CoV-2, se realiza en un laboratorio de biología molecular y se considera el estándar de referencia para el diagnóstico. La prueba tiene una buena sensibilidad (probabilidad de que una persona con la COVID-19 tenga un resultado positivo) y una buena especificidad (probabilidad de que una persona sin la COVID-19 tenga un resultado negativo).

La prueba tiene ciertas limitaciones, tales como: puede ser negativa en etapas iniciales de la infección, por lo que en estos casos puede proporcionar una falsa sensación de seguridad. Y puede persistir positiva ante la presencia de virus no viables (sin capacidad de infectar) en el periodo de convalecencia. ^(56, 57)

La Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) aprobó estos tipos de pruebas para diagnosticar una infección por SARS-CoV-2, entre ellas tenemos:

- Prueba de la PCR: Esta prueba para la COVID-19 detecta el material genético del virus usando una técnica de laboratorio llamada reacción en cadena de la polimerasa (PCR). También conocida como prueba molecular, un trabajador del cuidado de la salud recolecta una muestra de saliva, o de fluido nasal o de la garganta con un hisopo. Los resultados pueden estar listos en minutos si se analizan de forma interna, o unos días si se envían a un laboratorio externo o quizás más tiempo en lugares donde haya demoras en el procesamiento de los análisis. Las pruebas de PCR son muy exactas cuando las realiza de manera adecuada un profesional de atención médica, pero la prueba rápida puede no detectar algunos casos.

- Prueba de antígeno: Esta prueba para la COVID-19 detecta ciertas proteínas en el virus. Se usa un hisopo para tomar una muestra del fluido de la nariz o la garganta. Estas son pruebas más rápidas y menos costosas que las pruebas de PCR, la prueba de antígeno puede ser más conveniente si se necesita para evaluar un gran número de personas. El resultado positivo de una prueba de antígeno se considera muy exacto, pero hay más posibilidad de tener un resultado falso negativo, así que, al hacer esta prueba, es posible estar infectado con el virus, pero tener

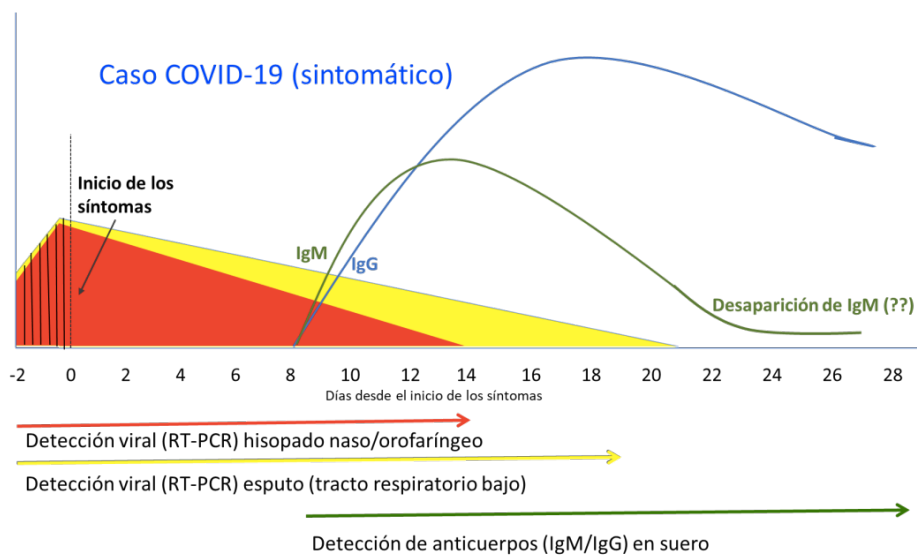
un resultado negativo. Según la situación, el médico podría recomendar una prueba PCR para confirmar un resultado negativo de la prueba de antígeno.

Una prueba de PCR conocida como ensayo multiplex para virus de influenza y SARS-CoV-2 puede detectar cualquiera de tres virus al mismo tiempo: el virus de la COVID-19, el de la influenza A y de la influenza B. Solo se necesita una muestra para hacer la prueba para los tres virus y esto puede ser útil durante la temporada de gripe (influenza). Pero un resultado negativo no descarta la posibilidad de cualquiera de estas infecciones. Así que el proceso de diagnóstico puede incluir más pasos, dependiendo de los síntomas, posibles exposiciones a los virus, y el criterio clínico del médico.^(59, 60)

Interpretación de los resultados

Aunque la dinámica de la infección, incluida la excreción viral en diferentes fluidos, sigue en estudio, hasta el momento se ha podido determinar que el virus puede ser detectado al menos 48 horas antes del inicio de los síntomas (presintomáticos), hasta 12 o 14 días (al menos 6 o 7 días) en muestras del tracto respiratorio superior (hisopado nasofaríngeo u orofaríngeo) y hasta 20 días (o más) en muestras del tracto respiratorio inferior como el esputo, el aspirado traqueal, el lavado bronquioalveolar. Figura 8. En un individuo identificado como contacto de un caso confirmado, se debe considerar cuál es el valor agregado de realizar un ensayo de laboratorio, teniendo en cuenta que independientemente del resultado, la indicación es la cuarentena durante 14 días contados desde el día del último contacto con el caso. Si se realiza un ensayo molecular, un resultado negativo no descarta la posibilidad de infección, ni descarta la posibilidad que el contacto esté en periodo de incubación. Si se obtiene un resultado positivo, constituye un caso asintomático o presintomático y en cualquier caso se deberá cumplir con el aislamiento. En un individuo asintomático, ya que no se cuenta con una fecha que pueda ser utilizada como referencia, un resultado negativo de detección molecular puede ocurrir porque la carga viral no es suficiente para ser detectada, porque el individuo se encuentra en el período posterior a la infección, o simplemente porque el individuo nunca ha estado infectado. Por lo tanto, un resultado negativo no descarta una posible infección. Si como parte de una búsqueda activa (trabajadores de salud, cuidadores en residencias, entre otras.) se obtiene un resultado positivo por detección molecular, el resultado constituye un caso asintomático y el individuo deberá ser aislado.^(55, 59)

Figura 8. Dinámica de la infección por SARS-CoV-2.



Disponible en: <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52471/OPSIMSPHECOVID>.⁽⁵²⁾

La detección molecular del virus de la COVID-19 utilizando protocolos bien diseñados suele ser muy específica; por lo tanto, un resultado positivo confirma la detección del virus. Por el contrario, un resultado negativo no siempre significa la ausencia de infección por el virus. Varias razones pueden explicar un resultado negativo en una persona infectada, principalmente: la calidad de la muestra, manipulación, transporte o almacenamiento deficiente.^(56, 57)

- Métodos serológicos

Los ensayos serológicos son aquellos que permiten detectar los anticuerpos (IgM, IgG o IgA) generados como parte de la respuesta inmunitaria del individuo contra el SARS-CoV-2. En general, la mayor proporción de anticuerpos son producidos contra la proteína más abundante del virus, que es la de la nucleocápside (N). Por ello, los ensayos que detectan anticuerpos contra esta proteína podrían ser más sensibles. Sin embargo, los anticuerpos dirigidos contra la proteína de unión a los receptores celulares (proteína S) suelen ser más específicos. Por esto, utilizar ensayos que detecten anticuerpos IgM o IgG dirigidos contra los dos antígenos pueden tener un mejor desempeño. En cualquier caso, estos anticuerpos pueden presentar reactividad cruzada con SARS-CoV e incluso con otros coronavirus humanos.^(56, 59)

Dado que los anticuerpos (IgM/IgG) contra el virus son detectables solo alrededor del día 7 desde el inicio de los síntomas (en aproximadamente 50% de los casos), un resultado de serología negativo durante los primeros siete días de enfermedad no puede ser usado como criterio para descartar un caso. La sensibilidad en la detección de anticuerpos totales incrementa a partir de la segunda semana tras el inicio de los síntomas; y para el día 14 más de 90% de pacientes ya han desarrollado anticuerpos detectables por ensayo de ELISA (técnica de inmunoabsorción ligado a enzima). Sin embargo, la detección de anticuerpos solo indica que hubo un contacto previo con el virus, pero no permite definir el momento en que ocurrió el contacto. Por ejemplo, un paciente que haya tenido contacto previo con el virus (no necesariamente enfermo), pero que posteriormente se infecte con otro patógeno circulante (influenza u otro agente etiológico) que también genere síntomas respiratorios, va a resultar positivo para anticuerpos de la COVID-19 y suponer un diagnóstico errado; por esta razón, el uso de la serología por sí sola para confirmar un caso, debe ser cuidadosamente evaluado. Por otro lado, es importante tener en cuenta que la presencia de anticuerpos no necesariamente indica protección. La única manera de inferir la capacidad de neutralización de los anticuerpos será mediante una prueba de neutralización por reducción de placas (PRNT).^(59, 60)

Con todo esto, los ensayos serológicos tanto pruebas de ELISA como pruebas rápidas no son considerados pruebas diagnósticas y los resultados deben ser evaluados cuidadosamente a la luz de la información clínica, el resultado de otros ensayos y el contexto epidemiológico. Así, su implementación debe estar enfocada principalmente a investigaciones epidemiológicas y estudios de seroprevalencia. Se están comercializando numerosos productos para la detección de anticuerpos (IgM / IgG) inducidos por la COVID-19, incluidas las pruebas rápidas. Toda prueba de este tipo debe validarse y su rendimiento en términos de especificidad y sensibilidad debe ser analizado. Por solicitud de la OMS, se están llevando a cabo procesos de evaluación y validación de estas pruebas. Aunque, se han generado datos preliminares de validación de ELISA y pruebas rápidas, los resultados se basan en conjuntos de datos limitados y no todos se han realizado con paneles de muestras bien caracterizados de pacientes con la COVID-19.^(58, 59)

Tratamiento

El tratamiento se ha dirigido a inhibir la replicación viral y frenar el daño pulmonar. Los fármacos empleados han sido los antivirales en conjunto con los antibióticos si existe la

sospecha de sobreinfección bacteriana (elevación de procalcitonina y proteína C reactiva). En la segunda y tercera fase los tratamientos empleados tienen como objetivo modular la respuesta inflamatoria. El plasma de pacientes convalecientes se ha estudiado en los casos más graves en la población adulta.

De acuerdo al consenso de recomendaciones terapéuticas y generales para el abordaje médico en adultos con la COVID-19, publicado en septiembre de 2020 por la Sociedad Venezolana de Infectología (SVI), alrededor del 80 % de los casos sintomáticos de la COVID-19 tienen una enfermedad leve a moderada, que no suele progresar a fases más avanzadas. El 14 % de los casos pueden progresar en unos 7 a 10 días a un cuadro pulmonar severo, mientras que un 6 % siguen deteriorándose en el tiempo ante una respuesta hiperinflamatoria o de tormenta de citoquinas, que conlleva a shock y falla de múltiples órganos. En general, tienen mayor posibilidad de progresión los individuos con factores de riesgo, pero eso no descarta la posibilidad aislada que individuos aparentemente sanos puedan presentar una evolución severa o diversas complicaciones pulmonares, renales, cardiovasculares, neurológicas, endocrinológicas, entre otras. ⁽⁵⁸⁾

Este consenso busca orientar al personal de salud en Venezuela en el abordaje terapéutico y la atención de las personas con la COVID-19, estableciendo recomendaciones con base a la mejor evidencia para la fecha. Las recomendaciones no solo se limitan a definir qué opciones terapéuticas han mostrado mayor eficacia y seguridad, sino que determina cuáles drogas carecen todavía de suficiente evidencia, y qué alternativas no deberían utilizarse por carecer de beneficios y/o de seguridad establecida. En la Tabla 3 se resumen las recomendaciones terapéuticas según SVI.

Tabla 3: Resumen de recomendaciones terapéuticas según SVI en el espectro de la COVID-

19.

COVID-19	Definición	Tratamiento	Otras recomendaciones
SUSCEPTIBLES	No han padecido todavía COVID-19	<ul style="list-style-type: none"> - Sin profilaxis específica - Sin vacuna disponible 	<ul style="list-style-type: none"> - Cumplir medidas de prevención (mascarillas, distanciamiento físico, higiene de manos, protección ocular, evitar reuniones, permanecer en casa (en especial personas de alto riesgo*))
ASINTOMÁTICO	Personas sin ningún síntoma que tienen una prueba directa positiva (PCR-RT o antigénica) para SARS-CoV-2	<ul style="list-style-type: none"> - Ningún tratamiento recomendado - Mantener tratamientos habituales para enfermedades preexistentes 	<ul style="list-style-type: none"> - Aislamiento por 10 días - Aislamiento domiciliario debe cumplirse con condiciones especificadas (ver texto) - Para personas con factores de alto riesgo* mantener seguimiento frecuente por telemedicina
LEVE/ MODERADO	<p>LEVE: con síntomas, sin dificultad respiratoria ($SpO_2 > 94\%$), sin evidencia de enfermedad respiratoria baja.</p> <p>MODERADO: con evidencia clínica o radiológica de enfermedad respiratoria baja</p>	<p>TRATAMIENTO SINTOMÁTICO:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Acetaminofén o paracetamol - Puede usar AINES (descartar posibilidad de dengue, y evitar en HTA y nefropatía) - Mantener tratamientos habituales bajo supervisión médica <p>NO SE RECOMIENDA RUTINARIAMENTE</p> <ul style="list-style-type: none"> - ANTIMICROBIANOS (como azitromicina, doxiciclina, amoxicilina, levofloxacina, ivermectina), en ausencia de alguna indicación específica. 	<ul style="list-style-type: none"> - Hacer laboratorio e imágenes según el caso - Aislamiento de 10 días después de la aparición de síntomas, más por lo menos 3 días sin síntomas (sin fiebre, ni síntomas respiratorios). - En el aislamiento en casa los enfermos y cuidadores deben usar mascarillas quirúrgicas - En personas con factores de alto riesgo* mantener seguimiento estricto con telemedicina o ingreso en centro de salud. - Vigilar posibilidad de progresión o empeoramiento clínico, en especial alrededor del día 7 de evolución (considerar uso de saturómetro u oxímetro de pulso).
SEVERO	Dificultad respiratoria (con $SpO_2 < 94\%$, FR > 30 rpm, infiltrados pulmonares $> 50\%$ o $PaO_2/FiO_2 < 300$ mmHg)	<ul style="list-style-type: none"> - OXIGENOTERAPIA: cánula nasal, máscara, máscara con reservorio, sistema Venturi, cánula nasal de alto flujo, ventilación no invasiva, ventilación mecánica o ECMO - DEXAMETASONA: 6 mg diario por 7 a 10 días u otro esteroide a dosis equivalente - REMDESIVIR: 200 mg EV el primer día, y 100 mg EV diario del día 2 al 5 (con preferencia en pacientes con oxigenoterapia, pero sin necesidad de cánula nasal de alto flujo, ventilación no invasiva o invasiva, ni ECMO). - PROFILAXIS TROMBOEMBÓLICA con heparina de bajo peso molecular en casos de bajo riesgo trombótico 	<ul style="list-style-type: none"> - Hospitalización en área de aislamiento con uso de mascarilla quirúrgica o N95 - Considerar estudios de laboratorio, gasometría, estudios de imágenes y EKG al ingreso según disponibilidad. - La elevación de los niveles de Proteína C Reactiva, Dímero D, Ferritina y el índice Neutrófilo-Linfocito > 3 pudieran tener valor pronóstico de severidad. - Considerar oxigenación en pronación - El aislamiento de los casos severos debe ser entre 15 a 20 días del inicio de los síntomas
CRÍTICO	Con insuficiencia respiratoria, falla de múltiples órganos y/o shock séptico	<ul style="list-style-type: none"> - ANTICOAGULACIÓN: con heparina de bajo peso molecular o heparina no fraccionada en ingresados en UTI o con alto riesgo según puntajes de riesgo trombótico. - ANTIBIÓTICOS: realizar hemocultivos o cultivos previos e iniciar antibioticoterapia solo en caso de sepsis, shock séptico, o sospecha o evidencia de sobreinfección bacteriana como esputo purulento. 	<ul style="list-style-type: none"> - Hospitalización en Unidad de Terapia Intensiva con manejo multidisciplinario. - El abordaje médico de estos pacientes no difiere en general del aplicado a otros pacientes en condiciones de cuidados críticos, pero si difiere en las medidas de aislamiento y protección para el personal de salud. - Individualizar consideración de pronación o ventilación en pronación - Individualizar el mantener, suspender o modificar tratamientos habituales.

Fuente: <https://www.svinfectologia.org/>.⁽⁵⁸⁾

Prevención

Recomendaciones principales a personas susceptibles, según SVI ⁽⁵⁸⁾:

Las medidas de prevención son las más importantes para evitar la posibilidad de contagio, y éstas deben ser más estrictas en áreas geográficas de moderada o alta transmisibilidad, en personal de salud y de primera línea, con riesgo laboral aumentado y en personas con altas posibilidades de complicaciones por edad o comorbilidades, entre las principales medidas de prevención tenemos:

- Uso de mascarilla universal fuera de casa.
- Mantener distanciamiento físico.
- El tipo de mascarilla dependerá del riesgo individual o laboral.
- En el ámbito de los dormitorios compartidos y áreas comunes de descanso se debe considerar el mantener el uso de mascarillas y distanciamiento en todo momento.
- Uso de lentes protectores o careta facial dependiendo de riesgo individual.
- Higiene de manos frecuente y evitar tocarse la cara.
- Evitar espacios cerrados con alto volumen de personas.
- Evitar reuniones en casa o cualquier otro sitio con personas con riesgo de contagio.
- Si va a comer fuera de casa hacerlo preferiblemente en espacios abiertos, bien ventilados, y con medidas de distanciamiento entre los comensales, en especial en el ámbito laboral.
- Si tiene factores de riesgo para infección severa procure permanecer en casa.
- Realizar cuarentena de 14 días en caso de contacto estrecho con personas con la COVID-19 o en caso de viaje reciente.
- Aplicar la vacuna anti-COVID-19 de acuerdo a esquemas aprobados por la OMS y a las vacunas disponibles autorizadas por los servicios de salud de cada país.

Efectos no específicos de la BCG, concepto de inmunidad “entrenada”

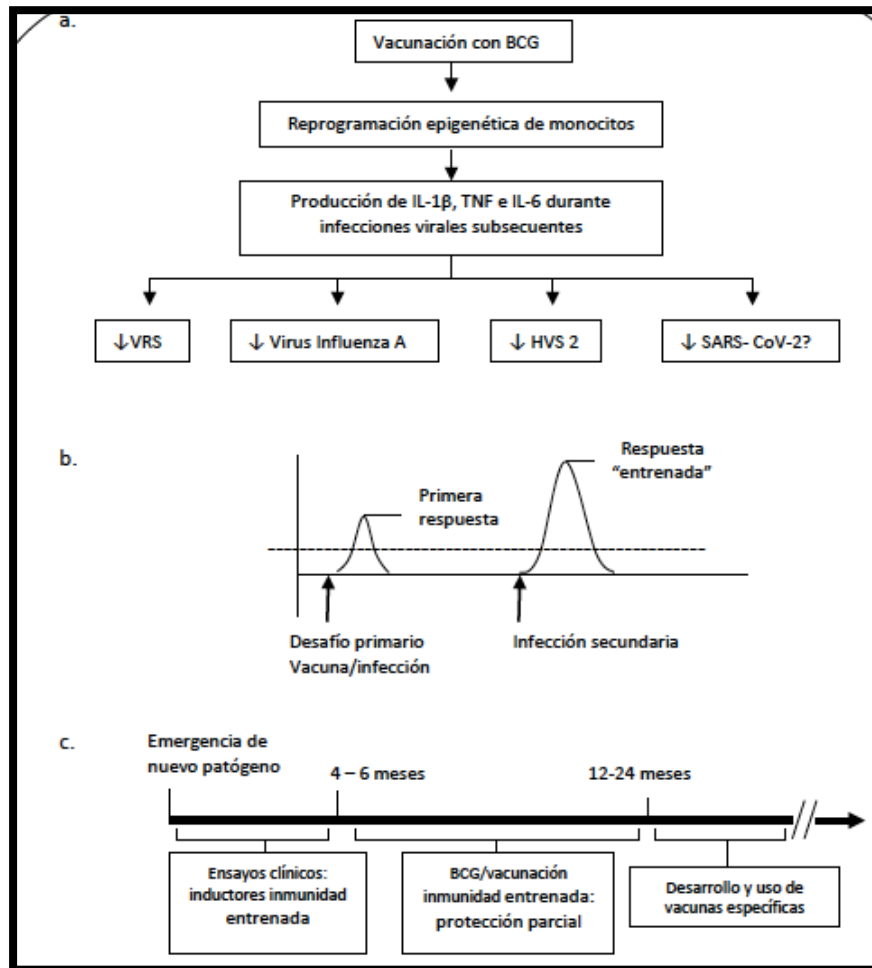
La base del posible uso de la vacuna BCG contra la COVID-19 radica en sus efectos no específicos sobre el sistema inmune. Múltiples estudios en ratones y humanos sugieren que la administración de BCG confiere un efecto protector no específico contra las infecciones virales. Algunos estudios clínicos, incluidos ensayos clínicos aleatorizados (ECA), mostraron una reducción de hasta el 50 % de la mortalidad por infecciones respiratorias y sepsis en recién

nacidos y lactantes, inducida por BCG y un estudio en adolescentes también informó una reducción del 70 % de las infecciones del tracto respiratorio por la vacuna BCG. ^(30, 31)

La evidencia actual sobre la vacuna BCG y la prevención de infecciones respiratorias agudas es de alta calidad, respaldada por los resultados de 2 revisiones sistemáticas (una que incluye un metaanálisis), que proporcionan un alto nivel de evidencia para los estudios de prevención. Estos efectos de la BCG están mediados principalmente por la potenciación de la respuesta inmune innata a través de mecanismos epigenéticos. Esta respuesta mejorada se conoce como "inmunidad entrenada" y es muy característica de la BCG, aunque no exclusiva. Los mecanismos de las protecciones cruzadas mediadas por BCG pueden incluir respuestas Th1 y Th17 mejoradas a antígenos heterólogos y la inducción de memoria no específica o "inmunidad entrenada" en células inmunes innatas capaces de producir citocinas inflamatorias cuando se ven afectadas secundariamente por una infección viral. Esta inmunidad entrenada también ofrece protección contra una variedad de patógenos como *Salmonella*, *Shigella*, *malaria*, virus respiratorios como *Virus Sincitial Respiratorio (VRS)* e *Influenza A*, y constituye la base de su uso en cáncer de vejiga, melanoma, entre otros. Sin embargo, este efecto no específico es de corta duración y disminuye poco después de que el estímulo primario de la BCG desaparece. ⁽³¹⁾

La hipótesis que se maneja en relación al beneficio de la BCG sería que en individuos sanos vacunados con la BCG, los mecanismos antimicrobianos innatos están potenciados por una inmunidad entrenada, y es más probable que esto conduzca a una inhibición de la replicación viral, una disminución de las cargas virales y, por consiguiente, una menor inflamación y síntomas. Esta hipótesis está respaldada por la disminución de la viremia observada después de la vacunación contra la fiebre amarilla en individuos que fueron vacunados previamente con la BCG. Por el contrario, una respuesta antiviral inicial defectuosa en algunas personas con alto riesgo (por ejemplo, adultos mayores) puede provocar altas cargas virales, la estimulación de una inflamación sistémica ineficiente y una enfermedad grave. Romper el ciclo de la inflamación sistémica podría tener efectos beneficiosos en estos pacientes. Figura 8. ^(30,31)

Figura 9. Inmunidad entrenada. Papel de la BCG en la pandemia de COVID-19.



Fuente: O'Neill L. *et al.* 2020 ⁽³¹⁾

Objetivos

General

Relacionar el perfil inmunológico con la expresión clínica de pacientes pediátricos con infección por el SARS-CoV-2 ingresados en el Hospital de Niños J.M. de los Ríos en los períodos comprendidos de marzo a mayo 2021 y enero a marzo 2022.

Específicos

- Determinar el perfil inmunológico cuantificando el porcentaje de expresión de los marcadores de linfocitos T, linfocitos B, linfocitos NK, así como los niveles de interferón tipo II gamma (IFN γ), Interleucina 6 (IL-6) e Interleucina 10 (IL-10), en pacientes pediátricos con infección por el SARS-CoV-2.
- Determinar la expresión clínica según severidad en pacientes pediátricos con la COVID-19.
- Relacionar el perfil inmunológico de respuesta innata y adaptativa con la expresión clínica en pacientes pediátricos con la COVID-19.
- Relacionar el perfil inmunológico de respuesta innata y adaptativa con el grupo etario en pacientes pediátricos con la COVID-19.
- Determinar las comorbilidades de los pacientes pediátricos con la COVID-19.

Aspectos éticos

Cuando aparece una enfermedad nueva y sobre todo en los niños, se le anexan los matices de una situación límite, porque todo a su alrededor se trastoca, y los coloca ante los médicos en situación por demás vulnerable; la obligación moral de los médicos es establecer una relación humanizada, de diálogo, de confianza, y que logren ver al paciente como un fin y no como medio. Con el desarrollo de este estudio se generó beneficio a la sociedad, de tal forma que resultó valiosa su realización teniendo en cuenta, que hasta el momento no se contaban en Venezuela con estudios que evaluarán lo propuesto en pacientes pediátricos infectados por el SARS-CoV-2. Recordando que toda investigación se realiza con la premisa de no hacer daño y en beneficio de los sujetos involucrados. El estudio que se describe utilizó muestras biológicas, los procedimientos a los que se sometieron los pacientes no fueron dañinos y correspondieron a pruebas rutinarias realizadas durante su permanencia hospitalaria. Se explicaron y permitieron preguntas de los padres previa autorización de participación de sus hijos en el estudio, bajo

consentimiento informado, de tal forma que los mismos no fueron forzados por el investigador y en el caso de los adolescentes cuyas condiciones clínicas lo permitieron, se estableció el deseo de los mismos de participar mediante el asentimiento informado; respetándose así la autonomía, dignidad, derecho de autodeterminación, intimidad, confidencialidad de la información personal y médica de quienes decidieron participar. (Anexo 1-2).

MÉTODOS

Se estableció como metodología el método cuantitativo de investigación, donde la constatación se realiza mediante la recolección de información medible, orientada por conceptos empíricos.

Tipo de estudio

El tipo de investigación establecida fue un trabajo de campo observacional descriptivo corte transversal prospectivo de serie de casos, teniendo como objetivo la descripción de variables en un grupo de sujetos por un periodo de tiempo.

Población y muestra

La población estuvo constituida por pacientes pediátricos con edades comprendidas entre 29 días y 18 años inclusive, con infección por el SARS-CoV-2, ingresados en el Hospital de Niños J.M de los Ríos, en período comprendido entre marzo a mayo 2021 y enero a marzo 2022.

El muestreo planteado para esta investigación fue de tipo probabilístico aleatorio simple, donde todos los sujetos de la población tuvieron la misma posibilidad de ser seleccionados si cumplían con el criterio de la COVID-19 confirmada mediante pruebas moleculares, pruebas antigénicas rápidas y antecedentes epidemiológicos, que estuvieron ingresados en el centro hospitalario en el tiempo de estudio. Posteriormente, se dividió a la población total en subgrupos, de acuerdo a la edad para evaluar posibles diferencias; considerando clasificación manejada en la institución de estudio, otras referencias como lo descrito en el tratado de Nelson de pediatría, Sociedad Venezolana de Puericultura y Pediatría y OMS, teniendo en cuenta que existen variaciones en la maduración del sistema inmunológico según grupo etario.

- Lactante menor: 29 días a 11 meses con 29 días.
- Lactante mayor: 12 meses a 23 meses con 29 días.
- Preescolar: 2 años a 6 años 11 meses y 29 días.
- Escolar: 7 años a 9 años 11 meses y 29 días.
- Adolescente: 10 años a 18 años 11 meses y 29 días.

Criterios de inclusión:

- Pacientes con infección por el SARS-CoV-2 confirmado a través de PCR ó PDR antigénica ingresados en el Hospital de Niños J.M de los Ríos en los períodos comprendidos de marzo a mayo 2021 y enero a marzo 2022.
- Pacientes casos sospechosos de infección por el SARS-CoV-2 que cumplan criterios clínicos y epidemiológicos según la OMS, ingresados en el Hospital de Niños J.M de los Ríos en los períodos comprendidos de marzo a mayo 2021 y enero a marzo 2022.
- Pacientes con caso confirmado o sospechoso de la COVID-19, ingresados en el Hospital J.M de los Ríos que cumplan con el consentimiento informado para participación, más el asentimiento informado en caso de los adolescentes.
- Pacientes comprendidos entre de 29 días de edad hasta 18 años, inclusive.

Criterios de exclusión:

- Pacientes con infección respiratoria con reporte de PCR ó PDR antigénica negativa, sin sospecha clínico-epidemiológica de la COVID-19 ingresados en el Hospital de Niños J.M de los Ríos en los períodos comprendidos entre marzo a mayo 2021 y enero a marzo 2022.

Técnicas e instrumento de recolección de datos

Las técnicas utilizadas para la presente investigación se basaron en el diseño de investigación de campo descriptiva en función de la información que se pretendía recolectar según los objetivos de investigación planteados. De acuerdo a esto, las técnicas empleadas fueron:

- Observación: mediante revisión de elementos de importancia requeridos planteados en historias clínicas de la institución en estudio; permitiendo no sólo observar eventos sino ir reportando lo que se iba descubriendo.
- Entrevista estructurada: Dicha entrevista se aplicó a los padres y representantes para contextualizar los datos, una vez que revisada la información plasmada en la historia clínica de ingreso en el centro, con la finalidad de constatar información suministrada por éstos, generando un diálogo dirigido según datos requeridos y nueva información.

Entre los instrumentos que se usaron para recopilar la información necesaria para objeto de estudio, se establecieron:

- Ficha de registro: La misma se diseñó estipulando: fecha de realización, número de paciente, datos de filiación (nombres, apellidos, edad, sexo, fecha de nacimiento), presencia de comorbilidades (diabetes, nefropatías, cáncer, cardiopatías, inmunodeficiencias primarias, infección por VIH, patologías neurológica crónica, asma), fecha de inicio sintomatología, síntomas presentados, fecha de diagnóstico de infección por el SARS-CoV-2 confirmada por la PCR, clasificación diagnóstica según severidad por la OMS (asintomático, leve, moderado, severo), examen físico (diagnóstico nutricional por antropometría según patrones de crecimiento de la OMS), tratamiento recibido: antibióticos: azitromicina/cefalosporina de tercera generación, esteroide sistémico (¿cuál?, dosis, tiempo), esteroide inhalado, anticoagulación (¿cuál?, dosis, tiempo), inmunoglobulina humana (dosis) complicaciones: MIS-C ó coinfección. (Anexo 3).

Variables

Variables independientes: Expresión clínica (síntomas/clasificación según severidad, tiempo de evolución, tratamiento con inmunomoduladores y complicaciones), Aspectos biosocial: Edad y sexo, estado nutricional e inmunizaciones (BCG, anti-influenza, anti-neumococo) y comorbilidades.

Variables dependientes: Porcentajes de linfocitos T, porcentaje de linfocitos B, porcentaje de linfocitos NK, niveles de IFN- γ , niveles de IL-6 y niveles de IL-10.

Área de la investigación: área COVID-19 destinada para pacientes hospitalizados con caso confirmado o sospechoso de infección por el SARS-CoV-2 del Hospital de niños J.M de los Ríos, las muestras biológicas fueron procesadas en el laboratorio del instituto de inmunología Dr. Nicolás E. Bianco C. UCV.

Procedimientos

Se le practicó una punción venosa para obtener 2 tubos de 2-3 ml de sangre periférica uno con EDTA y otro tubo seco o tapa roja.

Dicha muestra fue distribuida para los siguientes procedimientos:

- Análisis de valores hematológicos.
- Aislamiento de células mononucleares de sangre periférica para la identificación y cuantificación de linfocitos T, linfocitos B y linfocitos NK.
- Análisis de niveles de IFN- γ , IL-6, IL-10 por técnica de ELISA.

Equipos necesarios:

- Centrifuga.
- Contador hematológico ACT- DIFF Beckam Coulter.
- Campana de flujo laminar.
- Citómetro de flujo EpicsXI BeckmanCoulter.

Anticuerpos y fluorocromos:

- Anticuerpo anti- human CD3/ PeCy5 Biolegend
- Anticuerpo anti-human CD8a/PE Biolegend
- Anticuerpo anti-human CD4/FITC Biolegend
- Anticuerpo anti-human CD4/PE Biolegend.
- Anticuerpo anti-human CD20/ PE Biolengend.
- Anticuerpo anti-human CD19/PeCy5 Biolegend.
- Anticuerpo anti-human CD3/FITC (CD16+CD56) PE cocktail Biolegend.

Evaluación de parámetros hematológicos:

Las muestras se analizaron por el contador hematológico ACT DIFF de la casa comercial BeckmanCoulter.

Marcaje de superficie para las siguientes poblaciones celulares:

- Linfocitos T: (CD3/CD4/CD8).
- Linfocitos NK y NKT: (CD16/CD56/CD3).
- Linfocitos B: CD19/CD20.

Procesamiento:

1. Se tomaron 50µl de sangre periférica.
2. Agregó 5-20µl del anticuerpo monoclonal.
3. Se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.
4. Para luego añadir Paraformaldehído 4%.
5. Se realizó análisis por citometría de flujo haciendo gating sobre la población de linfocitos.

Recursos humanos

NOMBRE Y APELLIDO	INSTITUCIÓN DONDE LABORA	UNIDAD O DEPARTAMENTO	CARGO	FUNCIÓN	TELÉFONOS	CORREO ELECTRÓNICO
Msc. Soriuska Mayora	IDI UCV	Laboratorio	Inmunólogo Básico	Diseño y Ejecución de experimentos. Responsable técnico	02126833865 04262055599	Sori_mayo@hotmail.com
Lic. Wendy Martínez	IDI UCV	Laboratorio	Bioanalista	Ejecución de experimentos.	0414-1284557	wendymartinez3003@gmail.com
Dr. Alexis García	IDI UCV	Extensión	Tutor	Análisis e interpretación de datos	04146094759	alexisgarcia27@gmail.com
Dra. Francis Crespo	IDI UCV	Clínica	residente de maestría en Inmunología Clínica	Análisis e interpretación de datos, manejo administrativo de los recursos	04141009195	drafrancisrespo@gmail.com

Financiamiento

El presente trabajo fue financiado por el proyecto ONCTI del Ministerio del Poder Popular para Ciencia y Tecnología de la República Bolivariana de Venezuela (MINCYT) y estuvo bajo la coordinación de Msc. Soriuska Mayora, Instituto de Inmunología Dr. Nicolás E. Bianco C. UCV.

Cronograma de actividades realizadas

Actividades	Período 2021-2022			
	I Trimestre 2021	II y III Trimestre 2021	III Trimestre 2021 I y II Trimestre 2022	III Trimestre 2022
Revisión de Bibliografía	x	x	x	x
Realizar Marcaje de superficie y cuantificación de subpoblación linfocitaria T y linfocitos B	x	x	x	
Medición de niveles de Interferón tipo II, IL-6 e IL-10.		x	x	
Resultados			x	x
Análisis estadísticos			x	x
Interpretación de resultados			x	x

Tratamiento estadístico adecuado

En un primer nivel de análisis, se aplicaron técnicas propias de estadística descriptiva permitiendo organizar, sintetizar, describir sus características más relevantes y presentar la información de un grupo dado de datos, sin extraer conclusiones (inferencias) sobre la población de estudio. Estableciendo tablas de frecuencias absolutas y relativas para la representación gráfica de las variables. Esto permitió la organización de los datos y facilitó la comparación de frecuencia de parámetros en las muestras estudiadas; los cálculos necesarios para la elaboración de los mismos se realizaron con el programa Microsoft Excel.

Posteriormente, se calculó la media aritmética y desviación estándar a las variables continuas, en el caso de las variables nominales, se calculó sus frecuencias y porcentajes. Las correlaciones entre los marcadores inmunológicos se evaluaron con coeficiente de correlación de Pearson. Se utilizó el modelo de análisis factorial de componentes principales para determinar las relaciones intrínsecas, previo al análisis, se determinó la factibilidad de llevar a cabo este procedimiento utilizando las medidas de Kaiser-Meyer-Olkin y la prueba de esfericidad de Bartlett para probar la validez de la matriz de datos, las varianzas explicativas se calcularon a partir del modelo de componentes principales y se utilizó la rotación varimax para determinar las correlaciones finales. En el caso de las relaciones de marcadores inmunológicos y los indicadores epidemiológicos se utilizó un análisis de modelo lineal general multivariante (MLGM o MANOVA), donde se incluyeron como variables predictoras todos los marcadores

inmunológicos y como variables independientes: la edad, el uso de esteroides, diagnóstico nutricional y la severidad de la infección por el SARS-CoV-2. Se calcularon también las medidas del tamaño del efecto como indicador directo del impacto de las variables epidemiológicas usando el estadístico eta parcial (h^2) y se utilizaron los siguientes valores para la interpretación de dicho estadístico: $h^2 < 0,01$ como efecto pequeño o no importante, h^2 entre 0,02 a 0,14 como efecto medio o importante, y h^2 mayor de 0,14 como efecto grande o sumamente importante. Para validar la consistencia de los modelos de MANOVA, se utilizó el estadístico de Traza de Pillai como indicador de factibilidad en la ejecución del mismo, siendo que este estadístico varía entre 0 y 1, para valores cercanos a la unidad, se considera que el modelo de MANOVA se puede llevar a cabo sin problemas. Se consideró un valor como estadísticamente significativo si $p < 0,05$. Los datos fueron tabulados con STATA 17. ⁽⁶²⁾

RESULTADOS

La muestra estuvo conformada por 72 pacientes pediátricos de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión anteriormente descritos, de los cuales: 30 (42%) presentaban reporte de PCR para SARS-CoV-2 positivo, 22 (30,5%) PDR antigénica para SARS-CoV-2 positiva y 20 (27,5%) casos sospechosos para la COVID-19 según criterios clínicos/epidemiológicos, 34 (47,2%) fueron sexo masculino y 38 (52,8%) femenino; en la distribución por edad, 10 (13,9%) fueron lactantes menores, 16 (22,2%) lactantes mayores, hubo 21 (29,2%) preescolares, 17 (23,6%) escolares y 8 (11,1%) adolescentes. En cuanto a la severidad por infección por el SARS-CoV-2, 38 (52,8%) fue leve, 26 (36,1 %) moderado y 8 (11,1%) severo. Al describir el diagnóstico nutricional de estos pacientes se encontró que 25 (34,7%) con desnutrición, 44 (61,1%) normales o eutróficos y 3 (4,2%) diagnosticados con obesidad-sobrepeso. La frecuencia de comorbilidades fue de 20 (27,8%), de las que destacaron, 7 (35%) pacientes con asma, 5 (25%) con cáncer, 5 (25%) con nefropatía, otros 2 (10%) con hemoglobinopatía y 1 (5%) paciente con diabetes mellitus tipo 1. Se registraron 29 (40,3%) pacientes con complicaciones, siendo éstas: 22 (30,6%) MIS-C, 6 (8,3%) coinfección bacteriana y 1 (1,4%) coinfección viral. Por último, de los tratamientos indicados en estos pacientes, 30 (41,7%) no recibieron esteroides ni inmunoglobulina y 42 (58,3%) recibieron tratamiento con esteroides o inmunoglobulina, entre los esteroides recibidos: dexametasona constituyó la mayoría con 30 (71,4%), seguido de hidrocortisona 5 (11,9%), metilprednisolona 4 (9,5%) y 3 (7,2%) recibieron dexametasona con

inmunoglobulina. De acuerdo a la sintomatología referida, la fiebre 66 (91,6%) fue el principal, seguido de tos 56 (77,7%) y diarrea 38 (52,7). Ver tabla 1, Gráfico 1-8.

La tabla 2 muestra los coeficientes de correlación de Pearson, de los marcadores inmunológicos, los leucocitos tuvieron correlación lineal y positiva con porcentajes de linfocitos T ($r = 0,681$; $p < 0,05$), CD3+ ($r = 0,679$; $p < 0,05$), CD4+ ($r = 0,608$; $p < 0,05$) y CD8+ ($r = 0,465$; $p < 0,05$). Los linfocitos, tuvieron correlación lineal y significativa con CD3+ ($r = 0,870$; $p < 0,05$), CD4+ ($r = 0,719$; $p < 0,05$) y CD8+ ($r = 0,683$; $p < 0,05$), también con el marcador IL-6 ($r = 0,303$; $p < 0,05$). El CD3+ tuvo correlación lineal y positiva con CD4+ ($r = 0,813$; $p < 0,05$) y CD8+ ($r = 0,783$; $p < 0,05$) pero inversa con linfocitos NK ($r = -0,245$; $p < 0,05$). El linfocito T CD4+, con correlación lineal y positiva con linfocito T CD8+ ($r = 0,349$; $p < 0,05$) y la relación CD4+/CD8+ ($r = 0,473$; $p < 0,05$), y también inversa con linfocito NK ($r = -0,264$; $p < 0,05$). EL linfocito TCD8+ solo se correlacionó positiva e inversamente con la relación CD4+/CD8+ ($r = -0,311$; $p < 0,05$). La relación CD4+/CD8+ no se correlacionó con ningún marcador. Los linfocitos NK tuvo una correlación lineal y positiva con NKT ($r = 0,465$; $p < 0,05$) pero inversa con IL-10 ($r = -0,268$; $p < 0,05$). Los linfocitos NKT tuvieron una correlación significativa e inversa con linfocito B CD19+/CD20+ ($r = -0,290$; $p < 0,05$) y con IL-10 ($r = -0,288$; $p < 0,05$). Los linfocitos B CD19+/CD20+ se correlacionaron positiva y linealmente con IL-6 ($r = 0,318$; $p < 0,05$) e IL-10 ($r = 0,305$; $p < 0,05$).

Luego de indagar las correlaciones lineales entre los marcadores inmunológicos, se procedió a ejecutar un análisis de los factores, con la finalidad de conocer las variables latentes o subyacentes, para este análisis, se empleó el método de extracción basado en componentes principales, cuya finalidad fue estudiar el total de varianza explicada. Previo a la corrida de este análisis, se calcularon los indicadores para evaluar la factibilidad de aplicar el análisis factorial, así, se calculó la medida de adecuación de Kaiser-Meyer-Olkin que fue 0,878, la cual es considerada como medida de adecuación buena, adicionalmente, se aplicó la prueba de esfericidad de Bartlett que comparó la matriz de correlación observada con la matriz de identidad, esto con la finalidad de conocer si los datos están suficientemente relacionados, el valor del estadístico de prueba fue $\chi^2 = 377,459$ ($p < 0,001$) lo que indicó que es posible llevar a cabo el procedimiento de componentes principales para extracción de factores en esta muestra.

La tabla 3 resumió las medidas obtenidas de la extracción de componentes la matriz de datos analizada, se detectaron 5 componentes a partir del criterio de autovalores de correlación

mayor de 1,000. Los 5 componentes explican el 77,9% del total de la variación de los valores de la matriz de datos. Siendo que el primer componente explica el 24 %, seguido del segundo componente que explica el 17,9 %, la tercera componente explica el 15,9%, el cuarto componente el 11,3% y el quinto componente explica apenas el 8,9% de la variación de información.

Con el fin de no recargar el análisis, se procedió a reportar los componentes y sus respectivas variables explicativas. En el primer componente, hubo correlación de las variables CD3+, CD4+, CD19+/CD20+ e IL-6; en el segundo componente, correlacionó CD4+, IL-6, relación CD4+/CD8+ y CD8+; el tercer componente solo tuvo correlación con leucocitos; el cuarto componente, con NK y NKT, e IL-10; y el último componente, la menos explicativa, correlacionó IFN-gamma e IL-10.

A partir de la tabla 5, se analizaron las relaciones de marcadores inmunológicos y las variables bio-sociales.

En el diagnóstico nutricional, tabla 5, se asociaron las variables CD4+, relación CD4+/CD8+ y CD8+; hubo diferencia en el porcentaje de linfocitos T CD4+, en pacientes con sobrepeso estuvo disminuido (13 ± 8 %), más elevado en pacientes normales (32 ± 12 %) y en comparación con este último grupo, en desnutridos, estuvo disminuido (27 ± 14 %) y fueron diferencias estadísticamente significativas ($F = 4,100$; $p = 0,022$; $\eta^2 = 0,128$); en el caso de la relación linfocitos TCD4+/CD8+, se reportó más disminuida en pacientes con sobrepeso-obesos ($0,44 \pm 0,39$), así como el grupo que presentaba desnutrición ($1,42 \pm 1,02$) y estuvo más elevada en pacientes con nutrición normal, en comparación con los grupos anteriores ($2,02 \pm 0,89$) y fue una diferencia estadísticamente significativa ($F = 4,107$; $p = 0,022$; $h^2 = 0,128$); por último, también se encontró diferencias en el porcentaje de linfocitos T CD8+ y el diagnóstico nutricional, más elevado en pacientes con sobrepeso-obeso (35 ± 19) mientras que en desnutrición estuvo disminuido (22 ± 10) y mucho más disminuido en normales (20 ± 9) con diferencia estadística significativa entre grupos ($F = 3,836$; $p = 0,027$; $h^2 = 0,121$). El resto de los marcadores no se relacionó al diagnóstico nutricional. Ver gráfico 9-10.

En la tabla 6, sobre el efecto del uso de los esteroides, se dicotomizó, entre aquellos que recibieron esteroides ($n = 42$) y los que no recibieron esteroides ($n = 30$). El mayor efecto de administrar esteroides se observó en IL-10, estando más elevado en el grupo que se utilizó esteroides (28 ± 3 pg/ml) respecto al grupo que no recibió esteroides (12 ± 2 pg/ml) y fue

estadísticamente significativo ($F = 8,828$; $p = 0,004$; $h^2 = 0,134$); seguido del porcentaje de linfocitos B CD19+/CD20+, donde se encontró disminuido en pacientes que no recibieron esteroides (17 ± 8 pg/ml), respecto al grupo que si recibió esteroides (29 ± 15 pg/ml) y fue una diferencia estadísticamente significativa ($F = 8,560$; $p = 0,005$; $h^2 = 0,131$); en relación al conteo leucocitario, éste estuvo aumentado en aquellos pacientes que recibieron esteroides (11955 ± 5453 mm³), en comparación con los que no recibieron esteroides (7120 ± 2384 mm³) mostrando una diferencia estadísticamente significativa ($F = 7,987$; $p = 0,003$; $h^2 = 0,131$); el porcentaje de linfocitos T CD4+, fue mayor en pacientes que no recibieron esteroides (35 ± 12 %) en comparación con los que si recibieron (25 ± 13 %) y también fue una diferencia estadísticamente significativa ($F = 5,658$; $p = 0,021$; $h^2 = 0,121$); otro efecto del uso de esteroide fue sobre el porcentaje de linfocitos T CD3+, los pacientes que no recibieron esteroides, presentaron porcentajes más elevados (60 ± 14 %) en comparación con quienes si recibieron esteroides (51 ± 17 %) y fue una diferencia estadísticamente significativa ($F = 4,763$; $p = 0,033$; $h^2 = 0,119$). El porcentaje de linfocitos NK, también tuvo diferencias con el uso de esteroides, aumentados en aquellos pacientes en los que no se utilizó el esteroide ($9,1 \pm 5,1$ %) mientras que en los pacientes que si se usó, estuvieron disminuidos ($6,7 \pm 4,6$ %) y hubo diferencia estadística significativa ($F = 4,771$; $p = 0,033$; $h^2 = 0,117$) y por último, la concentración de IL-6, estuvo aumentada en pacientes en los que se utilizó esteroides (50 ± 14 pg/ml) mientras que, en los pacientes que no se utilizó, estaba disminuida (5 ± 2 pg/ml) y hubo diferencia estadística significativa ($F = 4,529$; $p = 0,0038$; $h^2 = 0,115$). El resto de los marcadores inmunológicos no se asoció con el uso de esteroides. Ver gráfico 11-12.

En la tabla 7, de acuerdo a la severidad clínica, solo hubo efecto sobre 2 indicadores inmunológicos las concentraciones de IL-6 y el conteo de leucocitos, en pacientes con enfermedad leve, la concentración de IL-6 fue 15 ± 9 pg/ml, mientras que aquellos pacientes con infección moderada fue 25 ± 11 pg/ml y en pacientes con enfermedad severa, la concentración de IL-6 se elevó a 121 ± 62 pg/ml, con diferencias estadísticas significativas entre grupos ($F = 10,445$; $p < 0,001$; $h^2 = 0,297$). Finalmente, los pacientes con enfermedad leve, mostraron conteo leucocitario menor 8039 ± 3300 con tendencia a la leucopenia, pacientes con enfermedad moderada 10550 ± 4483 , mientras que los pacientes con enfermedad severa 16988 ± 7003 , presentaron conteos leucocitarios mayores con tendencia a leucocitosis, con diferencias estadísticas significativas entre grupos ($F = 10,150$; $p < 0,001$; $h^2 = 0,266$). Ver gráfico 13.

Y en la tabla 8, se evaluó el efecto de la edad sobre los indicadores inmunológicos, la IL-10 tuvo su mayor concentración en lactantes mayores (35 ± 22 pg/ml), seguido de pacientes en edad preescolar (25 ± 8 pg/ml), escolares (15 ± 9 pg/ml), adolescentes (12 ± 9 pg/ml) y lactantes menores (10 ± 5 pg/ml), siendo ésta más baja en el último grupo, en comparación con el resto de los grupos de edades y hubo diferencia estadística significativa entre grupos ($F = 4,032$ $p = 0,006$; $h^2 = 0,285$); también se observó efecto de la edad sobre el conteo de leucocitos, siendo en orden de magnitud de los valores más altos a los más bajos, en lactantes menores (14920 ± 1078 mm³), lactantes mayores (14151 ± 638 mm³), preescolares (13245 ± 473 mm³), escolares (12564 ± 311 mm³) y adolescentes (8272 ± 615 mm³), con una diferencia estadística significativa entre los grupos ($F = 3,329$; $p = 0,017$; $h^2 = 0,198$); y por último, la edad influyó en las concentraciones del IFN-gamma, encontrándose más elevado en pacientes adolescentes (484 ± 110 pg/ml), preescolares (259 ± 98 pg/ml), seguido de los pacientes escolares (103 ± 98 pg/ml) y en lactantes mayores se observó la menor concentración (95 ± 32 pg/ml) de todos los grupos, con una diferencia estadística significativa entre los grupos ($F = 2,606$; $p = 0,046$; $h^2 = 0,162$). Ver gráfico 14-16.

Y en la tabla 9, se evaluó el efecto de los indicadores inmunológicos en pacientes que presentaron MIS-C respecto a los que no presentaron MIS-C; siendo el porcentaje de linfocitos B y la concentración de IL-6, los parámetros donde se observó un mayor efecto, observándose porcentajes de linfocitos B más altos en pacientes con MIS-C (36 ± 14) en comparación con los pacientes sin MIS-C (19 ± 11), reportándose dicha diferencia estadísticamente significativa ($F = 21,821$ $p = <0,001$; $h^2 = 0,277$) y respecto a la IL-6 se obtuvo mayor concentración en pacientes con MIS-C (76 ± 26 pg/ml), con relación con pacientes sin MIS-C (12 ± 3) con una diferencia estadística significativa entre grupos ($F = 7,573$ $p = 0,008$; $h^2 = 0,117$). Ver gráfico 17.

DISCUSIÓN

Esta investigación constituye una de las primeras y más actualizadas revisiones, que proporciona una visión integral de la infección por el SARS-CoV-2 en pacientes pediátricos venezolanos; teniendo como propósito evaluar el perfil inmunológico de infección por el SARS-CoV-2 en pacientes pediátricos venezolanos, específicamente los ingresados en el área COVID-19 del Hospital de Niños J.M de los Ríos en Caracas, Distrito Capital; determinando el comportamiento tanto de componente celular como los mediadores de inflamación y correlacionarlo con los factores inherentes al paciente como grupo etario, presencia de comorbilidad, estado nutricional y su influencia en la severidad clínica de la COVID-19. A continuación se discutirán los principales hallazgos de este estudio.

En base a los resultados obtenidos, se puede deducir que los pacientes pediátricos tienen un comportamiento desde el punto de vista de respuesta inmune frente a la infección por el SARS-CoV-2, distinta a lo reportado hasta la fecha en la población adulta, inclusive obteniéndose diferencias entre grupos etarios de la población infantil; condicionado por el período de maduración inmunológica que implica la edad pediátrica. De acuerdo, al análisis de los resultados de este estudio se puede afirmar que el paciente pediátrico muestra una tendencia a presentar la COVID-19 en forma leve, los pacientes que presentaron forma grave ó severa de la enfermedad fueron menores de 5 años y en su mayoría presentaron algún grado de desnutrición o factores de riesgo que se relacionaron con el desarrollo y progresión de la enfermedad. Las manifestaciones clínicas más comunes de los pacientes pediátricos con la COVID-19 fueron fiebre, tos y diarrea. En cuanto a la respuesta inmune celular y de citocinas, se observó una correlación positiva entre valores de leucocitos, linfocitos T, linfocitos B y niveles de IL-6, lo que indica que, ante leucocitosis, los porcentajes de linfocitos T, B y niveles de IL-6 eran mayores, ello a diferencia de la tendencia a leucopenia y linfopenia descrito en la población adulta. En cuanto a los porcentajes de linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+ se observó una correlación positiva e inversa con la relación linfocitos T CD4+/CD8+, lo cual sugiere una posible tendencia en la población pediátrica a una respuesta similar a la de tipo Th2 ante la infección por el SARS-CoV-2. Al evaluar linfocitos NK y NKT se correlacionaron positivamente pero inversamente con los niveles de IL-10, dado que además de efectos antiinflamatorios, esta citocina favorece un perfil Th2 e inhibe la respuesta Th1. Asimismo, se observó una correlación positiva entre niveles de IL-6, IL-10 y linfocitos B (CD19+/CD20+) lo

cual es consistente con la posibilidad de un predominio de la respuesta Th2, la cual es promotora de producción de anticuerpos T dependientes, y una relación inversa con linfocitos NKT, células efectoras de la respuesta Th1. Esto podría explicarse por la inmadurez inmunológica en la población pediátrica sobretodo en lactantes, donde existe una respuesta antiviral menos desarrollada y una respuesta de inmunidad adquirida específica menos preparada.

La complicación con mayor prevalencia presentada fue el MIS-C, el cual representó el 30,6 % (22) de los pacientes, en su mayoría lactantes y preescolares (18: 81,8%), quienes mostraron inicialmente enfermedad leve. En vista del elevado número de pacientes con MIS-C, no consistente con los porcentajes de pacientes pediátricos que presentan dicha complicación, según reportes de estudios publicados hasta la fecha, se sugiere la posibilidad del sobrediagnóstico, considerando diagnósticos diferenciales, paraclínicos realizados y disponibles en la institución al momento del ingreso, así como, adquisición de experiencia y pericia de los profesionales de salud de dicho centro, que les correspondió evaluar por primera vez casos de la COVID-19 con dicha complicación. Sin embargo, resulta importante considerar y analizar dicho grupo de pacientes en cuanto a perfil de respuesta celular y de citocinas, y su correlación con afectación sistémica.

De acuerdo a las comorbilidades presentadas por los pacientes incluidos en el estudio, el asma (7: 35%) constituyó la de mayor frecuencia, seguida del cáncer (5: 25%), nefropatías (5: 25%) hemoglobinopatías (anemia drepanocítica) (2: 10%) y diabetes mellitus tipo 1 (1: 5%), dichos pacientes con comorbilidades en su mayoría presentaron enfermedad leve, sólo el 1/3 de los pacientes (6: 30%) desarrollaron enfermedad moderada ó severa, siendo la mayoría pacientes con enfermedad renal crónica en terapia de sustitución renal (4: 20%) y pacientes oncológicos (2: 10%); condiciones que modifican la eficiente respuesta inmunitaria frente a patógenos; por otro lado, en los pacientes que presentaron asma independientemente del fenotipo y control, no se observó un mayor riesgo de enfermedad grave, siendo ello similar a lo que se plantea en las revisiones, donde no se considera el asma como factor de riesgo de susceptibilidad y severidad en la COVID-19.

Cuando realizamos evaluación de aspectos biosociales (estado nutricional/comorbilidades/severidad clínica), tratamiento con esteroides y relación con respuesta inmune celular y de citocinas, observamos:

- Inicialmente, que los pacientes con algún grado de malnutrición por déficit o exceso (desnutrición, sobrepeso, obesidad) mostraron porcentajes más bajos de linfocitos T CD4+ y relación linfocitos T CD4+/CD8+, dicho hallazgo es consistente con alteraciones de la inmunidad celular y alteraciones metabólicas secundarias a la malnutrición, lo cual también influye en la severidad clínica, siendo la mayoría de los pacientes severos desnutridos. Por otro lado, los porcentajes de linfocitos T CD8+ fueron mayores en pacientes con malnutrición por exceso, lo cual dada la capacidad de los adipocitos para secretar leptina y otros mediadores capaces de estimular la activación de linfocitos T CD8+, que preceden el acúmulo de macrófagos y favorecen la respuesta inflamatoria local; las llamadas adipocinas son consideradas el vínculo entre el metabolismo y la inmunidad, por lo cual, la alta patogenicidad de la COVID-19 en pacientes adultos obesos, podría resultar de la activación prolongada de los linfocitos T por parte del tejido adiposo, su agotamiento y reducción de la capacidad citotóxica antiviral inicial. Aunque existen publicaciones que confirman la desregulación inmune celular y humoral condicionada por la malnutrición, no existen análisis similares en pacientes pediátricos con infección por el SARS-CoV-2 y desnutrición hasta la fecha para comparar.
- En relación al tratamiento recibido se encontraron diferencias e impacto entre celularidad y niveles de citocinas, entre aquellos pacientes que habían recibido esteroides sistémicos o inmunoglobulina endovenosa y los que no habían recibido tratamiento con esteroides; en aquellos pacientes que recibieron esteroides se observó aumentó de los niveles de IL-10, IL-6, aumento de porcentaje de linfocitos B CD19+/CD20+, disminución de porcentaje de linfocitos T CD3+ CD4+ y linfocitos NK; estas diferencias son parte de los efectos por vía genómica de los esteroides, los cuales favorecen modulación de la respuesta inflamatoria induciendo la apoptosis de los linfocitos T, produciendo una polarización de los linfocitos T hacia Th2, reducen la estabilidad de los ARNm para numerosas citocinas entre ellas la IL-6, disminuye la producción de factores quimiotácticos y favorece la producción de citocinas antiinflamatorias como la IL-10, citocina producida por los linfocitos Th2 con capacidad de inhibir la síntesis de IFN, reduciendo las células efectoras de dicho sentido como los linfocitos NK. Finalmente, el aumento en las concentraciones de IL-6 por efecto de la administración de

esteroides resulta contradictorio con su mecanismo de acción, ésta constituye un marcador de inflamación de interés en los pacientes con enfermedad moderada ó severa y MIS-C, lo cual podría estar asociado al aumento encontrado en los pacientes, ya que eran éstos, quienes tenían criterio de recibir tratamiento con esteroides. No se incluyó en el análisis la dosis ni tiempo de esteroides recibido, por lo cual dicha elevación se plantea que podría no estar asociada directamente con la administración de esteroides.

- La prevalencia de la COVID-19 moderada o severa, fue mayor en niños menores de 2 años, lo cual sugiere la necesidad de evaluar y dar seguimiento exhaustivo a infecciones por el SARS-CoV-2 en lactantes, correlacionándose positivamente los niveles de IL-6 con mayor severidad, destacándose el papel de este biomarcador en la inflamación sistémica de los pacientes pediátricos. El cual, podría ser de utilidad al estimular la síntesis en hígado de la proteína C reactiva, mantener seguimiento indirecto del mismo, a través del reactante de fase aguda, de mayor disponibilidad y menor costo.
- Entre los principales hallazgos diferenciales de niveles de citocinas y celularidad en relación al grupo etario, se destacan los niveles más altos de IL-10 y conteo de leucocitos en lactantes, en relación a preescolares, escolares y adolescentes, lo cual se considera parte del comportamiento fisiológico esperado según la madurez del sistema inmune, donde el número de leucocitos es alto al nacer con aumento en las primeras 12 semanas, seguido de descenso y estabilidad durante los primeros 2 años, para luego continuar un descenso progresivo en las edades preescolar, escolar y adolescente hasta alcanzar valores similares al adulto. Predomina un mayor porcentaje de linfocitos en los menores de 2 años; tendencia que se va modificando con la edad hasta alcanzar en la adolescencia fórmula leucocitaria con predominio de porcentaje de neutrófilos, similar a los adultos. Resulta imperativo considerar los rangos normales de leucocitos dependientes de la edad antes de afirmar si un paciente pediátrico cursa con leucocitosis o leucopenia. En relación a los niveles de IL-10, recordando que son los linfocitos Th2 en mayor proporción quienes segregan dicha citocina, favorecen la respuesta humoral e inducen la producción de anticuerpos frente a la infección por el SARS-CoV-2; se destaca la tendencia del lactante a expresar citocinas de respuesta Th2, con niveles más bajos de IFN- γ , lo que probablemente sugiere una menor capacidad de respuesta Th1 en este grupo etario; con respuesta celular antiviral más eficiente en escolares/adolescentes y con respuesta humoral antiviral dominante en lactantes y preescolares.

- Con respecto a los niveles de IFN- γ , se observaron concentraciones más altas en preescolares, escolares y adolescentes que en lactantes, lo cual se correlaciona con sugiere una probable mayor tendencia a establecer respuestas de tipo Th1, respuesta celular antiviral más robusta en niños mayores de 2 años, condicionado por la inmadurez inmunológica en la respuesta linfocitaria específica de los lactantes.

La respuesta inmune a la infección por el SARS-CoV-2 parece ser un factor crítico en el desarrollo y pronóstico de los pacientes con la COVID-19. Es por ello, que, a través de los datos obtenidos en esta investigación, es posible establecer y aclarar algunas hipótesis planteadas acerca del comportamiento de la población pediátrica frente a la infección por el SARS-CoV-2, su menor tendencia a desarrollar formas graves y menor mortalidad; al comparar los resultados de este estudio con otras cohortes pediátricas y metaanálisis realizados, encontramos:

- Qiuh, *et al.* 2020 ³ Realizó en Zhejiang, China un estudio prospectivo entre enero-marzo, donde se evaluaron 36 pacientes pediátricos con infección por el SARS-CoV-2 concluyendo que el 75% (27) de los casos presentaron enfermedad leve, los síntomas principales presentados fueron fiebre (86%) y tos seca (29%) y más del 55% de los casos eran pacientes menores de 5 años, lo cual coincide con los hallazgos de nuestro estudio.
- Lu, X. *et al.* 2020 ⁵ Evaluaron en el Hospital Infantil de Wuhan, China, único centro para mes de enero-febrero asignado para la atención de pacientes pediátricos con infección por el SARS-CoV-2 y concluyeron que de los 171 pacientes incluidos en el estudio, la fiebre fue el síntoma principal, la mayoría de los pacientes se encontraban en edades menores a 5 años y el 75 % de los mismos, la infección se correlacionó con transmisión de un miembro del hogar (adulto como primer caso); dichos hallazgos, fueron similares a los observados en nuestro estudio, donde la mayoría de los pacientes presentan edad menor a 5 años, la fiebre fue el síntoma cardinal; y aunque no se consideró la transmisión, se tomó como criterio de inclusión el contacto epidemiológico intradomiciliario con un adulto con la COVID-19 confirmado.
- Cur Pierce C, *et al.* 2020 ⁶³ Realizaron un estudio retrospectivo comparativo entre pacientes pediátricos y pacientes adultos con la COVID-19, hospitalizados en el Centro Médico Montefiore en el Bronx Nueva York, que incluyó 65 pediátricos y 60 adultos, evaluando las respuestas inmunes celulares, humorales y de citocinas; encontrando como complicación más frecuente en la población pediátrica el MIS-C, mayor porcentaje de linfocitos T en pediátricos en relación con adultos, menores concentraciones de IFN- γ en pacientes pediátricos en relación

con adultos, considerando que dichas concentraciones tenían valores más altos a mayor grupo etario (adolescentes); y concentraciones más bajas de IL-6 en pacientes pediátricos con enfermedad leve ó moderada, dichos hallazgos son similares a los encontrados en nuestro estudio, donde los niveles de IFN- γ fueron mayores en escolares y adolescentes, la mayor complicación encontrada fue MIS-C y los porcentajes de linfocitos T fueron mayores a menor grupo etario, concluyendo una menor tendencia a linfopenia en la población pediátrica, en relación a los hallazgos hasta la fecha, en estudios de adultos con infección por el SARS-CoV-2.

- Rehman S, *et al.* 2020 ⁶⁴ Realizaron una revisión de 3 series de casos de estudios de niños infectados por el SARS-CoV-2 en China, la primera serie incluyó 20 pacientes de Zhejiang, segunda 34 pacientes Shenzhen y la tercera 6 pacientes Wuhan; reportando mayor frecuencia en general de enfermedad leve >65 % casos, síntomas más frecuentes referidos fiebre y tos, niveles más bajos de IL-6 e IFN- γ en pacientes lactantes, concluyendo una menor respuesta antiviral específica en la población infantil. Dichos hallazgos fueron similares a los observados en nuestro estudio, donde la mayoría de nuestros pacientes tuvieron una enfermedad leve, los síntomas que predominaron fue la fiebre seguido de tos, y las concentraciones de IFN- γ fueron más bajas en lactantes (< 2 años) en relación a escolares y adolescentes; concluyendo una respuesta antiviral menos robusta en lactantes.
- Huang W, *et al.* 2020 ⁶⁵ Realizaron un metaanálisis donde se evaluaron los porcentajes de linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+, linfocitos B, NK en pacientes pediátricos con enfermedad grave, sin alteraciones relevantes en estos parámetros en la enfermedad leve; lo cual se correlaciona con los hallazgos encontrados en nuestro estudio donde el parámetro de mayor relevancia que se modificó en pacientes severos fue la IL-6, sin alteraciones significativas en el porcentaje de linfocitos T ni B.
- Posfay-Barbe, K. *et al.* 2020 ⁶⁶ Realizaron un estudio entre marzo-abril en un Hospital Ginebra-Suiza, con 56 pacientes pediátricos con la COVID-19, reportando una enfermedad leve 40 (71,4%) de los casos evaluados en dicho centro y como síntoma principalmente referido fiebre 82 %, seguido de tos 67%; asimismo, Shah K, *et al.* 2021 en una revisión de la infección por el SARS-CoV-2 en pacientes pediátricos y Cui X, *et al.* 2020 en un metanálisis realizado, concluyen que la fiebre y la tos son los síntomas que se presentan en la mayoría de los casos y que los pacientes que evolucionaron a enfermedad grave o severa comprendieron en su mayoría

menores de 2 años, lo cual se relaciona con lo reportado en este estudio; sin embargo, no se consideró en dichos estudios el factor de malnutrición encontrado en la mayoría de los pacientes que presentaron enfermedad severa en esta investigación (5/8= 62,5%).

- Abrams, E. *et al.* 2020 ⁶⁷ Realizaron una revisión acerca del asma en pediatría y la COVID-19, concluyendo que optimizar el manejo del asma sigue siendo la principal intervención para mantener estos niños sanos, que es necesaria una vigilancia continua para reducir exacerbaciones ante infección por el SARS-CoV-2, ya que son los determinantes sociales como estado nutricional y acceso a servicios de salud quienes ejercen un mayor impacto en la población infantil con asma para exacerbaciones y riesgo de severidad en la COVID-19, más no el asma por si sola, de acuerdo a lo evaluado. Similar a los resultados de nuestro estudio donde no se encontró una relación entre la presencia de asma como comorbilidad y enfermedad grave.
- Adir Y, *et al.* 2021 ⁶⁸ Realizaron una revisión evaluando los fenotipos del asma y su importancia en la evaluación del riesgo de infección y gravedad por infección por el SARS-CoV-2, observando que en fenotipos Th2 altos existía una reducción de riesgo de severidad en contraste con pacientes con fenotipos Th2 bajos; el uso de corticoesteroides inhalados en éstos pacientes reducía la expresión en el tracto respiratorio del ACE2, concluyendo que el asma no es un factor de riesgo para infección ni gravedad en la COVID-19 y que no se ha descrito un mayor riesgo de exacerbaciones del asma en pacientes con la infección. Nuestro estudio presenta similitudes con lo descrito en la revisión anterior, la mayor tendencia a respuesta Th2 según los determinantes celulares y citocinas evaluadas, así como, la no asociación de asma con gravedad de la enfermedad.
- Toraih E, *et al.* 2021 ⁶⁹ Realizaron un metaanálisis que incluía 15 artículos con grupos de pacientes pediátricos con infección por el SARS-CoV-2, cuyo marcador inflamatorio de mayor relevancia fue la IL-6, donde reportaron concentraciones medias de 189 pg/ml en pacientes graves. Resultados similares a nuestro estudio, donde se encontró una relación estadísticamente significativa entre los niveles de IL-6 y mayor severidad clínica, con concentraciones medias de 136 pg/ml, cercanas a lo antes descrito.
- Rudan I, *et al.* 2021⁷⁰ Realizaron un metaanálisis y concluyeron que los pacientes pediátricos presentaban infecciones por el SARS-CoV-2 levemente sintomáticas, sin embargo, sugieren prestar atención a los niños, ya que estos podrían ser agentes que más que fácilmente

propagan la infección a los adultos con mayor riesgo de severidad y mortalidad; consistente con éste estudio en cuanto a la tendencia leve de la COVID-19 en los pacientes evaluados, se sugiere hacer énfasis en la vigilancia en menores de 2 años, no solamente por ser contactos para los adultos, sino por la posibilidad en éstos de presentar mayor tendencia a enfermedad moderada-severa y mayores complicaciones, explicadas por su inmadurez en la respuesta inmune específica.

- Giacalone, *et al.* 2021 ⁷¹ Realizaron una revisión de casos de pacientes que presentaron MIS-C, observándose en la mayoría elevación de IL-6, proteína C reactiva, fibrinógeno y ferritina, resultados consistentes con lo reportado en nuestro estudio, donde los pacientes que presentaron MIS-C, mostraron concentraciones más elevadas de IL-6, en comparación con los pacientes sin MIS-C; considerándose éste como un marcador inflamatorio de seguimiento y pronóstico.

Este estudio tiene varias limitaciones, entre ellas, la poca disponibilidad de estudios de cohortes pediátricas que incluyeran evaluación de celularidad, citocinas y aspectos bio-sociales del paciente a nivel internacional y regional; las dificultades para el traslado de las muestras y procesamiento en el laboratorio clínico, dada distancia geográfica del mismo con la institución hospitalaria; la escasa disponibilidad de información detallada sobre valores normales de citocinas inflamatorias evaluadas en las edades pediátricas. Por último, la poca cantidad de pacientes con enfermedad grave, lo cual podría inducir en parte un sesgo, sin embargo, los pacientes pediátricos se caracterizan por una tendencia leve y menor mortalidad según distintos metaanálisis descritos, y los datos aportados en la investigación se considerarían completos para un hospital habilitado para la atención de niños con la COVID-19.

Conclusiones

Este trabajo de grado demuestra y confirma la evidencia publicada hasta la fecha desde el establecimiento de la pandemia por la OMS en marzo 2020, donde diferentes estudios de casos en pacientes pediátricos con infección por el SARS-CoV-2 establecían una enfermedad menos grave que los adultos, pero con igual posibilidad de contagio. Presentando en la mayoría de los casos incluidos en este estudio enfermedad leve.

Respecto al perfil de expresión de citocinas y respuesta celulares evaluadas, esta investigación arroja datos que sugieren una tendencia a menor edad, de predominio de respuesta Th2, inductora producción de anticuerpos T dependientes y una relación linfocito T CD4+/CD8+ dominante, con impacto o afectación de dicha respuesta en condiciones que favorezcan desregulación o modulación de la respuesta inmune, como malnutrición por déficit/exceso y administración de esteroides sistémicos, en mayor medida el uso de la dexametasona incluso en casos leves de la enfermedad. En pacientes pediátricos mayores de 5 años, sobre todo adolescentes, se observó concentraciones más elevadas de IFN- γ , favoreciendo una respuesta de perfil Th1, con respuesta celular protagónica ejercida por los neutrófilos, macrófagos, linfocitos NK, NKT y linfocitos T CD8+, consistente con porcentajes más altos de NK, NKT y linfocitos T CD8+ en escolares y adolescentes, inversamente proporcional a niveles de IL-10 y relación linfocitos T CD4+/CD8+.

Con relación a los biomarcadores que influyen en la severidad clínica de la COVID-19 en población pediátrica se logró constatar que la IL-6, constituye el parámetro de mayor influencia en la inflamación sistémica; con tendencia a elevación de conteo de leucocitos en la enfermedad moderada o grave, sin significancia estadística de otros parámetros celulares como porcentaje de linfocitos o linfopenia asociada a severidad y descrita en adultos.

La presencia de algunas comorbilidades como nefropatías y cáncer se asoció con mayor severidad clínica y riesgo de mortalidad, patologías que *per se* condicionan tanto por disfunción orgánica como por terapias recibidas, alteraciones en la respuesta inmune tanto celular como humoral. Sin embargo, la presencia de asma como comorbilidad, no se asoció con mayor gravedad, y similar a la reciente evidencia, se concluye que la misma no constituye un factor de riesgo para contagio o severidad de la COVID-19 en población pediátrica venezolana.

Finalmente, se destacan las diferencias encontradas en porcentajes de linfocitos T CD4+, T CD8+ y relación linfocitos T CD4+/CD8+, entre pacientes eutróficos o con peso normal y

malnutrición, lo cual demuestra la repercusión notable del estado nutricional en la inmunidad; siendo nuestra investigación la primera en documentar dicho impacto, en pacientes pediátricos con la COVID-19 en Venezuela.

Esta investigación arroja datos de una cohorte de 72 pacientes de la población pediátrica venezolana, por los que sería importante aplicarlo en una muestra más amplia. Incluir estudios sólo en pacientes que presentan MIS-C, con la finalidad de establecer respuestas inmunes celulares, humorales y de citocinas, en esta complicación particular y frecuente; considerando fundamental la profundización de estos estudios sobre la COVID-19 en niños, muy presente en la actualidad.

AGRADECIMIENTO

La siguiente investigación se pudo llevar a cabo en primer lugar, gracias al apoyo técnico y financiero del proyecto ONCTI del FONACIT ente adscrito al MINCYT, bajo la coordinación y asesoría en la ejecución de procedimientos de laboratorio de la Msc. Soriuska Mayora coordinadora del laboratorio clínico del Instituto de Inmunología UCV; miembro fundamental en el desarrollo del trabajo.

Agradecimiento al Doctor Alexis García, tutor de la investigación, por brindar su asesoría con material de apoyo, revisión bibliográfica, análisis de resultados y solicitud de apoyo financiero al MINCYT.

Agradecimiento especial al Dr. Juan De Sanctis, por proporcionar asesoría técnica y asistencia en la evaluación de resultados, análisis estadístico y conclusiones de la investigación. Así como, al licenciado Douglas Angulo, por su asesoría técnica en el análisis de los datos obtenidos.

Agradecimiento a todo el equipo del laboratorio clínico que integra el área de células, en especial a la Bioanalista Wendy Martínez por proporcionar sus conocimientos para la ejecución de los procedimientos necesarios para el procesamiento de las muestras y reporte de resultados.

REFERENCIAS

1. Consiglio CR, Cotugno N, Sardh F, Pou C, Amodio D, Rodriguez L, et al. The Immunology of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children with COVID-19. *Cell*. septiembre de 2020; S0092867420311570.
2. Zimmermann P, Curtis N. Coronavirus Infections in Children Including COVID-19: An Overview of the Epidemiology, Clinical Features, Diagnosis, Treatment and Prevention Options in Children. *Pediatr Infect Dis J*. mayo de 2020;39(5):355-68.
3. Qiu H, Wu J, Hong L, Luo Y, Song Q, Chen D. Clinical and epidemiological features of 36 children with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Zhejiang, China: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis*. junio de 2020;20(6):689-96.
4. Carsetti R. The immune system of children: the key to understanding SARS-CoV-2 susceptibility? 2020;4:3.
5. Lu X, Zhang L, Du H, Zhang J, Li YY, Qu J, et al. SARS-CoV-2 Infection in Children. *N Engl J Med*. 2020;3.
6. Yonker LM, Shen K, Kinane TB. Lessons unfolding from pediatric cases of COVID-19 disease caused by SARS-CoV-2 infection. *Pediatr Pulmonol*. mayo de 2020;55(5):1085-6.
7. Souza TH, Nadal JA, Nogueira RJN, Pereira RM, Brandão MB. Clinical manifestations of children with COVID-19: A systematic review. *Pediatr Pulmonol*. agosto de 2020;55(8):1892-9.
8. Comunicado de prensa conjunto FAO-PMA. Los organismos alimentarios de las Naciones Unidas advierten del aumento de los niveles de hambre aguda con riesgo de hambruna en cuatro zonas problemáticas. FAO 2020. [Citado el 22 de septiembre 2020]. Disponible en: <http://www.fao.org/home/en/>. Food and Agriculture Organization of Unites Nations. 2020.
9. Tidey, C. Venezuela: aumenta la prevalencia de la desnutrición infantil en medio de una crisis económica cada vez más profunda. UNICEF enero 2018. [Citado el 22 de septiembre

- 2020]. Disponible en: <https://www.unicef.org/es/comunicados-prensa/venezuela-aumenta-la-prevalencia-desnutrici%C3%B3n-infantil-crisis-econ%C3%B3mica-profunda>.
10. Redacción BBC News Mundo. Hambre en Venezuela: los alarmantes niveles de desnutrición entre los niños venezolanos que se agravan por la pandemia. BBC julio 2020. [Citado el 22 de septiembre 2020]. Disponible en: <https://www.bbc.com/mundo/noticias-america-latina-53381127>.
 11. Brodin P. Why is COVID-19 so mild in children? *Acta Paediatr.* junio de 2020;109(6):1082-3.
 12. Rachel N. La COVID-19 y los niños: más de 338,980 casos reportados; los jóvenes sufren complicaciones. AARP (American Association of Retired Persons). 10 de agosto 2020. [Citado el 23 de septiembre 2020]. Disponible en: <https://www.aarp.org/espanol/?intcmp=HP-INICIO-LN-ES>.
 13. Ministerio del Poder Popular para la Salud. COVID-19 Boletín Nacional. 8 de abril 2021. [Citado el 8 de abril 2021]. Disponible en: <https://covid19.patria.org.ve/estadisticas-venezuela/>.
 14. García LF. Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19. *Front Immunol.* 16 de junio de 2020;11:1441.
 15. D'Antiga L. Coronaviruses and Immunosuppressed Patients: The Facts During the Third Epidemic. *Liver Transpl.* junio de 2020;26(6):832-4.
 16. Paces J, Strizova Z, Smrz D, Cerny J. COVID-19 and the Immune System. *Physiol Res.* 30 de junio de 2020;379-88.
 17. Baas T, Taubenberger JK, Chong PY, Chui P, Katze MG. SARS-CoV Virus-Host Interactions and Comparative Etiologies of Acute Respiratory Distress Syndrome as Determined by Transcriptional and Cytokine Profiling of Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissues. *J Interferon Cytokine Res.* mayo de 2006;26(5):309-17.

18. Zhang W, Zhao Y, Zhang F, Wang Q, Li T, Liu Z, et al. The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): The Perspectives of clinical immunologists from China. *Clin Immunol.* mayo de 2020;214:108393.
19. Chu H, Chan JF-W, Wang Y, Yuen TT-T, Chai Y, Hou Y, et al. Comparative Replication and Immune Activation Profiles of SARS-CoV-2 and SARS-CoV in Human Lungs: An Ex Vivo Study With Implications for the Pathogenesis of COVID-19. *Clin Infect Dis.* 12 de septiembre de 2020;71(6):1400-9.
20. Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 12 de marzo de 2020;579(7798):270-3.
21. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* marzo de 2020;579(7798):265-9.
22. Channappanavar R, Fehr AR, Vijay R, Mack M, Zhao J, Meyerholz DK, et al. Dysregulated Type I Interferon and Inflammatory Monocyte-Macrophage Responses Cause Lethal Pneumonia in SARS-CoV-Infected Mice. *Cell Host Microbe.* febrero de 2016;19(2):181-93.
23. Falzarano D, de Wit E, Rasmussen AL, Feldmann F, Okumura A, Scott DP, et al. Treatment with interferon- α 2b and ribavirin improves outcome in MERS-CoV-infected rhesus macaques. *Nat Med.* octubre de 2013;19(10):1313-7.
24. Sims AC, Baric RS, Yount B, Burkett SE, Collins PL, Pickles RJ. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Infection of Human Ciliated Airway Epithelia: Role of Ciliated Cells in Viral Spread in the Conducting Airways of the Lungs. *J Virol.* 15 de diciembre de 2005;79(24):15511-24.
25. Chuan Qin, Luoqi Zhou. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. Oxford University Press for the Infectious Diseases Society of America. 2020;24.

26. Soriuska José Mayora, Mercedes Zabaleta Lanz and Wendy Martínez et al. Subpoblaciones linfocitarias de pacientes venezolanos infectados con SARS-CoV-2. *Gac Méd Caracas*.. Vol. 128(S1):74-78. DOI: 10.47307/GMC.2020.128.s1.8
27. Zhe Xu, Lei Shi, Yijin Wang, Jiyuan Zhang, Lei Huang, Chao Zhang, Shuhong Liu, Peng Zhao, Hongxia Liu, Li Zhu, Yanhong Tai, Changqing Bai, Tingting Gao, Jinwen Song, Peng Xia, Jinghui Dong, Jingmin Zhao, Fu-Sheng Wang. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med* 2020 8 420–22. abril de 2020;3.
28. Wang F, Nie J, Wang H, Zhao Q, Xiong Y, Deng L, et al. Characteristics of Peripheral Lymphocyte Subset Alteration in COVID-19 Pneumonia:8.
29. García-Salido A, García-Teresa MÁ, Leoz-Gordillo I, Martínez de Azagra-Garde A, Cabrero-Hernández M, Ramirez-Orellana M. Innate cell response in severe SARS-CoV-2 infection in children: expression analysis of CD64, CD18 and CD11a. *Med Intensiva*. septiembre de 2020; S0210569120303193.
30. Nemes E, Geldenhuys H, Rozot V, Rutkwoski K. et al. Prevention of M. tuberculosis infection with H4:IC31 vaccine or BCG revaccination. *N. Engl. J. Med.* 2018; 379:138–149.
31. O'Neill L, Netea M. BCG-induced trained immunity: can it offer protection against COVID-19. *Nat Rev Immunol* 2020;20:335–337. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0337-y>.
32. Liu Y, Yan L-M, Wan L, Xiang T-X, Le A, Liu J-M, et al. Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. *Lancet Infect Dis*. junio de 2020;20(6):656-7.
33. Cao Q, Chen Y-C, Chen C-L, Chiu C-H. SARS-CoV-2 infection in children: Transmission dynamics and clinical characteristics. *J Formos Med Assoc*. marzo de 2020;119(3):670-3.
34. Yong-Zhen Z. SARS-CoV-2. Estructura y mecanismo de acción. 14 de abril 2020. Blog del COBCM. [Citado el 26 de septiembre 2020]. Disponible en: <https://cobcm.net/blogcobcm/2020/04/14/sars-cov-2-biologia-estructura/>.

35. Tolosa, A. Coronavirus SARS-CoV-2: estructura, mecanismo de infección y células afectadas. 18 de mayo 2018. Genotipia. [Citado el 26 de septiembre 2020]. Disponible en: https://genotipia.com/genetica_medica_news/coronavirus-estructura-infeccion-celulas/.
36. Colegio Oficial de Biólogos de la Comunidad de Madrid. SARS-CoV-2. Mecanismo de actuación. 14 de abril 2020. Blog del COBCM. [Citado el 26 de septiembre 2020]. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=ROZ0qoZo5G8>. IciCiencia.
37. Cascella M, Rajnik M, Cuomo A, Dulebohn S, Di Napoli R. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). ncbi. 10 de agosto de 2020;
38. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol.* abril de 2020;92(4):418-23.
39. Snijder EJ, van der Meer Y, Zevenhoven-Dobbe J, Onderwater JJM, van der Meulen J, Koerten HK, et al. Ultrastructure and Origin of Membrane Vesicles Associated with the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Replication Complex. *J Virol.* 15 de junio de 2006;80(12):5927-40.
40. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet.* febrero de 2020;395(10224):565-74.
41. Neuman BW, Kiss G, Kunding AH, Bhella D, Baksh MF, Connelly S, et al. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *J Struct Biol.* abril de 2011;174(1):11-22.
42. García-Salido A. Revisión narrativa sobre la respuesta inmunitaria frente a coronavirus: descripción general, aplicabilidad para SARS-COV-2 e implicaciones terapéuticas. *An Pediatría.* julio de 2020;93(1):60.e1-60.e7.
43. Yu X. Modeling return of the epidemic: Impact of population structure, asymptomatic infection, case importation and personal contacts. *Travel Med Infect Dis.* septiembre de 2020;37:101858.

44. Prem K, Liu Y, Russell TW, Kucharski AJ, Eggo RM, Davies N, et al. The effect of control strategies to reduce social mixing on outcomes of the COVID-19 epidemic in Wuhan, China: a modelling study. *Lancet Public Health*. mayo de 2020;5(5):e261-70.
45. Farag NS, Breitingner U, Breitingner HG, El Azizi MA. Viroporins and inflammasomes: A key to understand virus-induced inflammation. *Int J Biochem Cell Biol*. mayo de 2020;122:105738.
46. Scott C, Griffin S. Viroporins: structure, function and potential as antiviral targets. *J Gen Virol*. 1 de agosto de 2015;96(8):2000-27.
47. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol*. julio de 2017;39(5):529-39.
48. Cheung CY, Poon LLM, Ng IHY, Luk W, Sia S-F, Wu MHS, et al. Cytokine Responses in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-Infected Macrophages In Vitro: Possible Relevance to Pathogenesis. *J Virol*. 15 de junio de 2005;79(12):7819-26.
49. De Sanctis, J. B., García, A. H., Moreno, D., & Hajduch, M. (2021). Coronavirus infection: An immunologists' perspective. *Scandinavian Journal of Immunology*. doi:10.1111/sji.13043.
50. Giamarellos-Bourboulis EJ, Netea MG, Rovina N, Akinosoglou K, Antoniadou A, Antonakos N, et al. Complex Immune Dysregulation in COVID-19 Patients with Severe Respiratory Failure. *Cell Host Microbe*. junio de 2020;27(6):992-1000.e3.
51. Torres J, García A. ARCHIVOS VENEZOLANOS DE PUERICULTURA Y PEDIATRÍA CONSENSO VENEZOLANO SOBRE MANIFESTACIONES SISTÉMICAS DE LA COVID-19. mayo de 2020;83.
52. Organización Mundial de la Salud. Manejo clínico de la COVID-19. Orientaciones Provisionales. 27 de mayo 2020. [citado 28 de septiembre de 2020]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332638/WHO-2019-nCoV-clinical-2020.5-spa.pdf>.

53. Organización Mundial de la Salud. Multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents with COVID-19. Mayo 2020. [Citado el 28 de septiembre 2020]. Disponible en: file:///C:/Users/carus/Downloads/WHO-2019-nCoV-Sci_Brief_Multisystem_Syndrome_Children-2020.1-eng.pdf.
54. Park JY, Han MS, Park KU, Kim JY, Choi EH. First Pediatric Case of Coronavirus Disease 2019 in Korea. *J Korean Med Sci.* 2020;35(11):e124.
55. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA.* 9 de junio de 2020;323(22):2249.
56. Consenso de recomendaciones terapéuticas y generales para el abordaje médico en adultos con COVID-19. *Bol Venez Infectol Vol. 31 - Nº 1, enero-junio 2020* [Citado el 28 septiembre 2020]. Disponible en: <https://www.svinfectologia.org/>.
57. Trilla, A. Diagnóstico del Coronavirus SARS-CoV-2. *Portal Clínic.* Marzo 2020. [Citado el 29 septiembre 2020]. Disponible en: <https://www.clinicbarcelona.org/asistencia/enfermedades/covid-19/diagnostico>
58. Berghezan Suárez A, Suárez Rodríguez. TRATAMIENTOS POTENCIALES PARA COVID-19 (INFECCIÓN POR SARS-CoV2). <https://www.aepaporggruposgrupo--Patol-Infec--Gpi.2020>;
59. Meyer B, Drosten C, Müller MA. Serological assays for emerging coronaviruses: Challenges and pitfalls. *Virus Res.* diciembre de 2014;194:175-83.
60. Pruebas de diagnóstico para COVID-19. *Mayo Clínic.* Junio 2020. [Citado el 29 de septiembre 2020]. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es-es/tests-procedures/covid-19-diagnostic-test/about/pac-20488900>. 2020.
61. Lurie N, Saville M, Hatchett R, Halton J. Developing Covid-19 Vaccines at Pandemic Speed. *N Engl J Med.* 21 de mayo de 2020;382(21):1969-73.
62. Hair JE, Anderson RE, Tatham RL, Black WC. *Análisis multivariante.* 5ta ed, Pearson Prentice Hall, 2016.

63. Pierce, C. A., Preston-Hurlburt, P., Dai, Y., Aschner, C. B., Cheshenko, N., Galen, B., Herold, B. C. (2020). Immune responses to SARS-CoV-2 infection in hospitalized pediatric and adult patients. *Science Translational Medicine*, 12(564), eabd5487. doi:10.1126/scitranslmed.abd54.
64. Rehman, S., Majeed, T., Azam Ansari, M., Ali, U., Sabit, H., & Al-Suhaimi, E. A. (2020). Current Scenario of COVID-19 in Pediatric Age Group and Physiology of Immune and Thymus response. *Saudi Journal of Biological Sciences*. doi:10.1016/j.sjbs.2020.05.024.
65. Huang, W., Berube, J., McNamara, M., Saksena, S., Hartman, M., Arshad, T., Bornheimer, S.J. and O'Gorman, M. (2020), Lymphocyte Subset Counts in COVID-19 Patients: A Meta-Analysis. *Cytometry*, 97: 772-776. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.24172>.
66. Posfay-Barbe KM, Wagner N, Gauthey M, et al. COVID-19 en Niños y la Dinámica de Infección en Familias. *Pediatría*.2020;146(2): e20201576.
67. Abrams, E. M., Sinha, I., Fernandes, R. M., & Hawcutt, D. B. (2020). Pediatric asthma and COVID-19: The known, the unknown, and the controversial. *Pediatric Pulmonology*, 55(12), 3573–3578. doi:10.1002/ppul.25117.
68. Adir Y, Saliba W, Beurnier A, et al. Asthma and COVID-19: an update. *Eur Respir Rev* 2021; 30: 210152 [DOI: 10.1183/16000617.0152-2021].
69. Toraih, E. A., Hussein, M. H., Elshazli, R. M., Kline, A., Munshi, R., Sultana, N., ... Kandil, E. (2021). Multisystem inflammatory syndrome in pediatric COVID-19 patients: a meta-analysis. *World Journal of Pediatrics*, 17(2), 141–151. doi:10.1007/s12519-021-00419-y.
70. Rudan I, Adeloye D, Katikireddi SV, Murray J, Simpson C, Shah SA, Robertson C, SheikhA; Colaboración EAVE II. La pandemia de COVID-19 en niños y jóvenes durante 2020-2021: Aprendiendo sobre presentación clínica, patrones de propagación, carga viral, diagnóstico y tratamiento. *J Global Health* 2021;11:01010.
71. Giacalone, M., Scheier, E. & Shavit, I. Multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C): a mini-review. *Int J Emerg Med* 14, 50 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12245-021-00373-6>.
72. Mehta P, McAuley D, Brown M, Sanchez E. et al. COVID-19: Consider cytokine storm Syndromes and Immunosuppression. *Lancet* 2020;395:1033–1034.

73. Sun, D., Li, H., Lu, X.-X., Xiao, H., Ren, J., Zhang, F.-R., & Liu, Z.-S. (2020). Clinical features of severe pediatric patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan: a single center's observational study. *World Journal of Pediatrics*. Doi:10.1007/s12519-020-00354-4
74. Shah K, Upadhyaya M, Kandre Y, Pandya A, Saraf V, Saxena D, Mavalankar D. Epidemiological, clinical and biomarker profile of pediatric patients infected with COVID-19. *QJM*. 2021 Nov 5;114(7):476-495. doi: 10.1093/qjmed/hcab206. PMID: 34293142; PMCID: PMC8420635.
75. Cui, X., Zhao, Z., Zhang, T., Guo, W., Guo, W., Zheng, J., Cai, C. (2020). A systematic review and meta-analysis of children with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Journal of Medical Virology*. doi:10.1002/jmv.26398.
76. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac J Allergy Immunol* [Internet]. 2020 [citado 28 de septiembre de 2020]; Disponible en: <http://apjai-journal.org/wp-content/uploads/2020/03/1.pdf>
77. Herold S, Steinmueller M, von Wulffen W, Cakarova L, Pinto R, Pleschka S, et al. Lung epithelial apoptosis in influenza virus pneumonia: the role of macrophage-expressed TNF-related apoptosis-inducing ligand. *J Exp Med*. 22 de diciembre de 2008;205(13):3065-77.
78. Drosten C, Seilmaier M, Corman VM, Hartmann W, Scheible G, Sack S, et al. Clinical features and virological analysis of a case of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. *Lancet Infect Dis*. septiembre de 2013;13(9):745-51.

ANEXOS

ANEXO 1

CONSENTIMIENTO

Título: INFECCIÓN POR SARS-COV2 EN PACIENTES PEDIÁTRICOS: PERFIL INMUNOLÓGICO Y SU CORRELACIÓN CLÍNICA

Institución: Instituto de Inmunología UCV.

Sede donde se realizará estudio: Hospital de Niños Dr. José Manuel de los Ríos.

Investigador principal: Francis Crespo Serrano.

Introducción

Se le está solicitando su autorización para que su representado/a participe en un estudio de investigación denominado: **INFECCIÓN POR SARS-COV2 EN PACIENTES PEDIÁTRICOS: PERFIL INMUNOLÓGICO Y SU CORRELACIÓN CLÍNICA** que realiza la Dra. Francis Crespo como parte de la maestría que está cursando en el Instituto de Inmunología de la Universidad Central de Venezuela. Se ha seleccionado a su representado porque presenta la enfermedad de COVID-19. El propósito del estudio es conocer la respuesta del sistema inmunológico de los pacientes pediátricos ante la infección, lo que permitirá saber más sobre la enfermedad y así poder encontrar mejores tratamientos.

La participación de su hijo es completamente voluntaria, si no desea que la haga, su médico continuará con la atención habitual y su negativa no generará ningún inconveniente.

¿Por qué se realiza el estudio?

El propósito de esta investigación es evaluar la respuesta del sistema inmune de los niños y adolescentes ante la enfermedad COVID-19. Este sistema es como un ejército que defiende al organismo ante cualquier agresión, y está constituido por células y otros elementos con nombres complicados.

¿En qué consiste la participación de su representado en el estudio?

Si acepta que su hijo/a participe, lo primero que deberá hacer es firmar este consentimiento informado. Luego le haremos

- Preguntas sobre antecedentes médicos, síntomas presentados, tratamiento recibido.
- Y haremos mediciones de su peso y talla para evaluar su estado nutricional.
- Pruebas de sangre: se tomarán dos muestras de sangre de 2-3cc, tratando de que coincidan con la extracción de las muestras para realización de los exámenes de laboratorio-solicitados por el médico tratante. En estas muestras se evaluarán: células T, células B, células NK y niveles de interferones. Las muestras sobrantes no serán utilizadas para otros exámenes, a menos que usted como representante lo autorice.

¿Qué riesgo tendrá su hijo si participa en el estudio?

Su hijo tendrá riesgos relacionados con la extracción de la muestra de sangre por venopunción, sentirá dolor leve como pinchazo, en algunos casos hematomas que mejoran con medidas locales y en casos excepcionales puede presentarse inflamación de la vena, infección o trombosis localizadas.

¿Tendrá beneficios por participar?

Es probable que su hijo no se beneficie directamente con este estudio, pero el mismo brindará conocimientos que podrían ser útiles a otras personas que tengan la misma enfermedad.

¿Qué gastos tendremos si nuestro/a hijo/participa en el estudio?

Usted no tendrá gasto alguno.

¿Nos pagarán por la participación de nuestro hijo/a? No se les pagará por la participación de su hijo/a en este estudio.

¿Podemos retirar nuestro consentimiento, aún luego de haber aceptado? Si ustedes pueden cambiar de opinión en cualquier momento. Deben notificar al médico del estudio por escrito sobre su decisión.

¿Cómo mantendrán la confidencialidad de sus datos personales? Los datos que identifiquen a su hijo/a serán tratados en forma confidencial como lo exige la Ley. La ficha de recolección de datos y las muestras serán identificados mediante un código que solo conoce el investigador. En caso de que los resultados de este estudio sean publicados en revistas médicas o presentados en congresos médicos, su identidad no será revelada.

¿A quiénes podemos contactar si tenemos dudas sobre el estudio y los derechos de nuestro/a hijo/a como participante de un estudio de investigación?

Sobre el estudio: contactar al Investigador Principal: Dr. Francis Crespo al 0414-1009195, dirección: Instituto de Inmunología UCV.

Consentimiento voluntario

He recibido una explicación satisfactoria sobre el procedimiento del estudio, su finalidad, riesgos, beneficios y alternativas. He quedado satisfecho con la información recibida, la he comprendido, se me han aclarado todas las dudas y comprendo que la participación de mi representado/a es voluntaria. Otorgo mi consentimiento para él y conozco mi derecho a retirarlo cuando lo desee, con la única obligación de informar la decisión al médico responsable del estudio.

Nombre y apellido del participante

Representante: Nombre	Cédula	Firma
-----------------------	--------	-------

Investigador: Nombre	Cédula	Firma
----------------------	--------	-------

Testigo: Nombre.	Cédula.	Firma
------------------	---------	-------

Fecha: _____

Tabla 1.
Distribución de pacientes pediátricos con infección por SARS-CoV-2 según características epidemiológicas.

Variables	n	%
Sexo		
Masculino	34	47,2
Femenino	38	52,8
Edad		
Lactante menor	10	13,9
Lactante mayor	16	22,2
Preescolar	21	29,2
Escolar	17	23,6
Adolescente	8	11,1
Severidad COVID-19		
Leve	38	52,8
Moderado	26	36,1
Severo	8	11,1
Diagnóstico nutricional		
Desnutrición	25	34,7
Normal	44	61,1
Sobrepeso-obeso	3	4,2
Comorbilidades		
Sí	20	27,8
No	52	72,2
Complicaciones		
No	43	59,7
Coinfección bacteriana	6	8,3
Coinfección viral	1	1,4
MIS-C	22	30,6
Tratamiento recibido		
Sin esteroides	30	41,7
Dexametasona	30	41,7
Hidrocortisona	5	6,9
Metilprednisona	4	5,6
Dexametasona+inmunoglobulina	3	4,2
Sintomatología		
Fiebre	66	91,6
Tos	56	77,7
Diarrea	38	52,7

Descripción: Esta tabla muestra la distribución según frecuencia de la información acerca de las variables independientes, aspectos bio-social y clínico de los pacientes, de acuerdo a los datos recolectados en las fichas de registro. Fuente: Cálculos propios.

Tabla 2.
Matriz de correlación de indicadores inmunológicos en pacientes pediátricos con infección por SARS-CoV-2

	Leucocitos (mm ³)	Linfocitos (%)	CD3 (%)	CD4 (%)	CD8 (%)	Razón CD4/CD8	NK (%)	NKT (%)	CD19/CD20 (%)	IFN-gamma (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)
Leucocitos (mm³)	1,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Linfocitos totales (%)	-	1,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Linfocito TCD3+ (%)	-	-	1,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Linfocito TCD4+ (%)	-	-	0,763*	1,000	-	-	-	-	-	-	-	-
Linfocito TCD8+ (%)	-	-	0,406*	-	1,000	-	-	-	-	-	-	-
Relación CD4+/CD8+	-	-	-	0,549*	-0,634*	1,000	-	-	-	-	-	-
NK (%)	-0,277*	-	-	-	-	-	1,000	-	-	-	-	-
NKT (%)	-0,245*	-	0,273*	0,289*	-	-	0,464*	1,000	-	-	-	-
Linfocitos B CD19+/CD20+(%)	0,475*	-	-0,574*	-0,417*	-0,343*	-	-	-	1,000	-	-	-
IFN-gamma (pg/ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,000	-	-
IL-6 (pg/ml)	0,287*	-	-0,425*	-0,280*	-0,250*	-	-	-	0,318*	-	1,000	-
IL-10 (pg/ml)	0,308*	-	-0,300*	-0,331*	-	-	-0,268*	-0,287*	0,305	-	-	1,000

* correlación estadísticamente significativa con $p < 0,05$

Descripción: Esta tabla muestra las correlaciones lineales y positivas, así como las correlaciones con significancia inversa cuando se evaluaron parámetros inmunológicos celulares y citocinas. Fuente: Cálculos propios

Tabla 3.
Análisis factorial de la varianza total explicada de indicadores inmunológicos en pacientes pediátricos con infección por SARS-CoV-2.

Autovalores iniciales			
Componentes	Total	% de varianza	% acumulado
1	2,89	24,0	24,0
2	2,15	17,9	42,0
3	1,90	15,8	57,8
4	1,35	11,3	69,0
5	1,07	8,9	77,9
6	0,77	6,4	84,4
7	0,64	5,3	89,6
8	0,50	4,2	93,8
9	0,43	3,6	97,4
10	0,18	1,5	98,9
11	0,11	0,9	99,8
12	0,02	0,2	100,0

Descripción: Esta tabla muestra los componentes de la matriz de datos analizados, dichos componentes explican la mayoría de la variación de los valores de la matriz de datos. Se establecieron 5 componentes: 1. correlación de las variables CD3+, CD4+, CD19+/CD20+ e IL-6; 2. correlacionó CD4+, IL-6, CD4+/CD8+ y CD8+; 3. correlación con linfocitos y leucocitos; 4. Linfocitos NK y NKT, e IL-10; y 5. correlacionó IFN-gamma e IL-10. Fuente: Cálculos propios.

Tabla 4.
Análisis factorial: matriz de componentes rotados (definitivos) de indicadores inmunológicos en pacientes pediátricos con infección por el SARS-CoV-2.

Variables	Componentes				
	1	2	3	4	5
Linfocitos TCD3 + (%)	0,930	-	-	-	-
Linfocitos TCD4 + (%)	0,865	0,414	-	-	-
Linfocitos B CD19+/CD20+ (%)	-0,672	-	-	-	-
IL-6 (pg/ml)	-0,454	0,418	0,330	-	-
Relación CD4+/CD8+	-	0,921	-	-	-
Linfocitos T CD8+ (%)	0,309	-0,843	-	-	-
Linfocitos totales (%)	-	-	0,923	-	-
Leucocitos (mm3)	-	-	0,890	-	-
NK (%)	-	-	-	0,874	-
NKT (%)	-	-	-	0,758	-
IFN-gamma (ng/ml)	-	-	-	-	0,914
IL-10 (pg/ml)	-0,397	-	-	-0,405	-0,502

Método de extracción: análisis de componentes principales.

Método de rotación: Varimax con normalización Kaiser.

La rotación ha convergido en 6 iteraciones.

Descripción: Esta tabla muestra los componentes de la matriz de datos analizada, dichos componentes explican la mayoría de la variación de los valores de la matriz de datos.
Fuente: Cálculos propios.

Tabla 5.
Análisis multivariante de varianza (MANOVA) del perfil inmunológico en pacientes pediátricos con COVID-19 de acuerdo a su diagnóstico nutricional.

Diagnóstico nutricional						
Variables	Desnutrición	Normal	Sobrepeso-obeso	F	p	η^2 parcial
n	25	44	3	-	-	-
Linfocitos T CD4+ (%)	27 ± 14	32 ± 12	13 ± 13	4,100	0,022	0,128
Relación CD4+/CD8+	1,42 ± 1,02	2,02 ± 1,36	0,44 ± 0,39	4,107	0,022	0,128
Linfocitos T CD8+ (%)	22 ± 10	20 ± 9	35 ± 19	3,836	0,027	0,121
Leucocitos (mm3)	2698 ± 1690	4080 ± 2780	3828 ± 1158	2,057	0,137	0,068
IFN-gamma (ng/ml)	131 ± 100	246 ± 112	471 ± 100	1,779	0,178	0,060
Linfocitos NK (%)	8,4 ± 5,4	7,1 ± 4,6	10,7 ± 4,0	1,096	0,341	0,038
Linfocitos T CD3+ (%)	52 ± 16	56 ± 16	50 ± 21	0,904	0,411	0,031
Linfocitos totales (%)	33 ± 17	39 ± 20	35 ± 22	0,878	0,421	0,030
NKT (%)	1,50 ± 1,21	1,31 ± 1,23	0,34 ± 0,26	0,825	0,444	0,029
IL-6 (pg/ml)	33 ± 19	35 ± 18	21 ± 11	0,611	0,546	0,021
IL-10 (pg/ml)	26 ± 11	22 ± 10	14 ± 9	0,045	0,956	0,002
CD19/CD20 (%)	24 ± 16	25 ± 13	23 ± 19	0,057	0,945	0,002

Traza de Pillai: 0,518 (p = 0,162)

h² del modelo: 0,259

Descripción: Esta tabla muestra los componentes de la matriz de datos analizada, muestra diferencias entre porcentajes de linfocitos TCD4+, linfocitos TCD8+ y la relación CD4+/CD8+ en relación con el estado nutricional. Fuente: Cálculos propios.

Tabla 6.
Análisis multivariante de varianza (MANOVA) del perfil inmunológico en pacientes pediátricos con la COVID-19 de acuerdo a la administración de esteroides.

Variables	Recibió esteroides		F	p	η^2 parcial
	Sí	No			
n	42	30			
IL-10 (pg/ml)*	28 ± 3	12 ± 2	8,828	0,004	0,134
Linfocitos B CD19+/CD20+ (%)	29 ± 15	17 ± 8	8,560	0,005	0,133
Leucocitos (mm³)	11955 ± 5453	7120 ± 2384	7,987	0,003	0,131
Linfocitos T CD4+ (%)	25 ± 13	35 ± 12	5,658	0,021	0,121
Linfocitos T CD3+ (%)	51 ± 17	60 ± 14	4,763	0,033	0,119
Linfocitos NK (%)	6,7 ± 4,6	9,1 ± 5,1	4,771	0,033	0,117
IL-6 (pg/ml)*	50 ± 14	5 ± 2	4,529	0,038	0,115
Linfocitos totales (%)	34 ± 17	41 ± 20	1,350	0,250	0,029
NKT (%)	1,02 ± 0,89	1,78 ± 0,78	1,633	0,206	0,028
Linfocitos T CD8 + (%)	21 ± 10	22 ± 9	0,104	0,749	0,002
Relación CD4+/CD8+	1,62 ± 1,23	1,92 ± 1,34	0,094	0,760	0,002
IFN-gamma (ng/ml)*	217 ± 97	215 ± 100	0,001	0,979	0,000

Traza de Pillai: 0,348 (p < 0,001)

η^2 parcial: 0,388 (p = 0,011)

Descripción: Esta tabla muestra el impacto en los porcentajes de linfocitos T, linfocitos B y citocinas en relación con la administración de esteroides. Fuente: Cálculos propios.

Tabla 7.
Análisis multivariante de varianza (MANOVA) del perfil inmunológico en pacientes pediátricos con COVID-19 de acuerdo a severidad de COVID-19.

Variables	Severidad de la COVID-19			F	p	η ² parcial
	Leve	Moderado	Grave			
n	38	26	8	-	-	-
IL-6 (pg/ml)*	19 ± 8	23 ± 4	121 ± 62	10,445	< 0,001	0,272
Leucocitos (mm³)*	8039 ± 3300	10550 ± 4483	16988 ± 7003	10,150	< 0,001	0,266
IL-10 (pg/ml)	18 ± 11	27 ± 15	32 ± 15	2,109	0,131	0,070
Linfocitos B CD19+/CD20+ (%)	23 ± 13	24 ± 13	34 ± 21	1,344	0,269	0,046
Linfocitos totales (%)	40 ± 19	37 ± 19	27 ± 13	0,955	0,451	0,033
NKT (%)	1,62 ± 0,97	1,13 ± 0,79	0,66 ± 0,39	0,930	0,401	0,032
Linfocitos TCD8+ (%)	21 ± 9	21 ± 11	24 ± 11	0,687	0,507	0,024
NK (%)	8,5 ± 5,3	7,1 ± 4,7	6,1 ± 3,6	0,651	0,526	0,023
Linfocitos TCD4+ (%)	31 ± 14	27 ± 13	27 ± 13	0,382	0,684	0,013
IFN-gamma (ng/ml)	235 ± 118	194 ± 107	212 ± 174	0,095	0,910	0,003
Linfocitos TCD3+ (%)	55 ± 16	54 ± 16	53 ± 20	0,096	0,908	0,003
Relación CD4+/CD8+	1,87 ± 1,36	1,55 ± 0,91	1,79 ± 0,88	0,083	0,920	0,003

Traza de Pillai: 0,564 (p = 0,086)

h² parcial: 0,456 (p = 0,007)

Descripción: Esta tabla muestra los componentes de la matriz de datos analizada, observándose el parámetro de significancia estadística en relación con la severidad clínica, reportando la IL-6 como el marcador de mayor significancia. Fuente: Cálculos propios.

Tabla 8.

Análisis multivariante de varianza (MANOVA) del perfil inmunológico en pacientes pediátricos con la COVID-19 de acuerdo a grupo etario.

GRUPO ETARIO								
Variables	LME	LMA	P	E	A	F	p	h2 parcial
n	10	16	21	17	8	-	-	-
IL-10 (pg/ml)	10 ± 5	35 ± 22	25 ± 8	15 ± 9	12 ± 9	4,032	0,006	0,230
Leucocitos (mm3)	4920 ± 2522	4151 ± 2553	3245 ± 1178	2564 ± 1074	2872 ± 1324	3,329	0,017	0,198
IFN-gamma (ng/ml)	194 ± 45	95 ± 32	259 ± 98	103 ± 98	484 ± 110	2,606	0,046	0,162
NKT (%)	1,05 ± 0,87	1,28 ± 0,93	1,10 ± 0,87	2,00 ± 0,98	1,02 ± 0,93	2,319	0,069	0,147
NK (%)	7,7 ± 4,4	6,7 ± 4,9	6,6 ± 4,0	9,9 ± 6,5	8,0 ± 3,3	2,056	0,099	0,132
Linfocitos B CD19+/CD20+ (%)	23 ± 14	29 ± 13	29 ± 16	19 ± 11	16 ± 11	2,056	0,099	0,132
IL-6 (pg/ml)	94 ± 32	17 ± 8	34 ± 19	9 ± 5	23 ± 12	1,849	0,133	0,120
Linfocitos totales (%)	38 ± 20	37 ± 20	34 ± 20	37 ± 14	43 ± 22	0,888	0,477	0,062
Relación CD4+/CD8+	1,88 ± 0,97	1,91 ± 0,97	1,64 ± 0,91	1,86 ± 0,88	1,25 ± 0,71	0,796	0,533	0,056
Linfocitos TCD3+ (%)	54 ± 21	50 ± 14	53 ± 15	60 ± 18	56 ± 14	0,688	0,603	0,049
Linfocitos TCD8+ (%)	22 ± 15	20 ± 10	20 ± 8	34 ± 16	29 ± 14	0,562	0,691	0,040
Linfocitos TCD4+ (%)	26 ± 15	27 ± 12	28 ± 11	34 ± 15	29 ± 14	0,307	0,872	0,022

Traza de Pillai: 0,782 (p = 0,004)

h2 parcial: 0,315 (p = 0,001)

LME: lactante menor; LMA: lactante mayor; P: preescolar; E: escolar y A: adolescente. Fuente: Cálculos propios.

Descripción: Esta tabla muestra el efecto de la edad sobre los indicadores inmunológicos, observándose que la IL-10, contaje leucocitario y el IFN- γ , son los de relevancia estadística; mostrando la tendencia de respuesta inmune por edades, según el perfil de citocinas dominante.

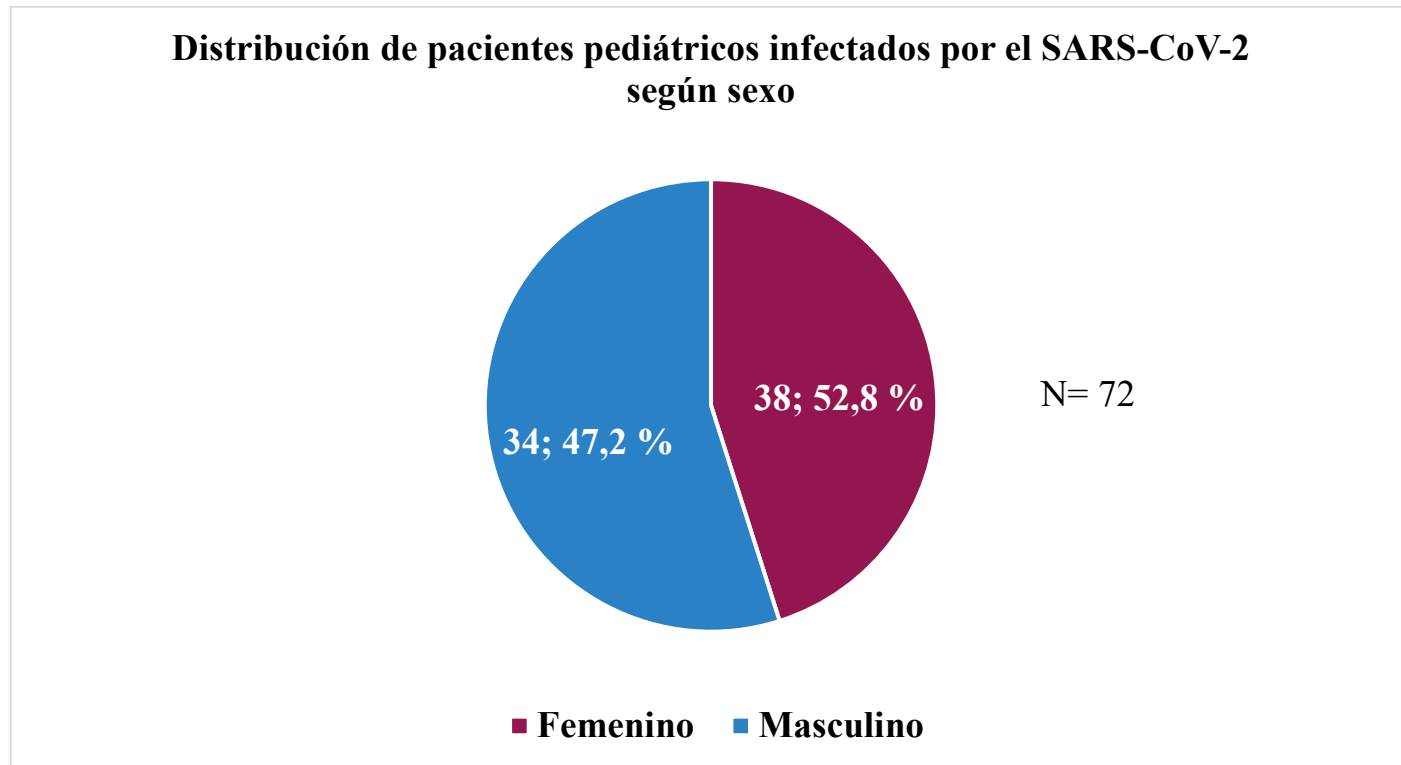
Tabla 9.
Relación de parámetros inmunológicos en pacientes con MIS-C

Variables	MIS-C		F	p	h ² parcial
	Sí	No			
n	22	50			
Linfocitos B					
CD19+/CD20+ (%)*	36 ± 14	19 ± 11	21,821	< 0,001	0,277
IL-6 (pg/ml)*	76 ± 26	12 ± 3	7,573	0,008	0,117
Leucocitos (mm ³)	11968 ± 5272	9048 ± 4692	4,517	0,038	0,073
NK (%)	6,5 ± 4,5	8,3 ± 5,0	3,583	0,063	0,059
Linfocitos TCD3+ (%)	48 ± 19	58 ± 14	3,030	0,087	0,050
Linfocitos TCD8+ (%)	19 ± 9	23 ± 10	2,834	0,098	0,047
IL-10 (pg/ml)	28 ± 19	19 ± 10	2,098	0,153	0,036
Relación CD4+/CD8+	1,81 ± 1,09	1,71 ± 0,98	1,357	0,249	0,023
Linfocitos TCD4+ (%)	25 ± 14	31 ± 13	0,524	0,472	0,009
NKT (%)	1,06 ± 0,97	1,46 ± 1,05	0,467	0,497	0,008
IFN-gamma (ng/ml)	244 ± 58	178 ± 53	0,433	0,513	0,008
Linfocitos totales (%)	35 ± 17	38 ± 20	0,107	0,744	0,002

Traza de Pillai: 0,784 (p = 0,072)

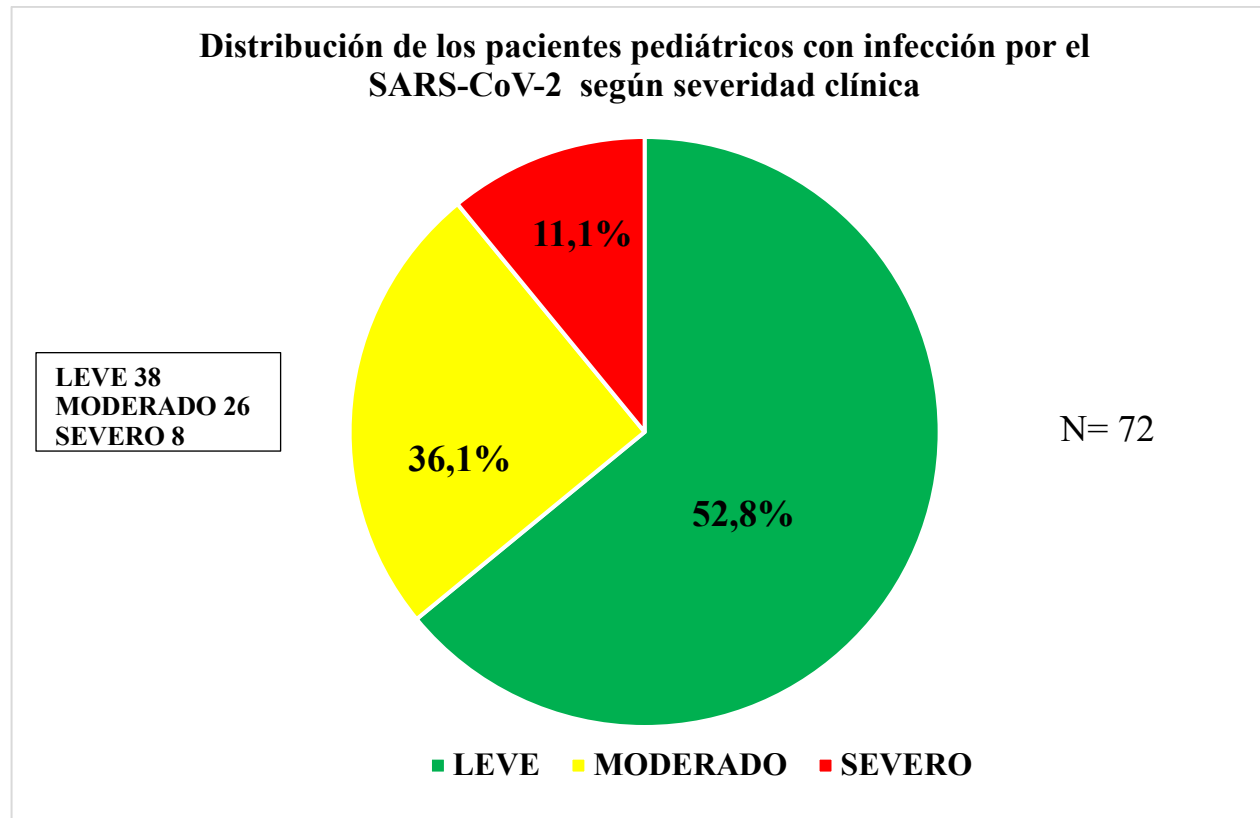
Descripción: Esta tabla muestra los parámetros inmunológicos celulares y citocinas evaluadas en pacientes pediátricos con MIS-C, en relación con los pacientes que no presentaron MIS-C, destacándose el porcentaje de linfocitos B y las concentraciones de IL-6, como los elementos de mayor significancia estadística. Fuente: Cálculos propios.

Gráfico 1.



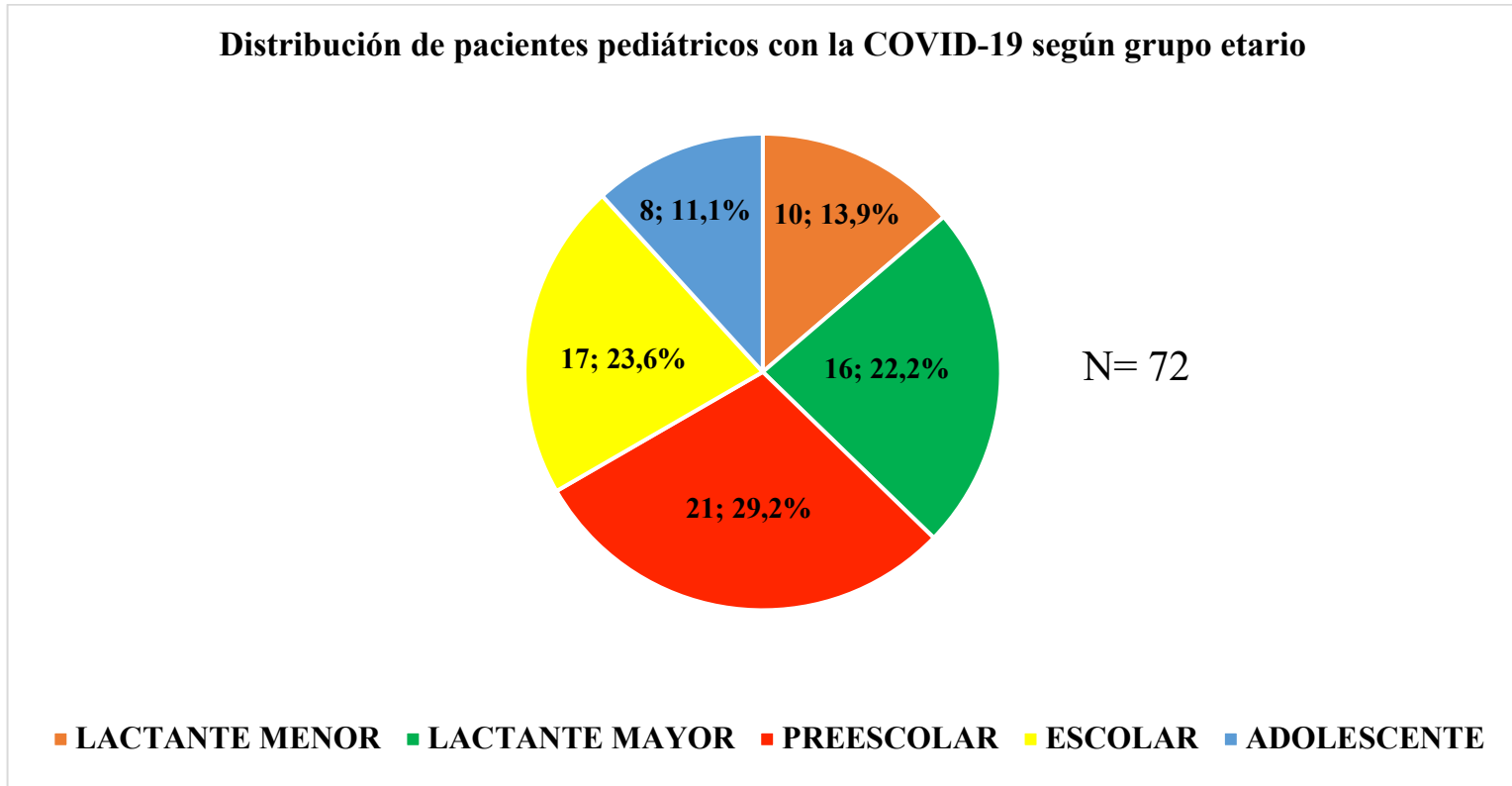
Nota: se muestra en el siguiente gráfico la distribución de los pacientes según sexo, integrados en su mayoría por pacientes femeninos. Fuente: cálculos propios en Microsoft Excel.

Gráfico 2.



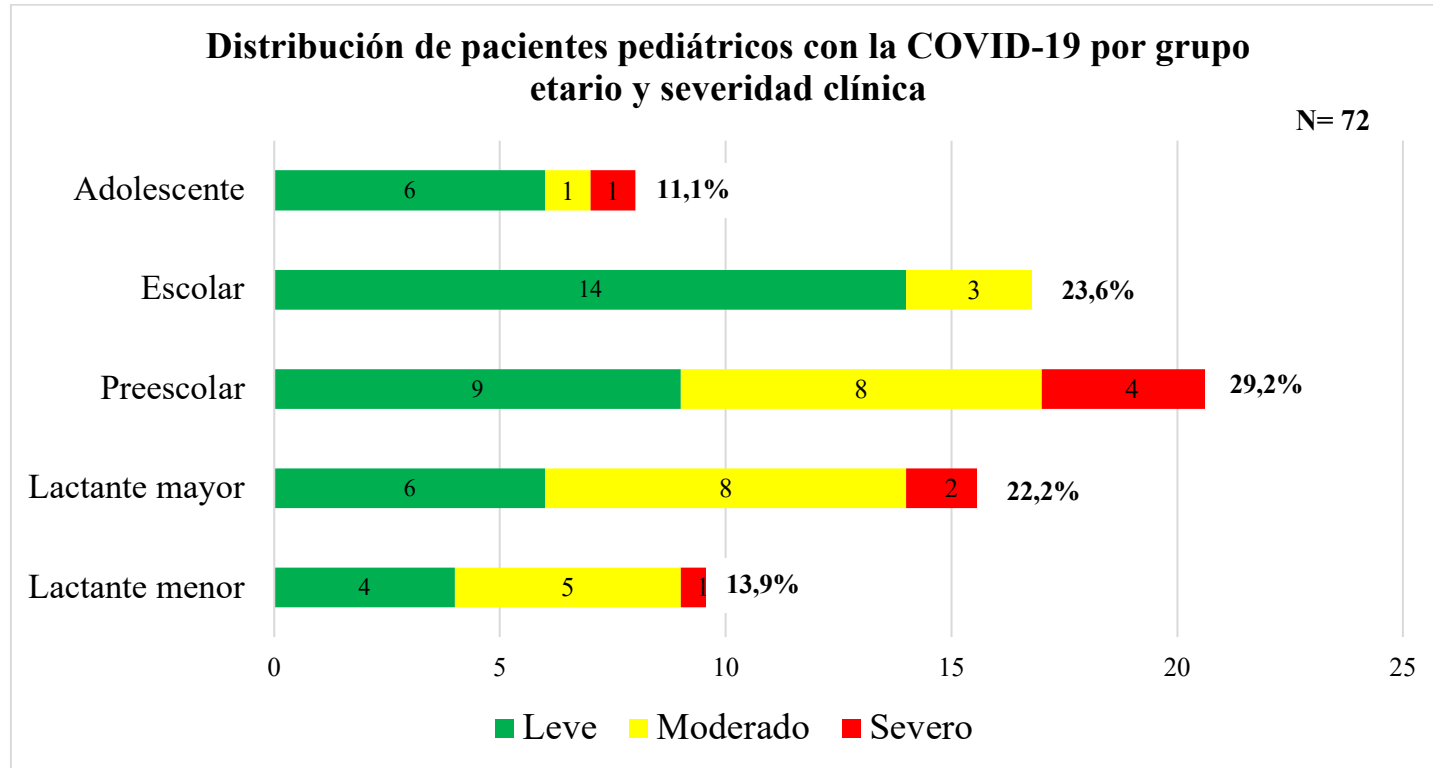
Nota: el siguiente gráfico ilustra la distribución de los pacientes pediátricos con infección por el SARS-CoV-2 según severidad clínica, mostrándose en la mayoría enfermedad leve.
Fuente: cálculos propios en Microsoft Excel.

Gráfico 3.



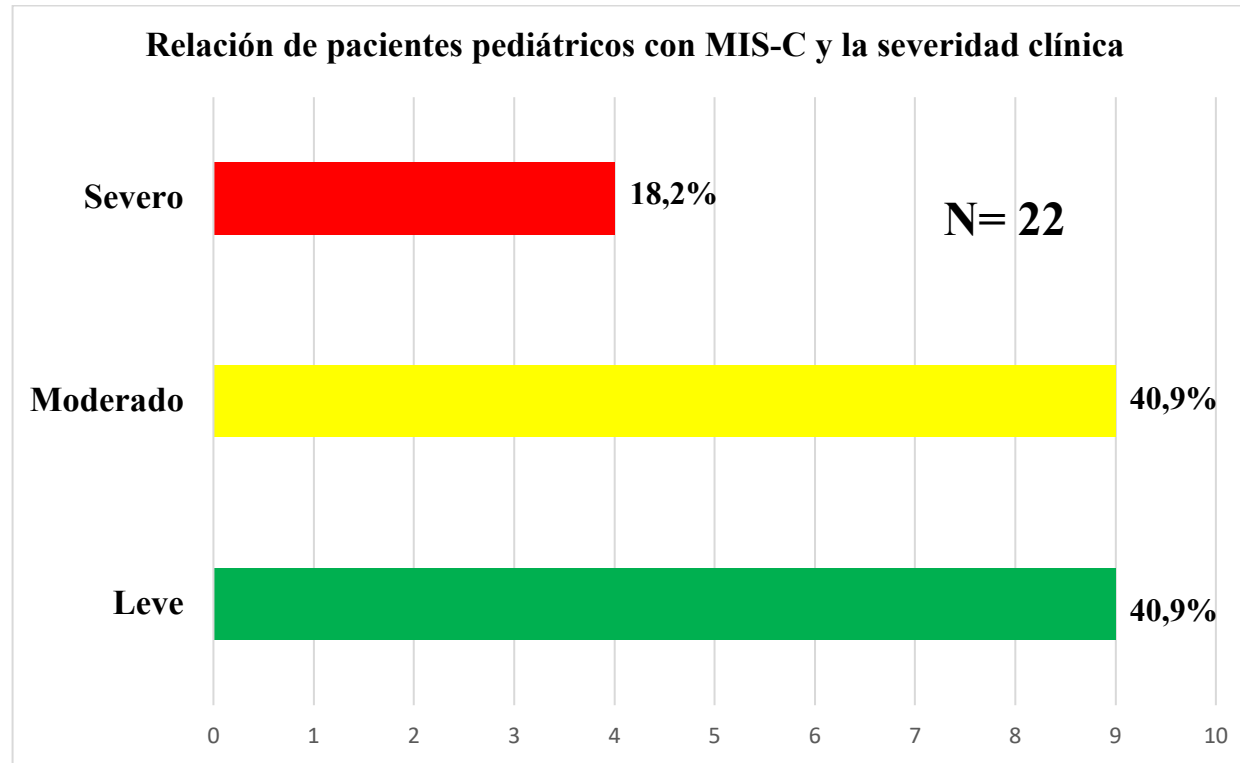
Nota: el siguiente gráfico ilustra la distribución de los pacientes pediátricos con la COVID-19 según grupo etario; representando la mayoría de los pacientes menores de 5 años. Fuente: cálculos propios en Microsoft Excel.

Gráfico 4.



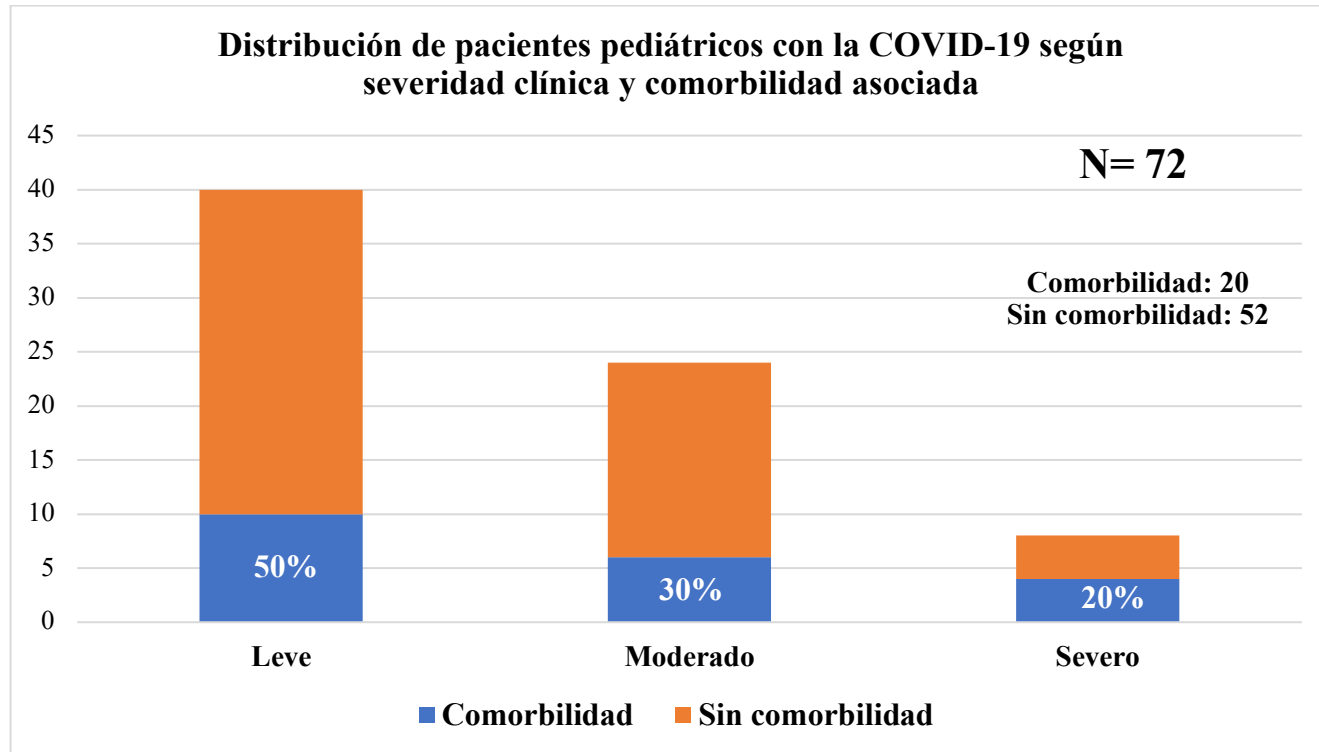
Nota: se muestra en el siguiente gráfico la distribución de los pacientes pediátricos con infección por SARS-CoV-2 según grupo etario y la severidad clínica, observándose que la mayoría de los casos severos menores de 5 años. Fuente: cálculos propios en Microsoft Excel.

Gráfico 5.



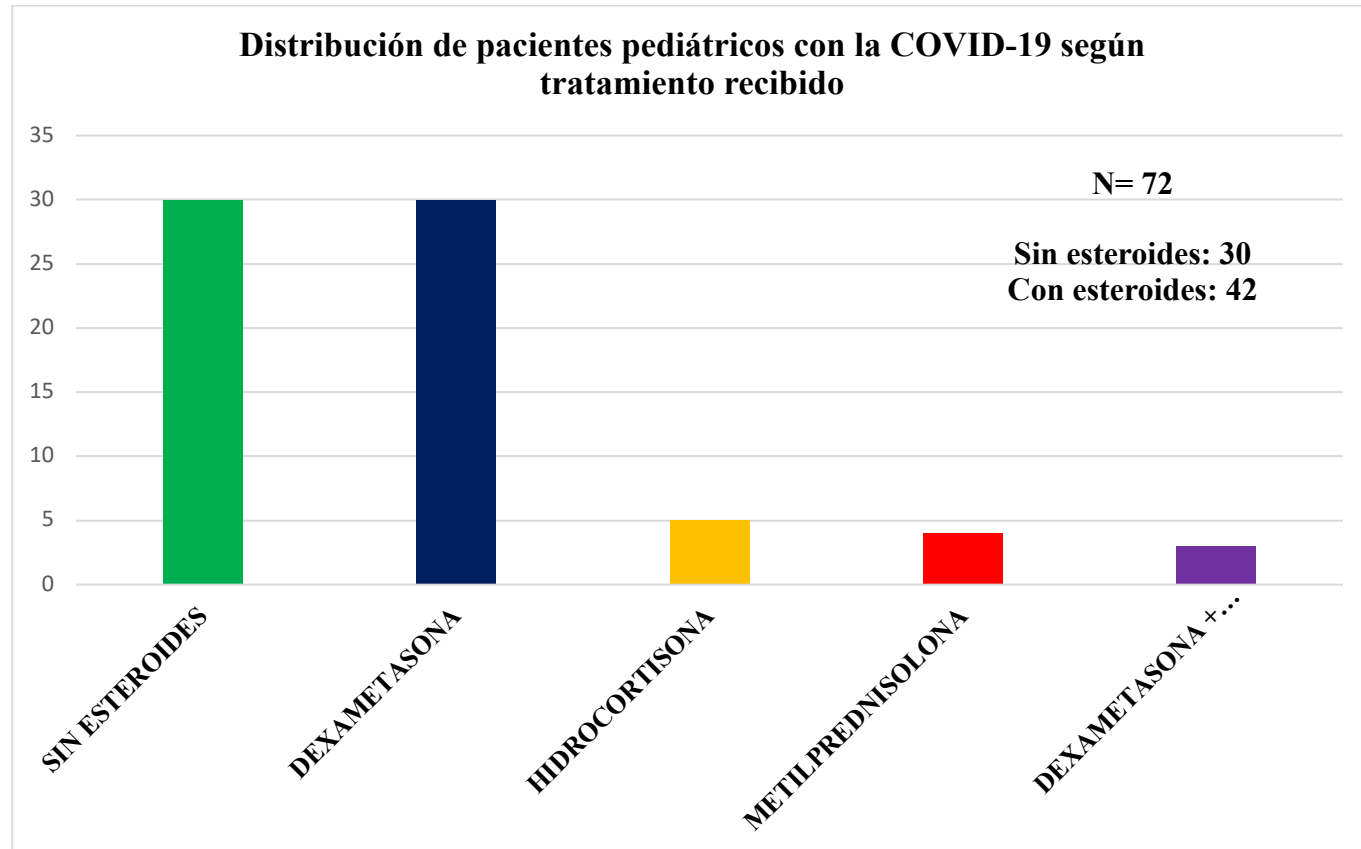
Nota: se muestra en el siguiente gráfico la distribución de los pacientes pediátricos que presentaron MIS-C 22 y la relación con la severidad clínica presentada previo al desarrollo d el MIS-C. Fuente: cálculos propios en Microsof Excel.

Gráfico 6.



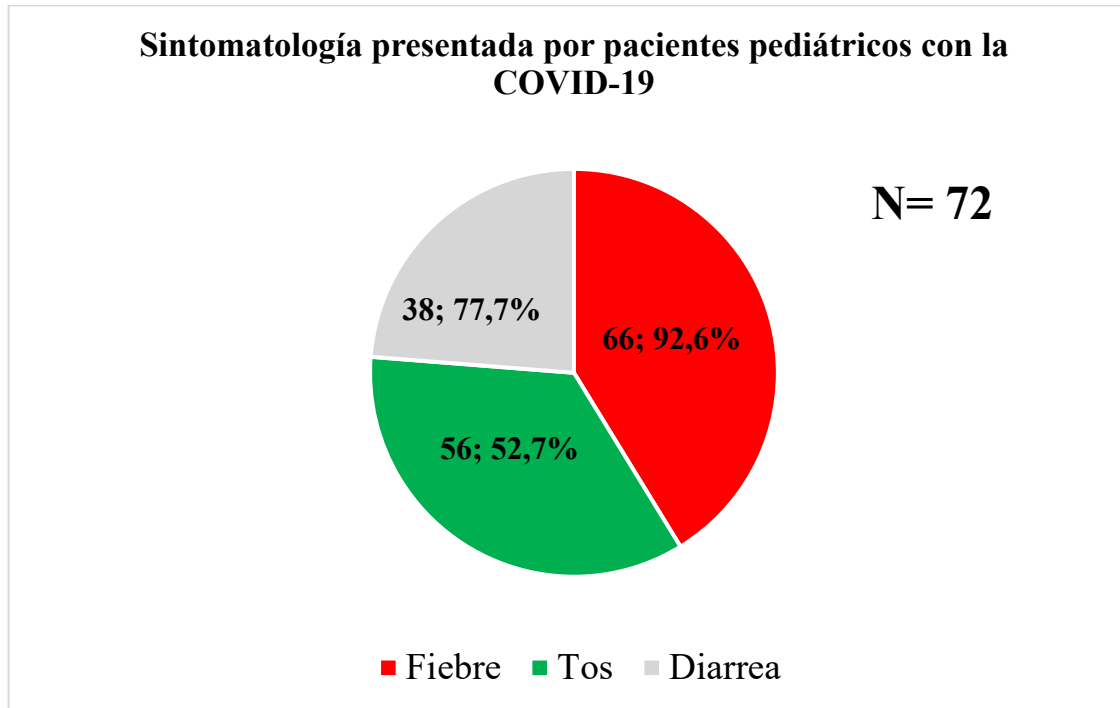
Nota: se muestra en el siguiente gráfico la distribución de los pacientes pediátricos según severidad clínica y comorbilidad asociada, observándose que la mitad de los pacientes con comorbilidad en su mayoría Asma, desarrollaron forma leve de la enfermedad. Fuente: STATA.

Gráfico 7.



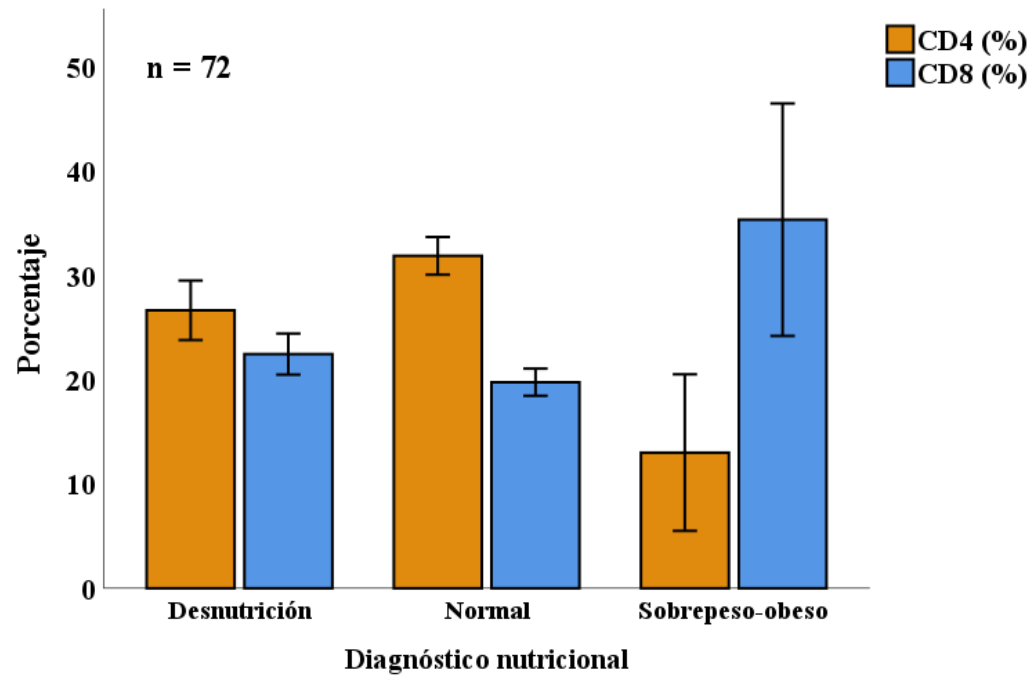
Nota: se muestra en el siguiente gráfico la distribución de los pacientes según la administración o no de inmunomoduladores, la mayoría de los que recibieron esteroides, se utilizó la dexametasona. Fuente: cálculos propios en Microsoft Excel..

Gráfico 8.



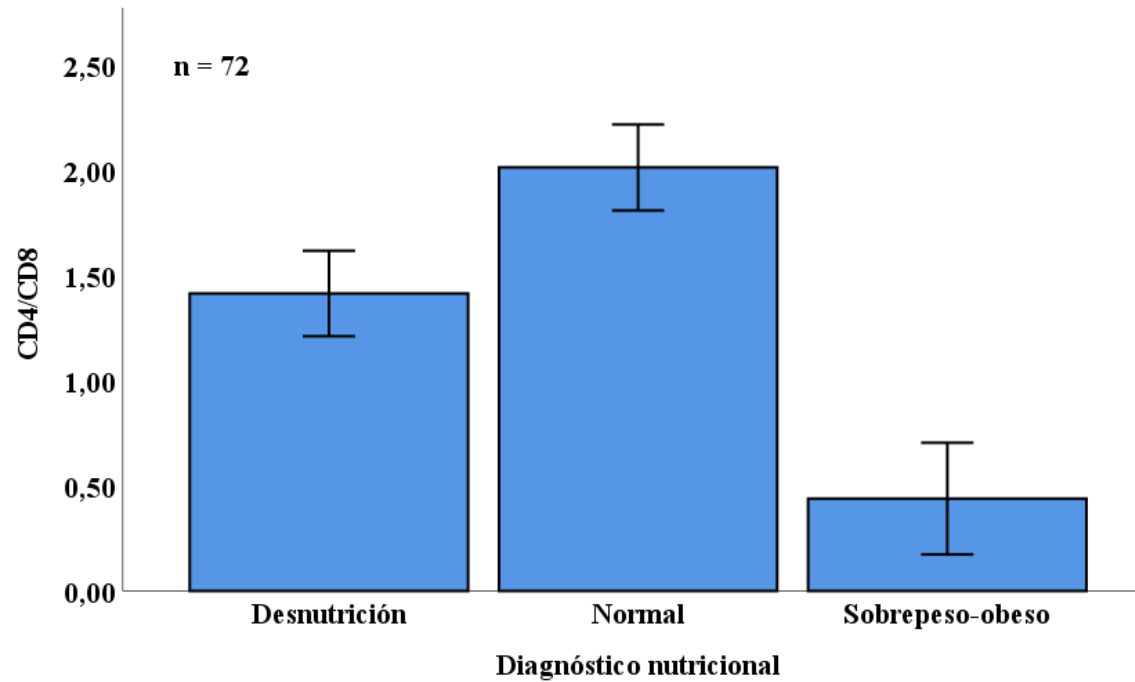
Nota: se muestra en el siguiente gráfico la distribución de los síntomas con mayor frecuencia presentados por los pacientes. Fuente: cálculos propios en Microsoft Excel.

Gráfico 9.
Porcentajes de linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+ según estado nutricional



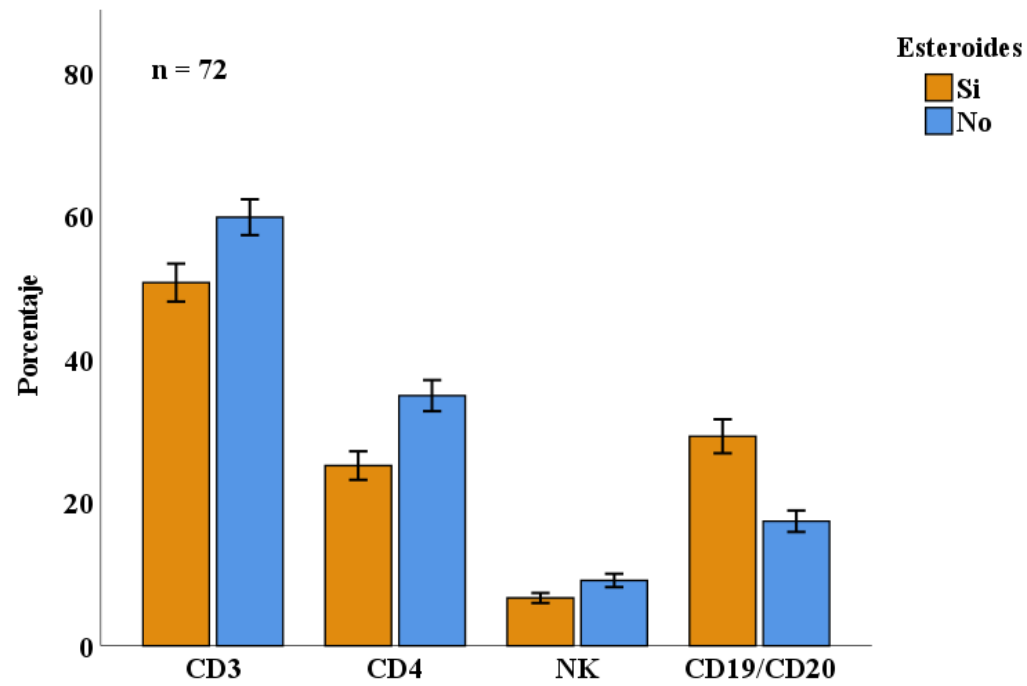
Fuente: STATA, análisis de MANOVA.

Gráfico 10.
Relación linfocitos T CD4+/CD8+ según estado nutricional



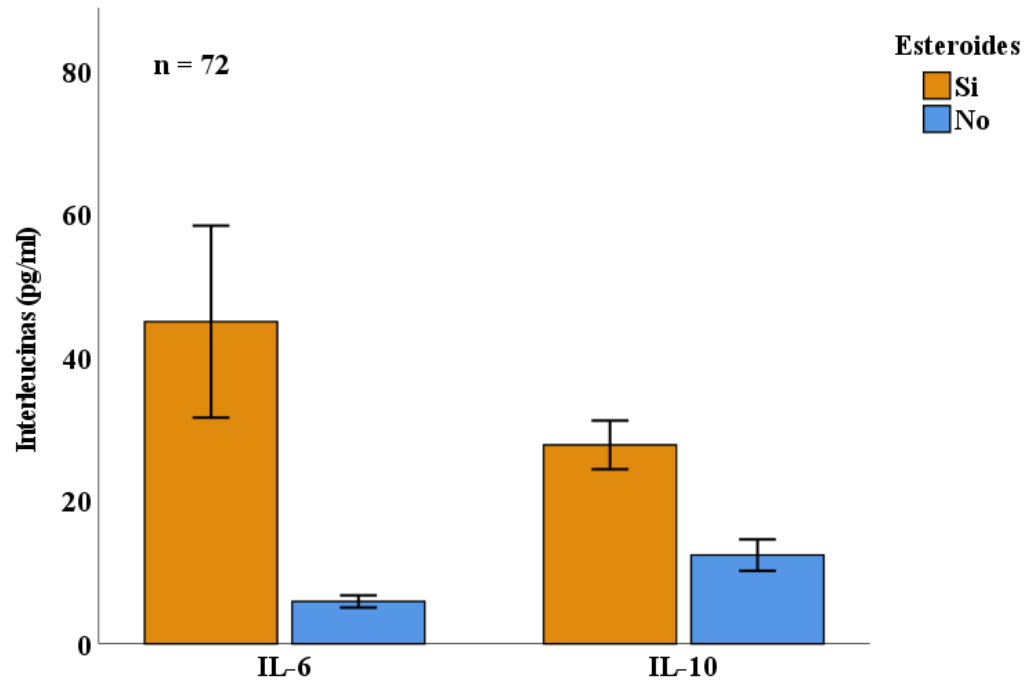
Fuente: STATA, análisis de MANOVA.

Gráfico 11.
Impacto de la administración de esteroides en porcentajes de linfocitos T CD3+, CD4+, NK y CD19+/CD20+



Fuente: STATA, análisis de MANOVA.

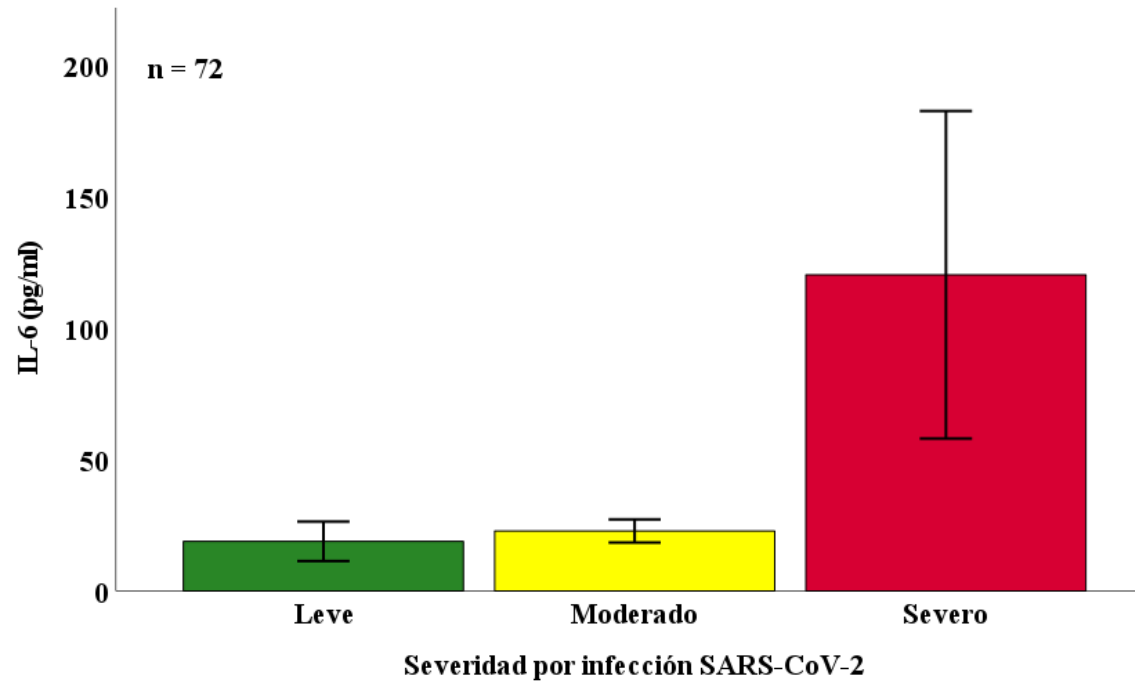
Gráfico 12.
Concentraciones de interleucinas IL-6 e IL-10 en pacientes pediátricos con infección por el SARS-CoV-2 según uso de esteroides



Fuente: STATA, análisis de MANOVA.

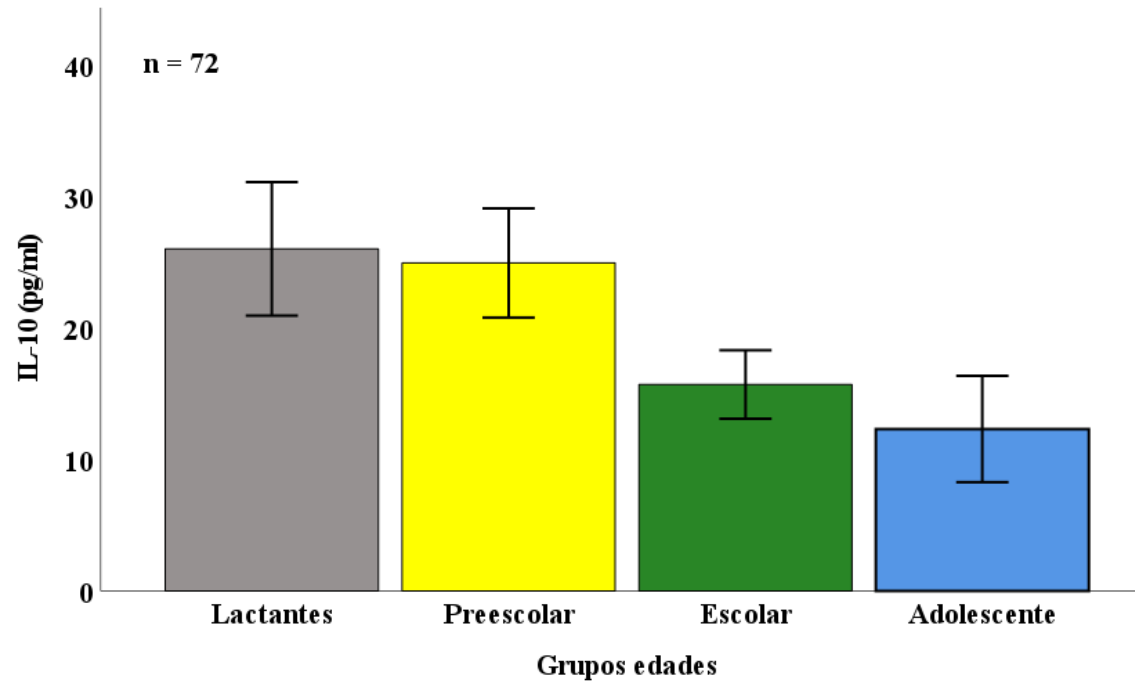
Gráfico 13.

Severidad de pacientes pediátricos infectados por el SARS-CoV- 2 y concentraciones de IL-6



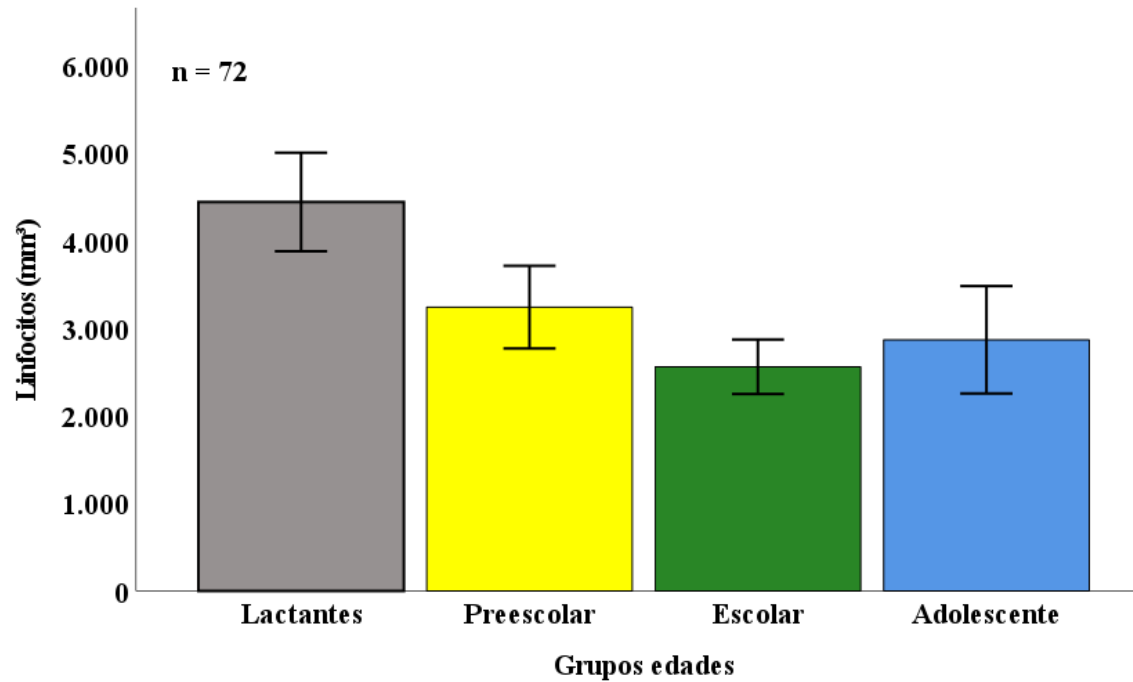
Fuente: STATA, análisis de MANOVA.

Gráfico 14.
Concentraciones de IL-10 según edad



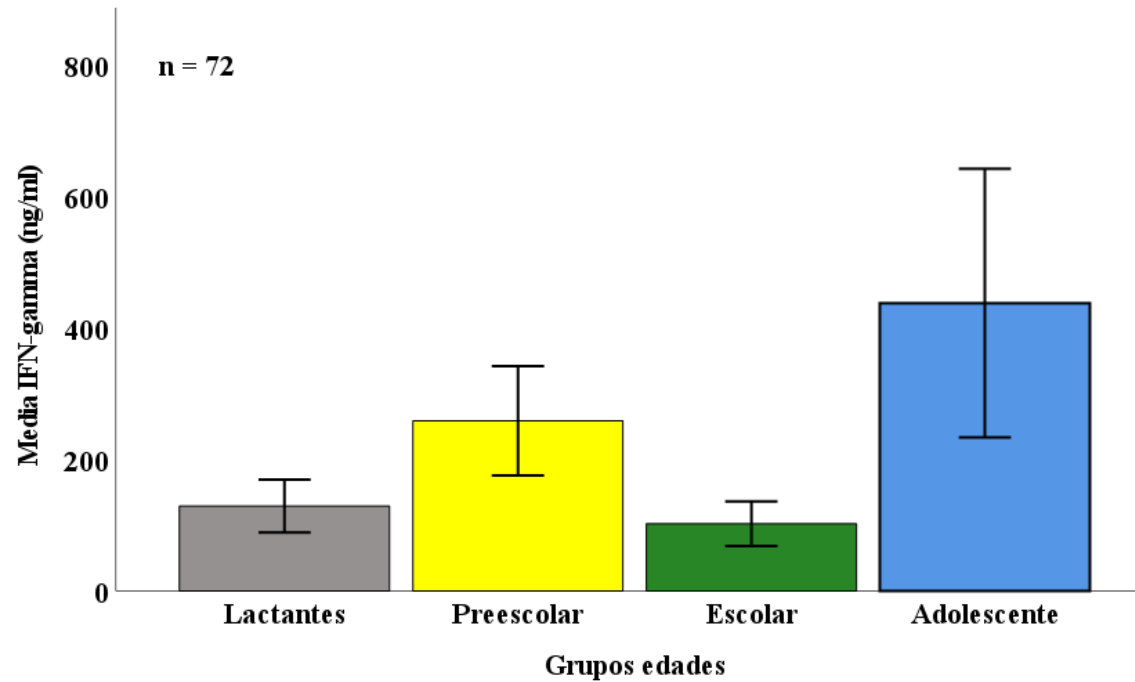
Fuente: STATA, análisis de MANOVA.

Gráfico 15.
Valor de linfocitos según edad



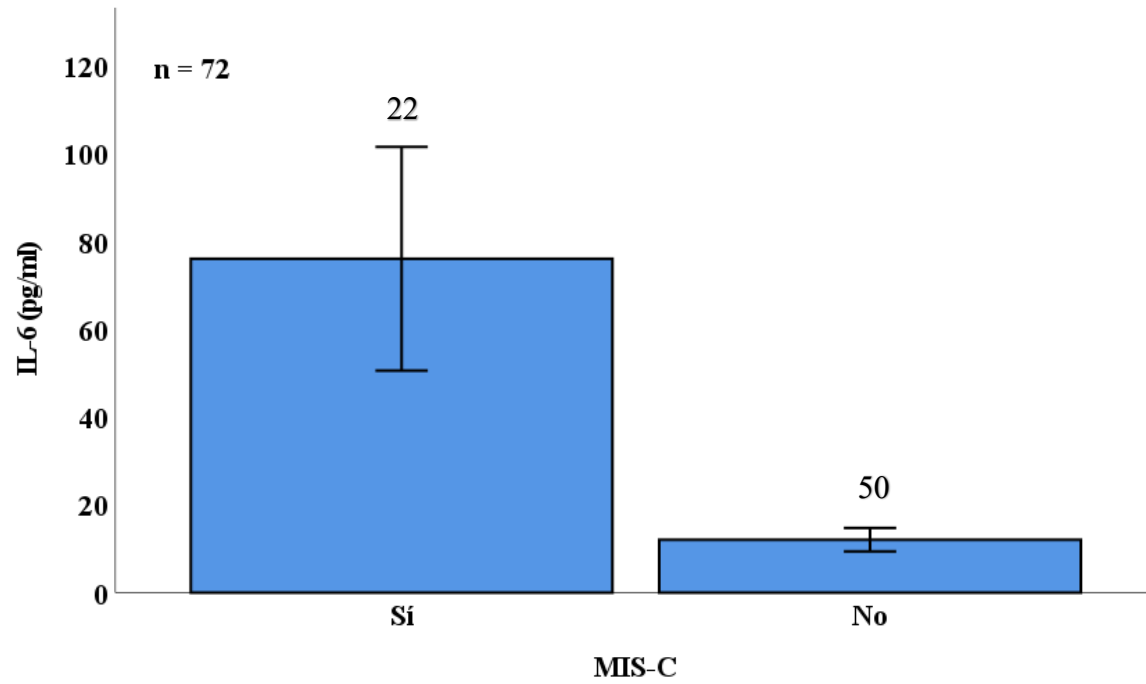
Fuente: cálculos propios en Microsoft Excel..

Gráfico 16.
Concentraciones de IFN-gamma según edad



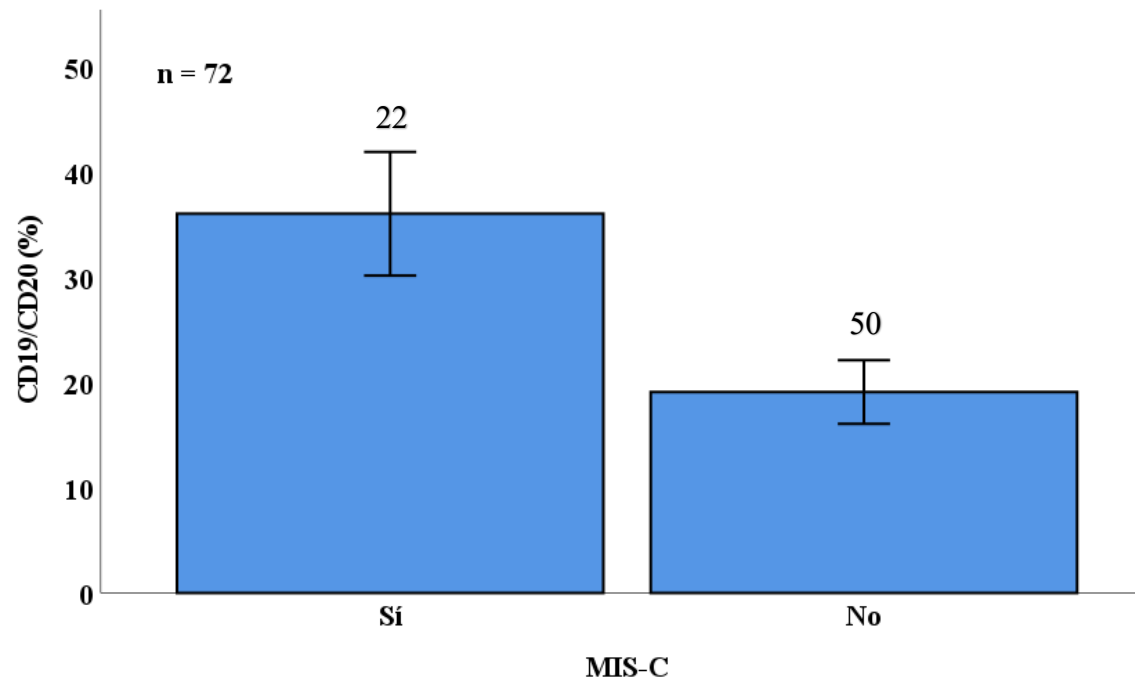
Fuente: STATA, análisis de MANOVA.

Gráfico 17.
Concentraciones de IL-6 en pacientes con MIS-C en relación con los pacientes sin MIS-C



Fuente: STATA, análisis de MANOVA.

Gráfico 18.
Porcentaje de linfocitos B CD19+/CD20+ en pacientes con MIS-C en relación con los pacientes sin MIS-C



Fuente: STATA, análisis de MANOVA.